

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、症例ごとの治療感受性や治療効果の差異に関する分子メカニズムには未解明な点が多く、新たな評価指標の探索が求められています。

本抗体は、NAC-GS 療法の治療効果予測における分子マーカーの機能解析や、予後との関連性を検証するための研究用抗体です。2 種類の標的因子を組み合わせることで、NAC-GS の有効性評価に関する基礎研究およびスクリーニングにおいて、高精度なデータプロファイリングを可能にします。新規『術前 GS 療法用バイオマーカー解析ツール（研究用試薬）』として、個別化医療の基盤構築に向けた学術研究や、評価モデルの確立を支援します。

抗体の特長

- ・ NAC-GS 療法の治療効果および予後との関連性評価（研究用途）
- ・ 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での解析が可能
- ・ 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** モノクローナル抗体を **40 倍**希釈した溶液および **Anti-ITGB1** モノクローナル抗体を **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** モノクローナル抗体および **Anti-ITGB1** モノクローナル抗体の各 **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 ₂ O ₂ 、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 (pH 7.0-7.8)

- ・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。

スコアリングの解析基準（研究用プロトコル）

本抗体を用いた免疫組織化学染色データは、正常膵管の染色強度を基準としたスコアリングシステムに基づき、以下の基準値によって分類・評価（合計スコア 3 以下を「低発現群」、スコア 4 以上を「高発現群」）を行うことが可能です。

膵癌生検の残存組織切片に対して染色を実施後、以下の 2 つの評価指標に基づいて陽性細胞率や染色強度を数値化し、解析データとして活用します

（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、合計値に基づいて各サンプルの発現レベルを解析します。本プロトコルにおいては、合計スコアが 4 以上の場合「高発現群」、3 以下を「低発現群」と分類し、各群における特徴や予後データとの相関解析に用います。

結果

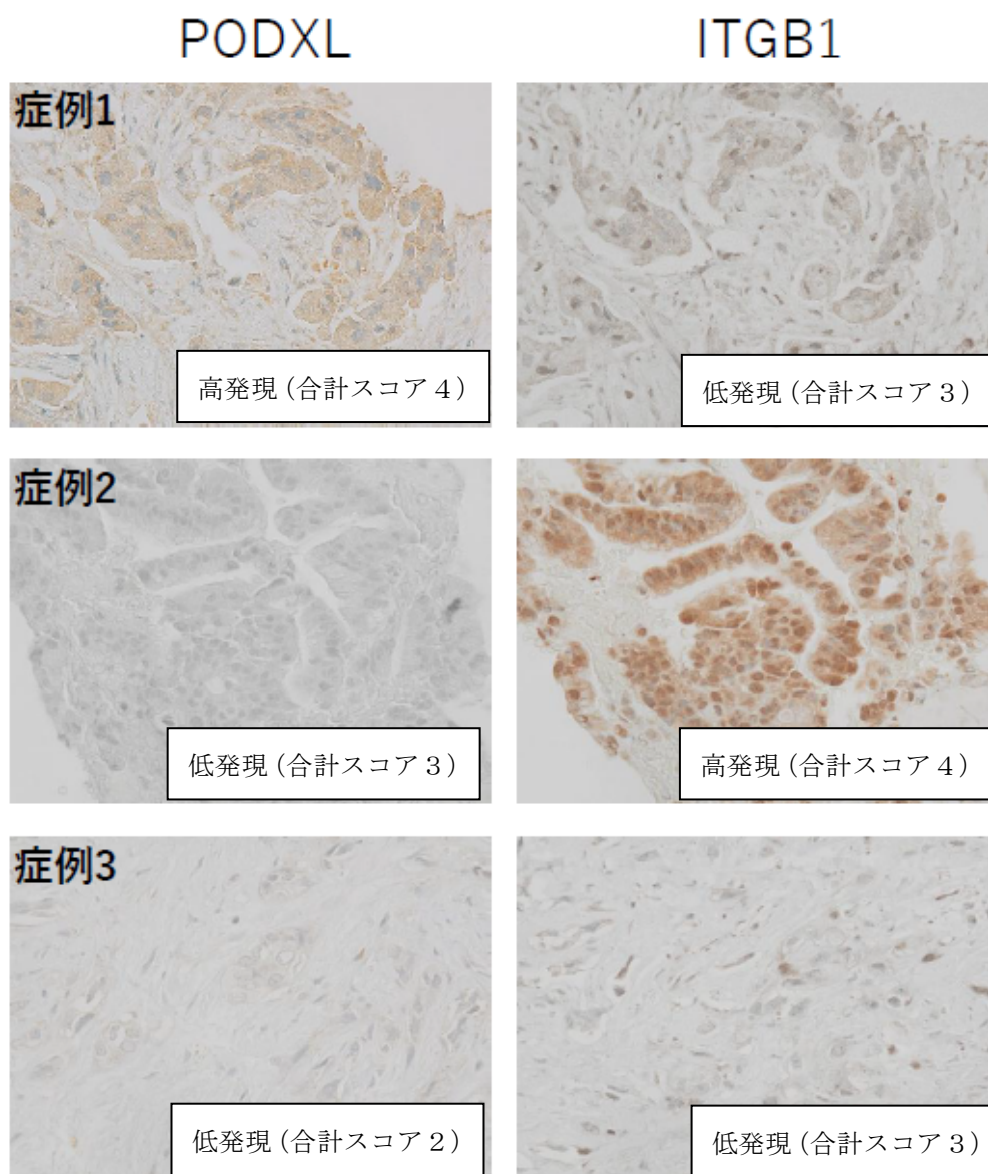


図 1. 治療前膵癌組織における PODXL および ITGB1 の免疫組織化学的発現パターン（解析例）
切除可能膵癌症例 3 例において、EUS-FNA により採取された治療前の生検組織における免疫組織染色像を示す。左列は PODXL、右列は ITGB1 の発現をそれぞれ評価したものである。各パネルには、本プロトコルに基づく発現レベル（高発現群または低発現群）と合計スコアを併記している。

