

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) 転移性進行がんの診断と治療を可能にする革新的がん細胞ターゲティングシステムの開発
(英語) Development of innovative cancer cell targeting system enabling diagnosis and treatment of metastatic advanced cancer
- 研究開発担当者 所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学 先端科学技術研究センター 教授 児玉 龍彦
(英語) Research Center for Advanced Science and Technology The University of Tokyo, Professor Kodama Tatsuhiko
- 実施期間： 平成 28 年 9 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 開発課題名： (日本語) HM1-Cupid タンパク質の発現と精製
(英語) Protein expression and purification of HM1-Cupid
- 研究開発分担者 所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学 先端科学技術研究センター 教授 児玉 龍彦
(英語) Research Center for Advanced Science and Technology The University of Tokyo, Professor Kodama Tatsuhiko
- 分担研究 開発課題名： (日本語) PET イメージングによる HM1-Cupid 体内動態の解析
(英語) Analysis of biodistribution of HM1-Cupid by PET imaging
- 研究開発分担者 所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学アイソトープ総合センター 教授 和田 洋一郎
(英語) Isotope Science Center, The University of Tokyo, Professor Yoichiro WADA
- 分担研究 開発課題名： (日本語) 新規 Psyche の設計・合成および各種 Psyche-エフェクター剤の合成
(英語) Design and synthesis of novel Psyche and synthesis of various Psyche-effector agents

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学大学院 薬学系研究科 助教 清水 洋平
所属 役職 氏名 : (英 語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences The University of Tokyo,
Assistant professor Yohei SHIMIZU

分担研究 (日本語) Cupid への合目的最良 scFv 抗体の取得
開発課題名 : (英 語) Acquisition of the best target scFv antibody to Cupid

研究開発分担者 (日本語) 学校法人藤田保健衛生大学 研究支援推進センター 講師 黒澤 仁
所属 役職 氏名 : (英 語) Center for Research Promotion and Support Fujita Health University,
Lecturer Gene KUROSAWA

分担研究 (日本語) Cupid-Psyche ターゲッティングシステム最適化のための結晶構造解析
開発課題名 : (英 語) Crystal structure analysis for optimization of Cupid-Psyche targeting
system

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学大学院 工学研究科 講師 溝端 栄一
所属 役職 氏名 : (英 語) Graduate School of Engineering Osaka University, Lecturer Eiichi
MIZOHATA

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

平成 28 年度における転移進行がんの診断と治療を可能にする革新的がん細胞ターゲティングシステムの開発では、まず和田教授（東京大学 アイソトープ総合センター）らのグループとともに、ヒト胃がん細胞株を移植したゼノグラフトモデルマウスによる *in vivo* でシステムの性能評価を進めた。具体的にはインジウム 111 (In-111) で標識した Psyche-DOTA を用いプレターゲティング法にて投与を行い解剖法による体内動態解析を実施し、35%ID/g の腫瘍集積性を確認した。また PET 核種である銅-64 (Cu-64) で標識した Psyche-DOTA を用い PET イメージングによる体内動態の解析を実施するにあたり、Psyche-DOTA への Cu-64 標識の条件検討を進め放射化学的純度 80-98%での標識に成功した。さらにこの標識体を用いプレターゲティング法にて投与を行いイメージングにおいても腫瘍特異的な集積を確認した。

一方、清水助教（東京大学 大学院薬学系研究科）らのグループとともに Psyche-DOTA を用い放射性核種をデリバリーする方法とは別に、ハロゲンに属するヨウ素-124 (PET 核種：診断用)やアスタチン-211 (α 線放出核種放出核種：治療用)を結合させる Psyche-ATE の合成検討を開始し、90%の純度での合成に成功した。さらに Psyche-ATE に非放射性ヨウ素を結合させる検討を行いヨウ素の結合を確認した。これらを受けて、放射性ヨウ素およびアスタチンの結合検討を開始した。

新規 scFv 型抗体の取得では、黒澤講師らのグループにより上皮成長因子受容体 (EGFR) に対する高親和性抗体がスクリーニングされ Cupid との融合タンパク質の作製を開始した。また、新たにターゲットとして抗体結合により内在化しにくい抗原 2 種類、内在化する抗原 2 種類に対する scFv 型抗体のスクリーニングを開始した。

また、溝端講師（大阪大学 大学院工学系研究科）らのグループにより Cupid と Psyche-DOTA の結晶構造解析に成功し、Cupid と結合状態にある Psyche 化合物に揺らぎがあることが見出した。この解析結果を基に、清水助教（東京大学 大学院薬学系研究科）らのグループとともに新規 Psyche 化合物の設計および合成を開始した。

英文

In the development of an innovative cancer cell targeting system that enables the diagnosis and treatment of metastatic disease progression cancer, we carried out *in vivo* performance evaluation of the Cupid-Psyche system by using xenograft model mice. Specifically, we administered Psyche-DOTA labeled with indium 111 (In-111) by pretargeting method and analyzed biodistribution by anatomical method. From this analysis, we found that tumor accumulation was 35% ID/g. Furthermore, we carried out *in vivo* system evaluation by PET imaging using Psyche-DOTA labeled with copper-64 (Cu-64) which is a positron emitter. At first, we investigated the condition of Cu-64 labeling to Psyche-DOTA and succeeded in labeling at 80-98% radiochemical purity. Using Cu-64 labeled Psyche-DOTA, we confirmed that tumor-specific accumulation of xenograft model mice administered by pretargeting method.

