

## Anti-PODXL / Anti-ITGB1 set

## 背景

現在、切除可能膵癌に対しては、術前補助療法としてのゲムシタビンと S-1 の併用療法（NAC-GS）が「膵癌診療ガイドライン（2019 年度オンライン版）」において推奨されています。しかしながら、NAC-GS 療法の治療効果を術前に正確に予測することは困難であり、同療法の明確な適応基準は確立されていないのが現状です。

本抗体は、切除可能膵癌に対する NAC-GS の治療効果を正確に予測するバイオマーカー抗体です。2 種類の予後予測マーカーを組み合わせることで、NAC-GS の有効性を高精度に評価することが可能です。新規『術前 GS 療法用バイオマーカー』として、NAC-GS 療法の適応判断を支援します。

## 抗体の特長

- ・ NAC-GS 療法の治療効果が期待できる症例を、術前に予測可能
- ・ 免疫組織染色法に対応しており、院内の自動染色装置による測定が可能
- ・ 試料は、超音波内視鏡下穿刺吸引法（EUS-FNA）で採取された残余検体を使用
- ・ 自動染色・手動染色の双方で免疫組織染色に対応。

## 構成品

保存温度：-70℃

(1) Anti-PODXL モノクローナル抗体	
種およびアイソタイプ	Recombinant Rabbit IgG-kappa
抗原	Human_PODXL (AAB61574.1)
保存バッファー	Phosphate buffered saline containing 15 ppm ProClin 300
容量	100 µL
標識	Unlabeled
交差性	Human
宿主細胞	HEK293

(2) Anti-ITGB1 モノクローナル抗体	
種およびアイソタイプ	Recombinant Rabbit IgG-kappa
抗原	Human_ITGB1 (P05556)
保存バッファー	Phosphate buffered saline containing 15 ppm ProClin 300
容量	100 µL
標識	Unlabeled
交差性	Human
宿主細胞	HEK293

## 方法—免疫組織染色プロトコル例—

### (1) 検体及び固定条件

- ・検体はホルマリン固定パラフィン包埋組織を使用してください。
- ・自動染色装置を使用する際は、指定されたスライドガラスを使用してください。
- ・パラフィン包埋組織の薄切片の厚さは2~4µmを推奨しますが、染色結果に応じて適宜調整してください。
- ・固定液は、10%中性緩衝ホルマリンの使用を推奨します。

### (2) 必要な試薬

- ・自動染色装置の場合：各種自動染色装置に適合した検出試薬が必要です。  
各種メーカーの自動染色装置に対応した二次抗体（抗ウサギ IgG 抗体）をご用意してください。
- ・手動染色の場合：二次抗体には抗ウサギ IgG 抗体を使用してください。

### (3) 試薬の使用方法

- ・自動染色装置の場合：初回は一次抗体として、Anti-PODXL モノクロナール抗体を 40 倍希釈した溶液および Anti-ITGB1 モノクロナール抗体を 100 倍希釈した溶液を使用します。
- ・手動染色の場合：初回は一次抗体として、Anti-PODXL モノクロナール抗体および Anti-ITGB1 モノクロナール抗体の各 100 倍希釈した溶液を使用します。

### (4) 染色条件

- ・自動染色装置の場合：Ventana Discovery XT automated stainer (ロシュ・ダイアグノスティックス製) を使用する場合は、Roche 社製 DISCOVERY OmniMap anti-Rb HRP (RUO) (Cat. No. 05269679001) または推奨二次抗体 (Proteintech 社製 Multi-rAb™ Enhanced Anti-Rabbit/Mouse Universal Secondary System Plus, Cat. No. RGAU015) を使用可能であり、以下に染色条件の一例を示しますので自動染色装置使用時の参考として条件検討にご活用ください。

染色工程	設定内容
脱パラフィン	装置内自動処理
抗原賦活	EDTA 系熱処理バッファー (pH 8.5)、100℃ 28 分
内因性ペルオキシダーゼ阻害	3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 、4 分
一次抗体反応	室温 32 分
検出系	1. DISCOVERY OmniMap anti-Rb HRP (RUO) (Roche) 室温 8 分 または 2. Multi-rAb™ Enhanced Anti-Rabbit/Mouse Universal Secondary System Plus (Proteintech) 室温 20 分、DAB kit (IHC) (Proteintech, Cat. No. PR30018)
対比染色	ヘマトキシリン 4 分
洗浄	トリス系バッファー (pH7.0-7.8)

- ・手動染色の場合：採用している実施手順に則り染色を行い、一次抗体の希釈倍率の検討を行ってください。二次抗体は現在ご使用の抗体または推奨二次抗体 (Proteintech 社製 Cat. No. RGAR011) を使用してください。

## スコアリングの判定基準

免疫染色スコアは、正常膵管を基準としたスコアリングに基づき、カットオフ値（合計スコア 3 以下を「低発現」、スコア 4 以上を「高発現」）によって評価します。膵癌生検の残存組織片に対して免疫組織染色を行い、以下の 2 つの指標に基づいて染色結果をスコア化します。