参考資料 - 切除可能膵癌における術前 GS 療法の経過および、PODXL・ITGB1 発現状態の予後相関（解析例）

切除可能膵癌症例における術前補助療法（あり／なし）別の予後経過に関する検証例（Kaplan-Meier 生存曲線）を図 2 に示す。

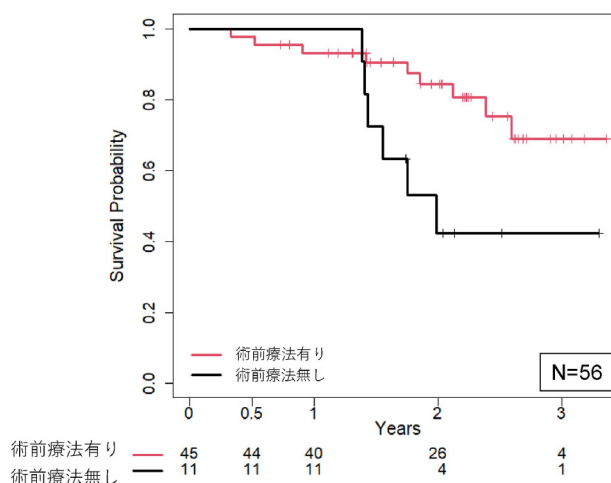


図 2. 切除可能膵癌症例における術前 GS 療法有無別の予後経過（Kaplan-Meier 解析例）

臨床研究の報告において、術前 GS 療法を実施した群（赤線）は、非実施群（黒線）と比較して良好な予後経過が示されています。日本膵臓学会は「膵癌診療ガイドライン」において、切除可能膵癌に対する術前補助療法としてゲムシタビンと S-1 の併用療法（術前 GS 療法）が推奨されています。

図 3 は同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 発現状態と予後データ（Kaplan-Meier 生存曲線）の相関解析例を示しています。

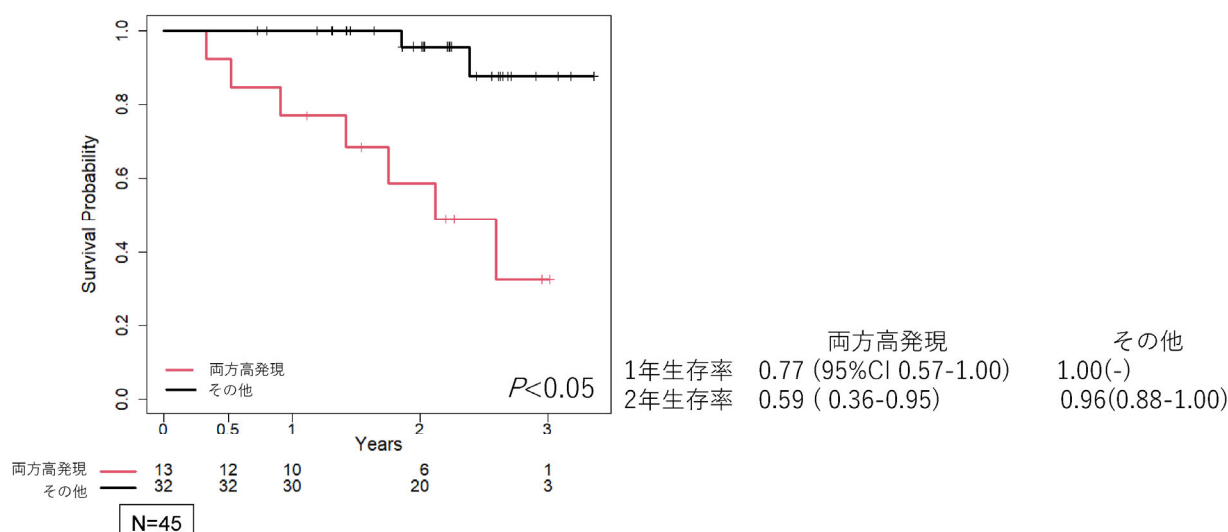


図 3. 術前 GS 療法および手術施行症例における発現状態別の予後経過（Kaplan-Meier 解析例）

PODXL と ITGB1 が両方高発現している群（赤線）において、術前 GS 療法の有無による予後データの顕著な差異は確認されませんでした。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群（黒線）においては、術前 GS 療法を実施に伴う良好な予後経過との関連性が示されました。これらの解析結果から、PODXL および ITGB1 の発現プロファイルが術前 GS 療法の感受性を評価するための有用な研究用指標となり得る可能性を示唆しています。

※データの出典：UMIN 試験 ID：UMIN000034022 に登録された臨床試験に基づく解析例。

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: support@cosmobiousa.com
Phone/FAX: (+1) 760-431-4600
URL: www.cosmobiousa.com