

平成 27 年度 全体研究開発報告書

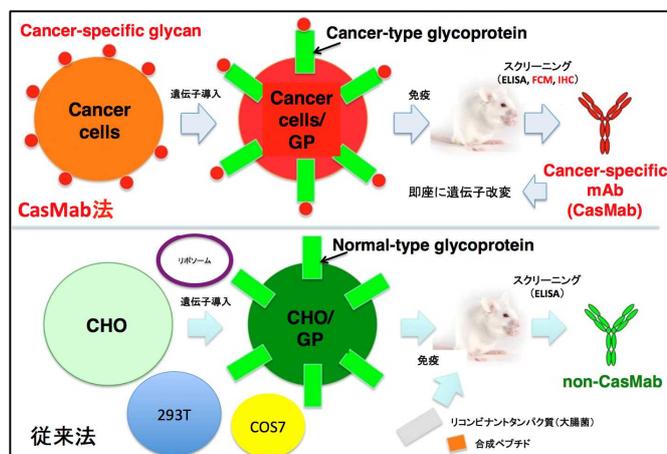
1. 事業名：革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業
2. 研究開発課題名：革新的次世代型がん特異的抗体の開発とその臨床応用
3. 研究開発代表者：国立大学法人 東北大学 大学院医学系研究科 教授 加藤幸成
4. 研究開発の成果

研究開発目的及び内容

本課題では、東北大学が近年開発した、がん細胞に特異的反応性を示すモノクローナル抗体作製法（CasMab 法）を用いることにより、がん細胞と正常細胞に同一のアミノ酸配列の膜タンパク質が発現している場合でも、糖鎖などの翻訳後修飾の違いを利用することでがん細胞のみを攻撃する抗体医薬品（CasMab）を高効率に作製し、副作用のほとんどない抗体医薬品を開発することを目的とする。

研究開発の概要（平成 27 年度）

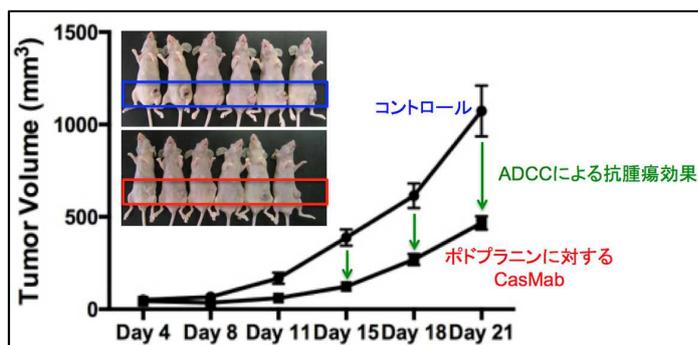
東北大学では、がん細胞に特異的反応性を示すモノクローナル抗体作製法（CasMab 法）を用いることにより、がん細胞と正常細胞に同一のアミノ酸配列の膜タンパク質が発現している場合でも、糖鎖などの翻訳後修飾の違いを利用することでがん細胞のみを攻撃する抗体医薬品を高効率に作製し、副作用のほとんどない抗体医薬品を開発する技術を独自に開発中である。



CasMab 開発の最初のステップとして、各種タンパク質を発現するヒトがん細胞株の選択および樹立が必要となる。一般的に使用されている HEK-293T、COS-7、CHO などの膜タンパク質発現用細胞株を用いても、CasMab の作製は困難である。平成 27 年度は、CasMab 開発に必須となる細胞株を探索し、10 種類のがん細胞株の糖鎖遺伝子プロファイリングを real-time PCR により実施した。また、これまでに発見したヒト膠芽腫細胞株 LN229 に糖タンパク質 Y の遺伝子を新たに導入し、恒常発現株を

樹立した。次に、東北大学が独自開発したペプチドタグシステムのひとつである PA タグを用いて、糖タンパク質 Y を精製後、マウスに免疫を行い、糖タンパク質 Y に対する CasMab 作製を行った。

