

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「がん微小環境を標的とした革新的治療法の実現」（活性型ナルディライジンを標的とする新規抗体製剤の開発）
2. 研究開発代表者：西 英一郎（国立大学法人京都大学大学院医学研究科内科系専攻 特定准教授）
3. 研究開発の成果

増殖因子やサイトカインによる情報伝達は、がん局所の微小環境の形成に重要な役割を果たす。がん、炎症性疾患において、EGF ファミリー増殖因子や TNF- α の阻害、およびその下流の情報伝達経路の遮断は、すでに臨床上有効な治療法として確立されている。EGF 増殖因子と TNF- α に共通する特徴のひとつとして、ともに膜タンパク質の前駆体として生成され、細胞外ドメインシェディングにより活性化されることが挙げられる。我々はメタロプロテアーゼ、ナルディライジン (NRDc, *Nrd1*) を、HB-EGF の結合タンパク質として同定し、1) NRDc が HB-EGF の細胞外ドメインシェディングを増強すること、2) NRDc のシェディング増強効果は炎症性サイトカイン TNF- α を含む広範な膜蛋白質に及ぶこと、さらに NRDc 欠損マウスの解析から、3) NRDc がニューレギュリン (EGF 増殖因子) のシェディングを介して神経軸索・髄鞘形成を制御することを示し、NRDc が個体レベルにおいても重要なシェディング調節因子であることを明らかにした。

一方我々が開発した高感度 ELISA による検討の結果、1) 胃がんを含む複数のがん症例で血清 NRDc が上昇していること、2) 切除標本の免疫組織染色上、がん病変部で発現が増強していること、3) NRDc 発現抑制によりがん細胞株の増殖が抑制されること、4) マウス実験発がんモデルにおいて、*Nrd1*^{-/-}マウスが野生型マウスと比較して顕著な発がん抵抗性を示したことが明らかになった。特に 4) で認めた NRDc 欠損による腫瘍抑制効果は、同様のマウスモデルを用いた既知分子の報告と比較しても最大に近いものと考えられた。これらの結果は、NRDc の阻害が、がんの有効な治療法になる可能性を強く示唆した。

以上より本研究は、NRDc の細胞外機能、シェディング活性化を標的とし、「がん進展抑制活性を有する抗 NRDc 抗体の開発」を目的としてスタートし、同活性を示すウサギモノクローナル抗体の作製に成功した。

一方本研究の開始後に、NRDc が核内において転写コレギュレーターとして機能し、エピジェネティック修飾制御に関与していることが明らかになった。*Nrd1*^{-/-}マウスが呈した発がん抵抗性が、核内機能の喪失に依存している可能性も示唆されたため、新たに「NRDc の転写制御活性阻害剤の開発」を目的に加え研究を進めた。NRDc の転写制御活性は部分的に NRDc のプロテアーゼ活性に依存したため、プロテアーゼ活性阻害効果を指標として小分子化合物のハイスループットスクリーニングを行った。その結果、NRDc のプロテアーゼ活性とともに、がん細胞株の増殖を抑制する複数の化合物の同定に成功した。