

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業  
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) 新規大腸がん特異抗体付加イムノビーズによる大腸がん自動診断法の開発  
(英語) Development of automatic colorectal cancer diagnostic method based on the immunobeads conjugated with newly established monoclonal antibody against colorectal cancer
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター  
先端医療開発センター新薬開発分野 分野長 松村保広
- 所属 役職 氏名： (英語) Yasuhiro Matsumura, Director of Division of Developmental Therapeutics,  
Exploratory Oncology Research & Clinical Trial center, National  
Cancer Center
- 実施期間： 平成28年 9 月 1 日 ～ 平成29年3月31日
- 分担研究 (日本語) 抗体開発・血液診断  
開発課題名： (英語) Antibody development and hemodiagnosis
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター  
先端医療開発センター新薬開発分野 ユニット長 安永 正浩
- 所属 役職 氏名： (英語) Masahiro Yasunaga, Unit Leader of Division of Developmental Therapeutics  
Exploratory Oncology Research & Clinical Trial center National Cancer  
Center
- 分担研究 (日本語) 診断用キット評価  
開発課題名： (英語) Evaluation of the diagnostic kit
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター  
先端医療開発センター 実験動物管理室 室長 古賀 宣勝
- 所属 役職 氏名： (英語) Yoshikatsu Koga, Head of Experimental Animals Exploratory Oncology  
Research & Clinical Trial center National Cancer Center

分担研究 (日本語) 内視鏡・検体収集・TR 研究  
開発課題名: (英語) Translational study using blood samples and tissue samples obtained endoscopically  
研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター  
中央病院・内視鏡科・科長 斎藤 豊  
所属 役職 氏名: (英語) Yutaka Saito, Director of Department of Endoscopy National Cancer Center Hospital

分担研究 (日本語) 内視鏡・検体収集・TR 研究  
開発課題名: (英語) Takahisa Matsuda, Translational study using blood samples and tissue samples obtained endoscopically  
研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター  
中央病院・検診センター・センター長 松田 尚久  
所属 役職 氏名: (英語) Takahisa Matsuda, Director of Cancer Screening Center, National Cancer Center Hospital

分担研究 (日本語) 手術・検体収集・TR 研究  
開発課題名: (英語) Translational study using blood samples and tissue samples obtained surgically  
研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター  
中央病院 大腸外科 科長 金光 幸秀  
所属 役職 氏名: (英語) Yukihide Kanemitsu, Director of Department of Colorectal Surgery, National Cancer Center Hospital

分担研究 (日本語) 化学療法・検体収集・TR 研究  
開発課題名: (英語) Translational study using blood samples  
研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター  
中央病院 消化管内科 医長 濱口哲弥  
所属 役職 氏名: (英語) Tetsuya Hamaguchi, Head of Department of Gastrointestinal Medical Oncology National Cancer Center Hospital

分担研究 (日本語) 手術・検体収集・TR 研究  
開発課題名: (英語) Translational study using blood samples and tissue samples obtained surgically  
研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター東病院 大腸外科 伊藤 雅昭  
所属 役職 氏名: (英語) Masaaki Ito, Director of Department of Colorectal Surgery, National Cancer Center Hospital East

分担研究 (日本語) 化学療法・検体収集・TR 研究  
開発課題名: (英語) Translational study using blood samples

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター  
東病院 消化管内科 科長 吉野 孝之

所属 役職 氏名: (英語) Takayuki Yoshino, Director of Department of Gastrointestinal Medical  
Oncology National Cancer Center Hospital East

分担研究 (日本語) イムノビーズ作製、自動機検討

開発課題名: (英語) Preparation of the immune-beads and development of automatic diagnostic  
system

研究開発分担者 (日本語) JSR ライフサイエンス株式会社・研究開発部  
第一チームリーダー 田守 功二

所属 役職 氏名: (英語) Koji Tamori, Team Leader R&D Department Unit 1 JSR Life Sciences  
Corporation

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

TMEM180 抗体をベースとした血清診断法の開発としては、を用い、ヒト化抗 human TMEM180 抗体および抗エクソソーム抗体の組み合わせを用いイムノ磁気ビーズを用いたサンドイッチ ELISA 法を開発し、評価した。大腸がん患者血清と健常者血清とで有意な差が認められた。大腸内視鏡を受けた被検者 399 名分の血清および便検体の収集を行ない、将来の計測にそなえている。

TMEM180 分子の機能解析に関しては、TMEM180 ノックアウトマウスの作出を行った。結果、6 匹のホモノックアウト個体が得られた。TMEM180 ノックアウトマウスが胎生致死ではないことから、TMEM180 が少なくとも発生初期段階においては必須タンパク質ではないことがわかった。

大腸がんにおける TMEM180 の生物学的機能解析のために、大腸がん細胞株 DLD1 と SW480 で遺伝子ノックダウン(KD)細胞株を作製した。さらに、DLD1 細胞に TMEM180 遺伝子をトランスフェクションして過剰発現(OE)細胞株を樹立した。種々の解析の結果 TMEM180 遺伝子は細胞増殖に関わることが判明した。

For the development of automatic colorectal cancer diagnostic method, we used anti-TMEM180 monoclonal antibody (mAb) and anti-exosome mAb and developed an sandwiches ELISA based on an immunobeads. The ELISA system clearly distinguished blood samples of cancer patients from blood samples of healthy volunteers. In a prospective study, we have collected blood samples and stool samples of 399 examinees who received colonoscopy.

For the functional analysis of TMEM180, we tried to obtain a knockout mouse of TMEM180 and succeeded in obtaining mice that were homo-knockout of TMEM180 gene. This means that the knockout of the TMEM180 does not cause a embryonic death. To address the biological function of TMEM180 in CRC, we knocked down (KD) the gene in CRC cell lines DLD1 and SW480 cells. Moreover, TMEM180-overexpressed (OE) DLD1 cells were established with transfection of the gene into the DLD1 cells. The results revealed that TMEM180 is involved in tumor growth.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）  
該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Development of brand new monoclonal antibodies について、松村保広、第 75 回日本癌学会シンポジウム、2016/10/07、国内
2. 新発見の大腸がん特異分子に対する抗体開発について、松村保広、平成 28 年度AMED成果事業化のためのシーズ発表会ポスター、2017/03/03、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし

(4) 特許出願  
該当なし