

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) 質量顕微鏡を駆使した難治がん間質関連抗体・抗がん剤複合体の開発
(英語) Development of antibody-drug conjugates for refractory cancer by using MS imaging
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 伊藤細胞制御化学研究室 眞鍋史乃
所属 役職 氏名： (英語) Shino Manabe, RIKEN, Synthetic Cellular Chemistry Laboratory
- 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) 質量顕微鏡による ADC の至適デザイン評価
開発課題名： (英語) Optimum linker design using MS imaging
研究開発分担者 (日本語) 株式会社島津製作所 分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発
センター センター長 古田 大
所属 役職 氏名： (英語) Masaru Furuta, General Manager, Global Application Development
Center, Analytical & Measuring Instruments Division, Shimadzu
Corporation
- 分担研究 (日本語) 抗不溶性フィブリン抗体作製、抗 TF 抗体作製
開発課題名： (英語) Preparation of anti-Fibrin antibody and anti-TF antibody
研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 先端医療開発センター
新薬開発分野・特任研究員 安西 高廣
所属 役職 氏名： (英語) Takahiro Anzai, National Cancer Center Exploratory Oncology Research
and Clinical Trial Center, Division of Developmental Therapeutics.
Researcher
- 分担研究 (日本語) ADC の作製とその薬効評価
開発課題名： (英語) Preparation and evaluation of ADCs

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 先端医療開発センター
新薬開発分野・特任研究員 淵上 弥史

所属 役職 氏名: (英語) Hirobumi Fuchigami, National Cancer Center Exploratory Oncology
Research and Clinical Trial Center, Division of Developmental
Therapeutics. Researcher

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

固形癌には、間質が豊富に存在するため、治療が困難である。本プロジェクトでは、間質をターゲットとした抗体を作製し、各抗体の特性に合わせたリンカー付き薬物を結合させ、ADC を作製し、難治性がんの治療開発を目指している。

間質であるフィブリンに加えて悪性度が高いがんを高発現している **Tissue Factor** に対する親和性の高い抗体クローンの取得を行い、各クローンについての生化学的、生物学的、薬理的な比較評価を行なった。さらにヒトキメラ化を行なった。

さらに、それぞれの抗体の特性に合わせて、抗フィブリン抗体に対しては、プラスミンにより切断可能である Val-Leu-Lys リンカー、抗 TF 抗体に対しては細胞内プロテアーゼであるカテプシン切断で切断される Val-Cit リンカーを設計・合成した。さらに強力なチューブリン阻害剤である monomethyl auristatin E を薬物として選択し、結合させた。

質量イメージングにより MMAE を半定量的に検出できることを確認した。

新規抗体を用いての ADC を作製し、MMAE のリリース能力や Xenograft モデルを用いての薬効評価を行なっている。

英文

Monoclonal antibodies (mAbs) and molecular targeting agents are quickly becoming important therapies in clinical applications. However, treatment of solid tumor is difficult, because abundant stroma prevents access of antibody to cell surface antigen. In this project, we will establish cancer stromal targeting (CAST) therapy. For the purpose, cytotoxic drugs with cleavable linkers are conjugated to anti-stroma antibody. In CAST therapy, cytotoxic drugs are released at stroma, then both cancer cells and neovascular vessel are destroyed. We choose fibrin and tissue factor (TF) for targeting stroma. Fibrin is one of abundant stroma in solid tumor, and tissue factor is found in highly malignant cancer. High affinity of clones of anti-fibrin antibody and anti-TF antibody were obtained, and biochemical, biological, and pharmacological properties were evaluated. Then, chimeric antibodies were prepared.

Linkers must be designed for antibody properties. Linkers control number of drugs to antibody ratio, conjugation site, and releasing of drug sites. For anti-fibrin antibody, plasmin cleavable Val-Leu-Lys linker was designed, and for anti-TF antibody, cathepsin cleavable Val-Cit linker was designed. Then, both linkers were added to potent cytotoxic monomethyl auristatin E (MMAE) via *p*-aminobenzyl carbamate group. Conditions of MS imaging of MMAE in a semi-quantitative manner was established. anti

(1) Linker development

For anti-fibrin antibody, plasmin cleavable Val-Leu-Lys linker was designed, and cathepsin cleavable Val-Cit linker was designed for anti-TF antibody. Then, both linkers were added to potent cytotoxic monomethyl auristatin E (MMAE) via *p*-aminobenzyl carbamate group. Preparation of glucuronic acid type linker is in progress.

(2) MS imaging

Conditions of MS imaging of MMAE in a semi-quantitative manner was established.

(3) Preparation of novel anti-stroma antibodies

High affinity of clones of Anti-fibrin antibody and anti-TF antibody were obtained, and K_a , K_d , and K_D were evaluated by SPR. Then, chimeric antibodies were prepared. ADCs were prepared by conjugation of drugs to novel antibodies. Evaluation of MMAE releasing ability and anti-cancer ability in vivo are now in progress.

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 2件、国際誌 0件）

1. 「抗体－薬物複合体 要素技術と総合技術」眞鍋史乃、*薬学雑誌*、**2017**, *137*, 523-524.
2. 「分子イメージングを駆使した ADC の開発」安永正浩、眞鍋史乃、辻厚至、古田大、緒方是嗣、古賀宣勝、藤原悠起、佐賀恒夫、松村保広、*薬学雑誌* **2017**, *137*, 535-544.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 「糖化学からの展開：切断機構の解明からバイオ医薬品へ」口頭、眞鍋史乃、第14回有機合成化学談話会（湯河原セミナー）2016/9/23、国内
2. “Chemistry between Antibody and Drug: Linker Technology in ADC: 抗体と薬物を結合する Chemistry” 口頭、Shino Manabe, The 75th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 2016/10/7、国内

(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