

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2011

課題番号：20590571

研究課題名 (和文) 新規がん・精巣抗原を基盤としたがんの検査・診断法の開発

研究課題名 (英文) Development of tumor diagnosis method using cancer/testis antigens.

研究代表者

小野 俊朗 (ONO TOSHIRO)

岡山大学・自然生命科学研究支援センター・准教授

研究者番号：50185641

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：がん・精巣抗原、抗体、SEREX、腫瘍マーカー

1. 研究計画の概要

精度の高いがんの検査・診断のためには、標的となるがん抗原、遺伝子の同定が必要となる。このためには種々のがんが発現するが正常組織では精巣に限局しているがん・精巣 (CT) 抗原が最も適している。われわれがすでに同定した OY-TES-1 を始め数種類の CT 抗原及び新たに同定する抗原と組み合わせることにより、広範囲ながん種に対して精度の高い新規のがんの検査・診断法を開発することを目的とする。

2. 研究の進捗状況

(1) 新たながん特異抗原の検索と同定

SEREX 解析を胃癌、肺癌、卵巣癌、大腸癌について行った。胃癌の SEREX 解析から CCDC62-2 及び GKAP1 の 2 種類の CT 抗原候補を同定した。肺癌からは 28 種類の遺伝子を同定した。28 種類の遺伝子について SEREX 解析に用いた細胞株を含む 5 例の肺癌を対象に DNA マイクロアレイ解析を行なった結果、5 種類の遺伝子が 5 例すべての肺癌に共通して高発現していた。

(2) 遺伝子発現解析

CCDC62-2 遺伝子の正常組織及び各種癌での発現について、RT-PCR、リアルタイム RT-PCR で解析した。CCDC62-2 は正常組織では精巣にのみ発現し、また各種の癌にも発現していた。特に胃癌では 117 例中 8 例に、肺癌では 19 例中 5 例に、口腔扁平上皮癌では 34 例中 4 例に発現しており、CCDC62-2 は CT 抗原の特徴を有していた。

(3) 液性免疫応答の解析

SEREX 同定抗原の免疫原性の解析を行

なった。CCDC62-2、GKAP1 については組換えタンパクを作成した。CCDC62-2 について ELISA 法及びウェスタンブロットで各種癌患者の抗体産生能を解析した。胃癌患者の 5.8%、肺癌患者の 6.6% に抗体産生が認められた。健常人には全く認められなかった。

(4) 免疫組織化学的解析

CCDC62-2 特異的マウスモノクローナル抗体を作製し、CCDC62-2 タンパクの発現を免疫組織化学的に解析した。

CCDC62-2 強制発現 HT0180 細胞では細胞質内に顆粒状に認められた。口腔扁平上皮癌組織では癌細胞の核、あるいは細胞質に CCDC62-2 タンパク陽性であった。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

胃癌、肺癌、大腸癌などの SEREX 解析により、新たながん抗原候補を同定した。CT 抗原性を有する CCDC62-2 についてその免疫原性を解析し、癌の検査・診断の標的分子となり得ることを証明した。

4. 今後の研究の推進方策

GKAP1 及び AKAP3 について、それぞれ組換えタンパクを作製し、癌患者の液性免疫応答を解析する。HLA-A2 トランスジェニックマウスを用いて、それぞれ同定した CT 抗原について CTL エピトープを同定する。これらを総合して、同定した CT 抗原によるがんの検査・診断法に道筋をつける。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計4件)

- ① T. Hanafusa, A. M. Ali Eldib, K. Kitaoka, Y. Ohue, E. Nakayama and T. Ono, Isolation and characterization of human lung cancer antigens by serological screening with autologous antibodies. *Cancer Letters*, 301, 57-62, 2011、査読あり
- ② T. Fukazawa, Y. Maeda, J. Matsuoka, T. Ono (12名、4番目) Targeting KRAS mutation-bearing lung cancer in vivo by pulmonary surfactant-adenovirus-mediated gene transfer. *Anticancer Research*, 30, 4925-4935, 2010、査読あり
- ③ S.Domae, Y. Nakamura, Y. Nakamura (17名、17番目) Identification of CCDC62-2 as a novel cancer/testis antigen and its immunogenicity. *International Journal of Cancer*, 124, 2347-2352, 2009、査読あり
- ④ S. Kaya, A. Uenaka, S. Sto, T. Ono, T. Aji and E. Nakayama, Identification of a CD4 T-cell epitope in the rejection antigen from BALB/c radiation-induced leukemia RL♂1. *Cancer Science*, 99, 1141-1147, 2008、査読あり

〔学会発表〕(計7件)

- ① T. Hanafusa, K. Kitaoka, Y. Ohue, E. Nakayama and T. Ono, Isolation and characterization of human lung cancer antigens by serological screening with autologous antibodies. 第69回日本癌学会学術総会、2010年9月24日、大阪市
- ② T. Fukazawa, J. Matsuoka, T. Ono(9名、3番目) Targeting KRAS lung cancer in vivo by pulmonary surfactant-mediated gene transfer. 第69回日本癌学会学術総会、2010年9月24日、大阪市
- ③ 花房直志、北岡賢太、大植祥弘、中山睿一、小野俊朗、SEREX法による肺腺癌抗原の同定と発現解析、第14回日本がん免疫学会総会、2010年7月22日、熊本市
- ④ T. Hanafusa, T. Ono and E. Nakayama, Simultaneous expression of multiple splice variants of *PCDH11X/Y* in tumor cells. 第68回日本癌学会学術総会、

2009年10月2日、横浜市

- ⑤ S. Domae, T. Ono (8名、2番目) Humoral immune response of cancer patients against new SEREX-defined antigen, CCDC62-2. 第67回日本癌学会学術総会、2008年10月29日、名古屋市
- ⑥ 銅前昇平、小野俊朗 (7名、2番目) SEREX法により同定したCCDC62-2に対する癌患者の液性免疫応答、第12回基盤的癌免疫研究会総会、2008年7月2日、さいたま市
- ⑦ K. Savas、上中明子 (6名、4番目) Identification of a CD4 T-cell epitope on tumor rejection antigen RLakt in BALB/c radiation-leukemia RL male 1. 第12回基盤的癌免疫研究会総会、2008年7月2日、さいたま市

〔産業財産権〕

○出願状況(計3件)

名称：癌診断方法および癌診断キット
発明者：小野俊朗、中山睿一
権利者：岡山大学
種類：特許
番号：特願2006-240787
出願年月日：平成21年7月14日
国内外の別：国内

名称：癌診断キットおよび癌診断方法
発明者：小野俊朗、中山睿一
権利者：岡山大学
種類：特許
番号：特願2009-532105
取得年月日：平成22年3月10日
国内外の別：国内

名称：Cancer Diagnostic Kit and Cancer Diagnostic Method
発明者：Toshiro Ono, Eiichi Nakayama
権利者：National University Corporation Okayama University
種類：Patent
番号：08791311.7 (EU), 12/677,755 (US), 200880106505.9 (CN)
取得年月日：Mar. 10, 2010 (EU), Mar. 11, 2010 (US, CN)
国内外の別：国外