

平成 28 年度 委託実験調査成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 創薬支援推進事業 創薬総合支援事業
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名： (日本語) Dkk1 の新規受容体を標的とするがん治療薬
(英語) Development of cancer therapeutics targeting to a Dkk1 novel receptor

実験調査担当者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 大学院医学系研究科分子病態生化学
助教 麓 勝己

所属 役職 氏名： (英語) Departments of Molecular Biology and Biochemistry, Graduate School of
Medicine, Osaka University, Assistant Professor, Katsumi Fumoto

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要

- ・ DKK1 の新規受容体 CKAP4 のリコンビナントタンパク質を抗原として、モノクローナル抗体の作製を行った。
- ・ ELISA 陽性であった 96 クロンの培養上清のうち、①がん細胞の細胞膜染色陽性、②ウェスタンブロットで内在性 CKAP4 を認識する、③ *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。
- ・ 抗CKAP4モノクローナル抗体の腹腔内投与により、ある種のがんヌードマウス皮下腫瘍形成が阻害された。
- ・ 種々のがん細胞株細胞をDKK1の高発現と低発現、CKAP4の細胞膜発現と非発現に分類した。
- ・ 複数種のがん細胞株でDKK1 高発現かつCKAP4が細胞膜に発現していた。一方、正常細胞やある種のがん細胞株ではCKAP4が細胞膜に発現していなかった。

ンブロットで内在性 CKAP4 を認識する、③*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。

・抗 CKAP4 モノクローナル抗体の腹腔内投与により、ある種のがんヌードマウス皮下腫瘍形成が阻害された。

・種々のがん細胞株細胞を、DKK1 の高発現と低発現、CKAP4 の細胞膜発現と非発現に分類した。

・複数種のがん細胞株で DKK1 高発現かつ CKAP4 が細胞膜に発現していた。一方、正常細胞やある種のがん細胞株では CKAP4 が細胞膜に発現していなかった。

・ By using recombinant protein of a novel DKK1 receptor “CKAP4” as antigen, monoclonal antibodies against CKAP4 were generated.

・ ELISA positive 96 clones were assessed by using three criteria as follows;

1) Detection of CKAP4 on the cell surface membrane of pancreatic cancer cell line, S2-CP8

2) Detection of endogenous CKAP4 in Western blotting

3) Suppression of S2-CP8 cell proliferation

As a result, several candidate antibodies were obtained.

・ Intraperitoneally injected anti-monoclonal CKAP4 antibody inhibited tumor proliferation in subcutaneous xenografted cancer cell lines.

・ Various cancer cell lines were categorized by the levels of DKK1 and cell surface membrane-localized CKAP4 (PM-X CKAP4).

・ A number of cancer cell lines highly expressed DKK1 and PM-CKAP4. On the other hands, some cell lines, including normal cells or certain types of cancer cells, had little expression of PM-CKAP4.

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）

1. Kimura H, Fumoto K, Shojima K, Nojima S, Osugi Y, Tomihara H, Eguchi H, Shintani Y, Endo E, Inoue M, Doki Y, Okumura M, Morii E, and Kikuchi A. CKAP4 is involved in tumor progression as a Dickkopf1 receptor. The Journal of Clinical Investigation. 2016, 126, 2689-705.

(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 Symposium 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