(1) 腫瘍組織における陽性細胞の割合

- ・スコア 1：50%未満
- ・スコア 2：50～80%
- ・スコア 3：80%以上

(2) 染色強度

- ・スコア 1：正常膵管より弱い
- ・スコア 2：正常膵管と同程度
- ・スコア 3：正常膵管より強い

これら 2 つのスコアを合算し、合計スコアに基づいて発現レベルを評価します。合計スコアが 4 以上の場合は「高発現」、3 以下の場合は「低発現」と判定します。

## 結果

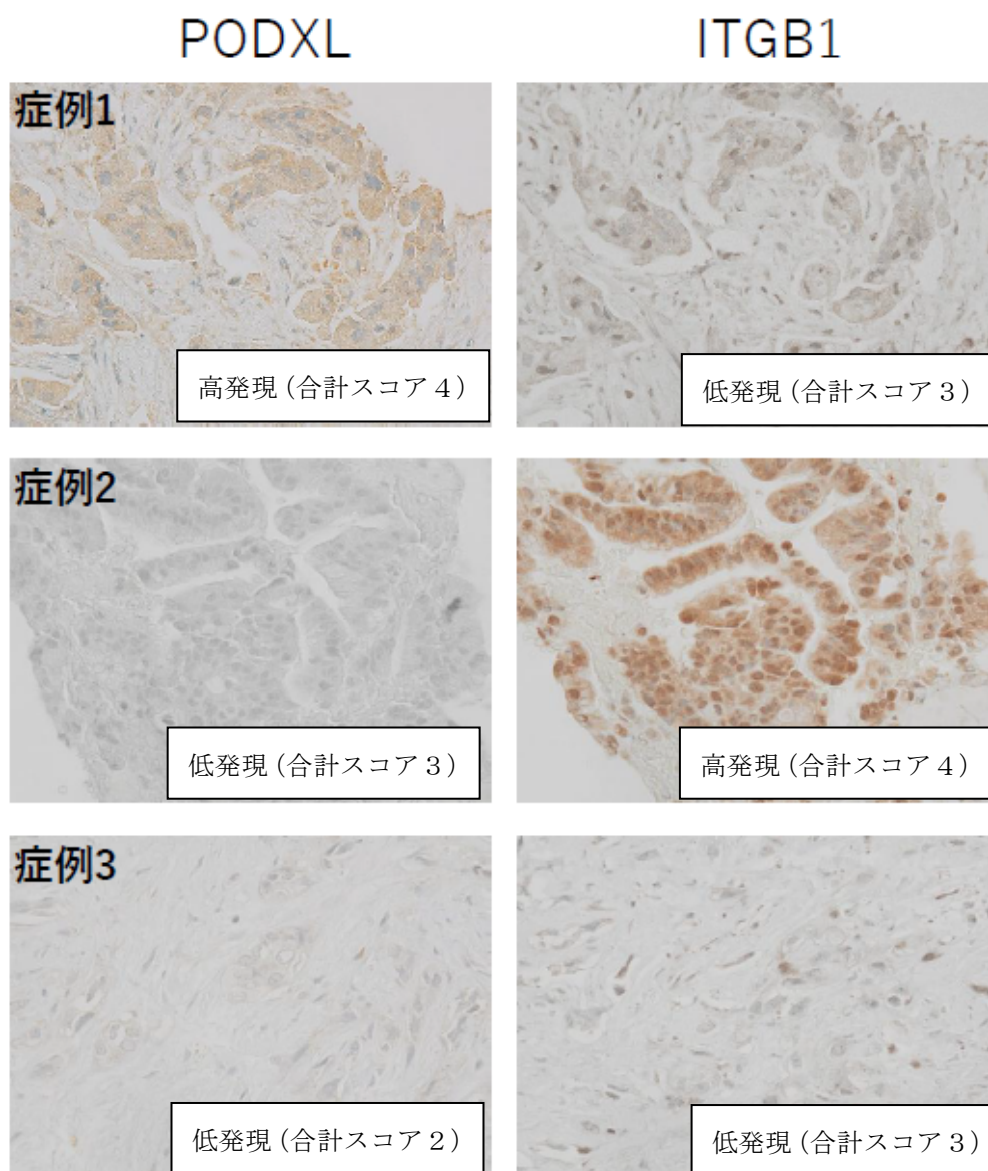


図 1. 治療前膵癌組織における PODXL および ITGB1 の免疫組織化学的発現パターン  
切除可能膵癌症例 3 例において、EUS-FNA により治療前に生検した膵癌組織の免疫組織染色像を示す。  
左列は PODXL、右列は ITGB1 の発現をそれぞれ免疫染色により評価したものである。各パネルには発現  
レベル（高発現または低発現）と合計スコアを併記している。