Meanwhile, apart from the method of delivering radioactive nuclides using Psyche-DOTA,

iodine-124 (positron emitter for diagnosis) and astatine-211 (alpha emitter for therapy) We studied synthesis condition of Psyche-ATE and succeeded in synthesis at 90% purity. Further investigation was made to bond non-radioactive iodine to Psyche-ATE to confirm the binding of iodine. Based on this result, we started studying the binding of radioactive iodine and astatine.

In acquiring the new scFv type antibody, we obtained high affinity anti epidermal growth factor receptor (EGFR) scFv type antibody and started production of a fusion protein with Cupid.

We also succeeded in analyzing the crystal structure of Cupid and Psyche-DOTA. We found that there was fluctuation in the Psyche compound bound to Cupid. Based on this analysis result, we started designing and synthesizing a novel Psyche compound.

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 6件)

1: Iijima M, Anai M, Kodama T, Shibasaki Y. Epiregulin-blocking antibody inhibits epiregulin-dependent EGFR signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017 Mar 5. pii: S0006-291X(17)30445-X. [Epub ahead of print]

2: Masuda K, Kitakami JI, Kozasa T, Kodama T, Ihara S, Hamakubo T. Visualization of ligand-induced G(i)-protein activation in chemotaxing cells. *FASEB J.* 2017 Mar;31(3):910-919. Epub 2016 Nov 23.

3: Kondo A, Yamamoto S, Nakaki R, Shimamura T, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Yoshida T, Aburatani H, Osawa T. Extracellular Acidic pH Activates the Sterol Regulatory Element-Binding Protein 2 to Promote Tumor Progression. *Cell Rep.* 2017 Feb 28;18(9):2228-2242.

4: Ishimoto K, Kawamata N, Uchihara Y, Okubo M, Fujimoto R, Gotoh E, Kakinouchi K, Mizohata E, Hino N, Okada Y, Mochizuki Y, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Inoue T, Tachibana K, Doi T. Ubiquitination of Lysine 867 of the Human SETDB1 Protein Upregulates Its Histone H3 Lysine 9 (H3K9) Methyltransferase Activity. *PLoS One.* 2016 Oct 31;11(10):e0165766.

5: Ishibashi S, Yamashita S, Arai H, Araki E, Yokote K, Suganami H, Fruchart JC, Kodama T; K-877-04 Study Group.. Effects of K-877, a novel selective PPAR α modulator (SPPARM α), in dyslipidaemic patients: A randomized, double blind, active- and placebo-controlled, phase 2 trial. *Atherosclerosis.* 2016 Jun;249:36-43. Epub 2016 Feb 26.

6: Hangai S, Ao T, Kimura Y, Matsuki K, Kawamura T, Negishi H, Nishio J, Kodama T, Taniguchi T, Yanai H. PGE2 induced in and released by dying cells functions as an inhibitory DAMP. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Apr 5;113(14):3844-9. Epub 2016 Mar 21.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 最新のがん治療薬開発について、児玉龍彦、東京大学整形外科臨床医会（紀尾井ホール）、2016/11/12、国内
2. 前立腺がんが去勢抵抗性になる間のゲノムワイドの変異からの標的探索、児玉龍彦、第 19 回 UTP シンポジウム（ホテル椿山荘東京）・特別講演、2017/1/15、国内
3. 動脈硬化の成因と新しい栄養学からの治療、児玉龍彦、第 12 回全会津動脈硬化研究会（ホテルニューパレス）、2017/2/8、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. オープニングリマーク、児玉龍彦、東京大学先端科学技術研究センター・オープンキャンパス 公開シンポジウム「新しい栄養学～がん・肥満・エイジングの「食活」～」、2016/6/3、国内
2. 生活習慣病の創薬の歴史と新しい栄養学、児玉龍彦、熊本大学生命資源研究・支援センター講演会（熊本大学薬学部ホール）、2016/12/20、国内
3. 動脈硬化の新しい栄養学 アセチル CoA とケトン体とエピゲノム、児玉龍彦、文科省「高次神経機能障害の発症メカニズム解明と新規治療法の開発」事業・第 4 回 公開シンポジウム（同志社大学）、2017/3/10、国内

(4) 特許出願

該当なし