

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) 膜タンパク質 CKAP4 を標的とする新規抗がん剤の開発と評価
(英語) Development and evaluation of a novel anti-cancer therapeutic drug targeting cell surface membrane protein CKAP4
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人 大阪大学 大学院医学系研究科 教授 菊池 章
所属 役職 氏名 : (英語) Graduate School of Medicine, Osaka University, Professor, Akira Kikuchi
- 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) 研究統括ならびに Dkk1 と CKAP4 のがんにおける発現と局在の解析
開発課題名 : (英語) Research managing and analysis of expression and localization of Dkk1 and CKAP4 in cancer cell lines
- 研究開発代表者 (日本語) 国立大学法人 大阪大学 大学院医学系研究科 教授 菊池 章
所属 役職 氏名 : (英語) Graduate School of Medicine, Osaka University, Professor, Akira Kikuchi
- 分担研究 (日本語) CKAP4 mAb の作製と *in vivo* での CKAP4 mAb の効果の評価
開発課題名 : (英語) Preparation of anti-CKAP4 monoclonal antibody (CKAP4 mAb) and evaluation of the CKAP4 mAb activity *in vitro*
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 大阪大学 大学院医学系研究科 特任助教 木村 公一
所属 役職 氏名 : (英語) Graduate School of Medicine, Osaka University, Assistant Professor, Hirokazu Kimura

分担研究 (日本語) CKAP4 KO マウスを用いた CKAP4 mAb の作製と *in vitro* での CKAP4 mAb の効果の評価

開発課題名: (英語) Preparation of CKAP4 mAb from CKAP4 knockout mice and evaluation of the CKAP4 mAb activity *in vivo*

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 大阪大学 大学院医学系研究科 助教 麓 勝己

所属 役職 氏名: (英語) Graduate School of Medicine, Osaka University, Assistant Professor, Katsumi Fumoto

分担研究 (日本語) CKAP4 機能の解析

開発課題名: (英語) Analysis of CKAP4 functions

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 大阪大学 大学院医学系研究科 特任助教 原田 武志

所属 役職 氏名: (英語) Graduate School of Medicine, Osaka University, Assistant Professor, Takeshi Harada

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

CRISPR/Cas9 システムを用いて CKAP4 ノックアウトマウス(以下 KO)を作製した。CKAP4KO マウスが発生や成長に大きな異常はないことを確認した。さらに、CKAP4KO マウスに CKAP4 の Dkk1 結合領域のリコンビナントタンパク質を免疫し、モノクローナル抗体作製を行った。

ELISA 陽性であった 24 クローンのハイブリドーマの培養上清を評価し、i) がん細胞の細胞膜染色陽性、ii) ウェスタンブロットでヒト・マウスの内在性 CKAP4 を認識する、iii) Dkk1-CKAP4 結合阻害能を有する、iv) *in vitro* でのがん細胞増殖抑制効果を持つ、クローンを複数種得た。

英文

CKAP4 knockout (KO) mice generated by the CRISPR/Cas9 system, and the KO mice had no major abnormality in development and growth. CKAP4 KO mice were immunized with the recombinant protein of the Dkk1 binding region of CKAP4 and mouse anti-CKAP4 monoclonal antibodies were generated.

ELISA-positive 24 clones were assessed by using five criteria as follows:

- i) Detection of CKAP4 on the cell surface membrane of pancreatic cancer cell line, S2-CP8
- ii) Detection of endogenous human and mouse CKAP4 in Western blotting
- iii) Blocking the binding of Dkk1 and CKAP4
- iv) Suppression of proliferation of S2-CP8 cells

By these secondary screening, several clones producing anti-CKAP4 antibody were further selected.

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. 新規癌治療標的である Dkk1-CKAP4 シグナル, 口頭, 木村 公一, 麓勝己, 庄嶋健作, 大杉祥仁, 菊池章, 第 75 回癌学会学術総会, 2016/10/06, 国内.
2. Epithelial morphogenesis regulated by Wnt signaling and implications in tumorigenesis due to its abnormality, 口頭 (Plenary Lecture), Akira Kikuchi, EMBO Sympojium Wnt Meeting 2016, 2016/9/16, 国外.

(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