参考資料 - 切除可能膵癌における術前 GS 療法の効果と PODXL・ITGB1 発現状態別予後解析

切除可能膵癌症例における術前補助療法（あり／なし）別の Kaplan-Meier 生存曲線を図 2 に示す。

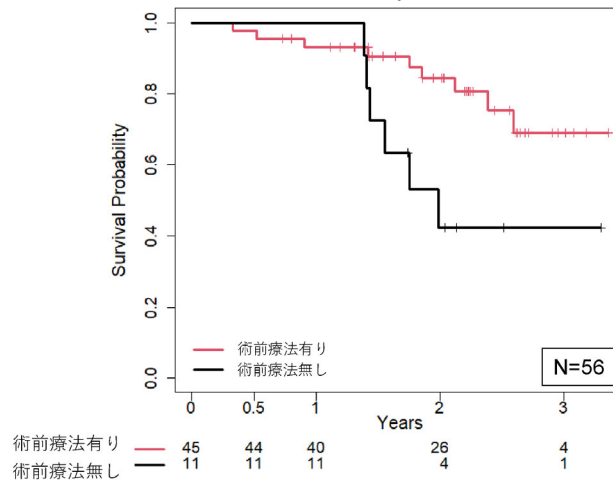


図 2. 切除可能膵癌症例の術前 GS 療法有無による Kaplan-Meier 曲線

術前 GS 療法を実施した群（赤線）は、非実施群（黒線）と比べて有意な予後改善が得られたことが明らかとなった。日本膵臓学会は「膵癌診療ガイドライン 2019 年度オンライン版」において、切除可能膵癌に対する術前 GS 療法としてゲムシタピンと S-1 の併用療法（術前 GS 療法）を行うことを推奨する旨に改訂している。

次に術前 GS 療法および手術を受けた切除可能膵癌症例における、PODXL および ITGB1 発現状態別の Kaplan-Meier 生存曲線を図 3 に示す。

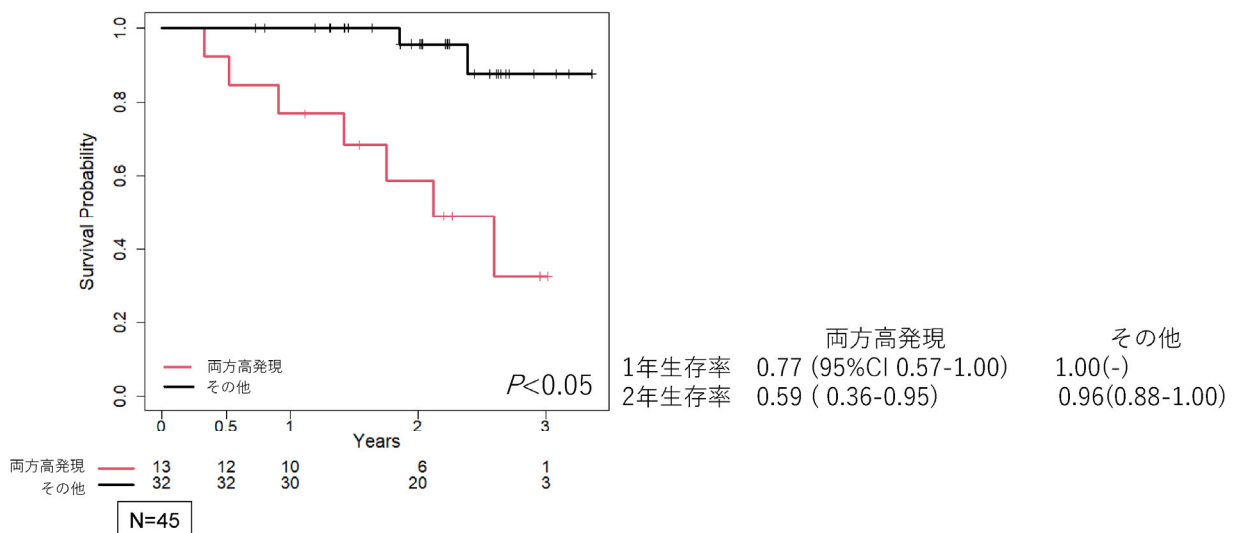


図 3. 術前 GS 療法および手術を受けた切除可能膵癌の Kaplan-Meier 曲線

PODXL と ITGB1 が両方高発現している症例（赤線）では、術前 GS 療法による明確な予後改善効果は認められなかった。これに対し、いずれか一方、または両方が高発現していない症例（黒線）では術前 GS 療法を実施することで予後改善が認められた。これらの結果から、術前 GS 療法の適応は PODXL および ITGB1 が両方高発現していない症例であることが示唆される。

※参考資料は、UMIN 試験 ID : UMIN000034022 に登録された臨床試験に基づく解析結果である。

For research use only, Not for diagnostic use.



COSMO BIO Co., LTD.

【JAPAN】  
TOYO EKIMAE BLDG. 2-20, TOYO 2-CHOME,  
KOTO-KU. TOKYO 135-0016, JAPAN  
Phone: +81-3-5632-9610  
FAX: +81-3-5632-9619  
URL: <https://www.cosmobio.co.jp/>



COSMO BIO USA

【Outside Japan】  
2792 Loker Ave West, Suite 101  
Carlsbad, CA 92010, USA  
email: [info@cosmobiousa.com](mailto:info@cosmobiousa.com)  
Phone/FAX: (+1) 760-431-4600  
URL: [www.cosmobiousa.com](http://www.cosmobiousa.com)