平成 26 年度に作製したポドプラニンに対する CasMab については、in vitro の ADCC/CDC 活性やマウス担がんモデルでの抗腫瘍効果を確認した。この結果から、CasMab はがん特異性があるだけでなく、高い抗腫瘍効果を保持することが証明された。本発明に関する特許をベンチャー企業に導出した。



東北大学では、新規タグシステムの開発を実施している。PA タグシステムはタンパク質の精製に

威力を発揮する一方、PA タグ抗体はヒトのタンパク質に交応性を示すため、一部のタンパク質の精製には不向きな場合がある。これまで、新規タギング技術の開発のために有用なモノクローナル抗体として、東北大学が保有する複数のモノクローナル抗体の中から mAb-C を選択したが、平成 27 年度には、mAb-C の最小エピトープのペプチド断片を各種タンパク質と繋ぎ合わせ、新規タグシステムとしての有用性を確認した。

さらに東北大学では、抗体工学や細胞工学を用いた複数の抗体改変技術開発を行ってきた。その中でも、樹立したマウスやラットのモノクローナル抗体産生細胞から、100%の確率で抗体遺伝子の全塩基配列を解読するシステムを構築した。抗体の軽鎖には、kappa 鎖と lambda 鎖があるが、平成 27 年度には、抗体の軽鎖の改変技術の向上を目指した。その結果、ラットモノクローナル抗体 (mAb-X) の lambda 鎖をヒト kappa 鎖に改変した抗体 (mAb-A) とヒト lambda 鎖に改変した抗体 (mAb-B) について ADCC/CDC の比較を行ったところ、mAb-B が明らかに高い活性を示し、in vivo においても mAb-B が高い抗腫瘍効果を示した。

以上、平成 27 年度の研究開発の概要をまとめた。特筆すべきは、本事業で東北大学が開発した CasMab の 1 例目をベンチャー企業に導出し、本事業からの導出第 1 号と認定されたことである。CasMab 法は、副作用を限りなく低減したがん特異的抗体 (CasMab) の作製技術として開発中であるが、CasMab 法によって作製した抗体は、CasMab だけでなく、従来法では作製が困難であった性質の抗体を創出することができることもわかってきた。平成 28 年度からの 3 年間は、CasMab の作製およびその企業導出のみならず、CasMab 法の新たな可能性を模索していく。

本事業に関する原著論文 (平成 27 年度)

1. The chimeric antibody chLpMab-7 targeting human podoplanin suppresses pulmonary metastasis via ADCC and CDC rather than via its neutralizing activity. Kato Y, Kunita A, Abe S, Ogasawara S, Fujii Y, Oki H, Fukayama M, Nishioka Y, and Kaneko MK. *Oncotarget*, 2015, 36003-36018.
2. Characterization of a monoclonal antibody LpMab-3 recognizing sialylated glycopeptide of podoplanin. Oki H, Ogasawara S, Kaneko MK, Takagi M, Yamauchi Y, Kato Y. *Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother.*, 2015, 34(1): 44-50.
3. Characterization of a monoclonal antibody LpMab-7 recognizing non-PLAG domain of podoplanin. Oki H, Kaneko MK, Ogasawara S, Tsujimoto Y, Liu X, Sugawara M, Takakubo Y, Takagi M, Kato Y. *Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother.*, 2015 34(3): 174-180.
4. An anti-podoplanin monoclonal antibody LpMab-7 detects metastatic legions of osteosarcoma. Kaneko MK, Oki H, Ogasawara S, Takagi M, Kato Y. *Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother.*, 2015, 34(3): 154-161.
5. A monoclonal antibody LpMab-9 recognizes O-glycosylated N-terminus of human podoplanin. Kaneko MK, Oki H, Hozumi Y, Liu X, Ogasawara S, Takagi M, Goto K, Kato Y. *Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother.*, 2015, 34(5): 310-317.
6. Development of a monoclonal antibody LpMab-10 recognizing non-glycosylated PLAG1/2 domain including Thr34 of human podoplanin. Ogasawara S, Oki H, Kaneko MK, Hozumi Y, Liu X, Honma R, Fujii Y, Nakamura T, Goto K, Takagi M, Kato Y. *Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother.*, 2015, 34(5): 318-326.