

# 論文内容要旨

論文題目

ポドプラニンを標的としたがん特異的抗体の開発

指導（紹介）教授：後藤 薫  
氏 名 : 加藤 幸成

【内容要旨】（1, 200字以内）

血小板凝集を誘導するムチン型糖タンパク質ポドプラニン (PDPN/Aggrus/T1 $\alpha$ ) は、多くのがんおよび正常組織に高発現している。我々が以前作製したヒトポドプラニンに対する中和抗体（クローン NZ-1）は、ポドプラニンと C 型レクチン様受容体-2 (CLEC-2) との結合を阻害し、ポドプラニン誘導性のがん転移を阻害できる。一方、NZ-1 抗体はリンパ管内皮細胞などのポドプラニンを発現する正常細胞にも強く反応する。本研究において我々は、ヒトポドプラニンに対するがん特異的抗体 (cancer-specific mAb: CasMab) を作製するプラットフォームを確立した。まず、ヒトポドプラニンを膠芽腫細胞株である LN229 細胞に発現させると、ケラタン硫酸もしくは異常なシアル酸を含む糖鎖構造がポドプラニンに付加され、これをマウスへの免疫原として利用した。CasMab 法によって複数の新規抗ポドプラニン抗体が樹立されたが、中でも LpMab-2 抗体は、異常な O 型糖鎖およびヒトポドプラニンの Thr55-Leu64 ペプチドの両方を認識した。さらに、フローサイトメトリー法および免疫組織染色法により、LpMab-2 はポドプラニンを発現するがん細胞には反応するが、ポドプラニンを発現する正常細胞には反応しないことが明らかとなった。CasMab 法によって作製したがん特異的抗体である LpMab-2 により、ポドプラニンを発現する複数のがんを標的とした、副作用のない分子標的治療法が実現する可能性がある。

平成 27 年 1 月 15 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 加藤幸成

論文題目： ポドプラニンを標的としたがん特異的抗体の開発

審査委員： 主審査委員

高木理彰



副審査委員

吉岡厚心



副審査委員

後藤薫



審査終了日：平成 27 年 1 月 9 日

### 【 論文審査結果要旨 】

ポドプラニン (PDPN) は血小板凝集を誘導するムチン型糖タンパク質で、リンパ管内皮、肺や腎の上皮などの正常組織のほか、がん細胞にも発現し、血小板凝集を介してがん転移にも関与する。がん細胞に発現するポドプラニンのクローニングを行い、PLAG ドメインの Thr に付加されている O 結合型糖鎖のシアル酸が血小板凝集の活性中心であること明らかにしてきた申請者は、PDPN 中和抗体 (NZ-1) を樹立し、糖鎖構造の解析を進めると同時に、ヒトキメラ型抗体も作成してきた。さらに PDPN 発現腫瘍細胞株に対する高い ADCC 活性や CDC 活性、また細胞株を移植したマウスにおける抗腫瘍効果を確認し、PDPN 分子を標的とした新規抗体医薬の可能性も示してきた。一方、PDPN は正常組織にも発現し、これらの抗体は正常組織とも反応するため、腫瘍選択性の高い抗体の開発が期待されている。

申請者は、本研究で、ヒト PDPN をがん細胞株 LN229 に発現させると、正常組織には発現しないケラタン硫酸や異常なシアル酸を含む糖鎖構造が PDPN に付加されることを明らかにした。これをマウスへの免疫原として用い、得られた 9 種類の抗体の中から、LN229 細胞に導入発現したヒト PDPN にのみ反応する 5 種類の抗体を同定し、さらに親和性の低い IgM クラスを除いた 4 種類の IgG クラス抗体 (LpMab-2、LpMab -3、LpMab -7、LpMab -9) について解析を進めた。

PDPN 部分欠失変異体、糖鎖欠失細胞株、ならびに腫瘍形成性細胞株と正常細胞に対する抗体反応性、また抗体の PDPN 結合能、エピトープ解析、がん細胞株への内在化の検討結果から、Thr55-Leu64 ペプチドと正常組織には発現しない O 結合型糖鎖の双方を認識する LpMab-2 抗体が、がん細胞株のみに反応し、内在化されることを明らかにした。さらに病理検体を用いた免疫組織化学的検討から、LpMab-2 抗体は、ヒトがん細胞 (食道扁平上皮癌、精上皮腫) には反応するが、肺胞上皮やリンパ管はじめ正常組織には反応しないことも明らかにした。

本研究では、がん細胞特異的に発現する PDPN 分子の糖鎖構造が明らかにされ、これを免疫原としてがん特異的な抗体が樹立されている。糖鎖構造の解析、抗体の作成、抗体のがん特異性の解析が極めて綿密に、そして詳細に行われ、得られた LpMab-2 抗体が PDPN を標的としたがん特異的抗体として、今後、複数のがんに対して副作用のない抗体医薬として臨床使用できる可能性を示した大変有意義で、創造性の高い研究内容となっている。

以上から、審査委員会は、本研究論文を博士 (医学) の授与に値すると判定した。