

研究の分類・属性

TR/早期開発分野

研究の概要

ナノテクノロジー（以下ナノテックと略す）は本邦が技術的優位にあり産業競争力も強いいため、我が国の経済発展への貢献と新事業創出への期待が大きい分野である。がん治療においては、ナノデバイスをキャリアとして用いることで、抗がん剤、造影剤、などを、がん組織選択的に集積させる **drug delivery system (DDS)** に応用することができる。がん診断に関しても、開発システム自体の中にナノテックの要素を積極的に取り入れることで、新たな高感度非侵襲的診断法の開発を効率的に進めることができる。

平成 27 年度において、工学系のナノマテリアルと抗体などの生物系マテリアルの融合により、従来にない新しいがん治療・診断法の開発研究を行う。特に、国立がん研究センターを中心として独自のシーズ・研究プランを有する抗体をベースにしたナノテック研究の基盤を整備して 28 年度以降の臨床展開を目指す。具体的には治療用に抗体 DDS 製剤、抗体ミセルハイブリッド製剤、体内診断として、低分子化抗体 MRI 造影剤、PET/CT 用抗体プローブの開発、体外診断用としてナノイムノビーズなどを新たに創出する。対象疾患は、難治性の膵臓がん・胃がん・脳腫瘍・頭頸部がんとがん検診率の向上が求められている子宮がん・大腸がんであり、基礎・トランスレーショナル・臨床研究が三位一体形式で、出口志向型の研究を行う。実際の臨床における DDS に関しては、タキソール (PTX) 内包ミセルの進行乳がんに対する国際共同 phase 3 を推進している。またシスプラチン (CDDP) 内包ミセルについても国際共同 phase 1/2 において腎毒性と消化器毒性が著明に軽減したという結果を受けて、外来治療が可能な CDDP の DDS 製剤として、国立がん研究センターでも phase 1 治験を開始した。現行の標準治療に CDDP が含まれているがん腫において phase 3 を行うべく検討中である。非臨床研究においては、ミセル薬剤の腫瘍選択性を増強するために質量顕微鏡による解析を加えたドラッグデザインを行なっていく。

開発早期から企業と連携を行うことで、現在、国立がん研究センターを中心に行っているナノ DDS 製剤の臨床開発工程に随時加え、実用化を最優先した開発を進める。ナノ DDS の臨床開発と平行し、ナノ DDS と既存薬との併用、あるいは適応拡大のための前臨床試験を遂行し、今後の臨床開発に道筋をつける。本研究により期待される成果は、1) 早期から企業と連携し、医薬品の輸入超過状況から本邦発の新規治療・診断薬を国際展開させることによる日本企業の国際競争力強化、2) 副作用対策費の減少、入院治療から外来治療へのシフトなどによる全体の医療費の抑制、3) 安価で医者いらずの家にながら可能ながんスクリーニングの創生によるがん検診率の上昇である。

動物実験は各施設の動物倫理委員会の承認を得て実施し、臨床試験においては施設内倫理審査の承認を得たうえで慎重に行う。

平成 27 年度研究経費

34,995 千円

研究班の組織

研究者名	所属研究機関名・職名	分担研究課題名
松村 保広	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・分野長	研究 全体総括
安永 正浩	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・ユニット長	分担研究の代表及び間質コンポーネンツに基づいた抗体DDS開発戦略
杉野 隆	静岡県立静岡がんセンター病理診断科 医長	がんの間質と血管の多様性とDDSとの関連の病理学的解析
濱口 哲弥	国立がん研究センター中央病院 消化管内科・医長	DDS製剤の臨床導入に関する研究
古賀 宣勝	国立がん研究センター東動物実験管理室・室長	ナノ診断法の開発
角川 康夫	国立がん研究センター中央病院 内視鏡科・医長	大腸がんナノ診断法の開発
西山 伸宏	東京工業大学資源化学研究教授	抗体結合高分子ミセルの開発
眞鍋 史乃	独立行政法人理化学研究所専任研究員	PEG-抗がん剤 有機合成
伊藤 雅昭	国立がん研究センター東病院大腸外科科長	大腸がんナノ診断法の開発

齋藤 博	国立がん研究センターがん予防・検診研究センター検診研究部・部長	大腸がんナノ診断法の開発
------	---------------------------------	--------------

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的)

研究代表者らが提唱した DDS の腫瘍集積性の理論的支柱である EPR (Enhanced Permeability Retention) 効果(Cancer Res 1986) の論文はこの 10 年で被引用件数が 1000 を超える。今後 DDS 製剤の競争が高まると予想されるが、現行の DDS では限界があるため、抗体などを付加した標的効果の高い次世代 DDS 製剤の開発が急務である。また、がん細胞特異抗原に対する抗体に抗がん剤を付加したミサイル療法は、豊富な間質成分が抗体のがん細胞への到達を妨げているために一般の固形腫瘍には無効である。この克服のため、抗間質抗体を用いてがん間質に DDS 製剤を集積させ、そこから薬剤を放出するがん間質ターゲット CAST(Cancer Stromal Targeting)療法を立案した (Cancer Sci 2011)。CAST 療法の一環として抗不溶性フィブリンを認識する抗体を世界で初めて作製することに成功し、また悪性度が高いがんほど、本抗体で強く染色されることを見いだした。つまり悪性度とがん浸潤・出血・血液凝固は強く相関している。その他大腸がん特異抗体、抗 Tissue factor (TF)抗体などすでに作製しており、これらを利用して、抗体抗がん剤複合体(Antibody Drug Conjugate: ADC)および抗体ミセル複合体など新規の抗体デリバリーの開発を行なう。また、現在遂行中の抗がん剤内包ミセルの国内治験および国際治験のスピードアップを図る。

ナノテクと基礎・臨床医学の両方に精通した上で、現在開発が進行している他の治験薬・診断法との差異を厳密に評価できるのは国立がん研究センターのみである。新規 DDS 製剤を創出し、延命期間を延ばすだけでなく、副作用対策費の減少、入院から外来治療へのシフトなど、患者 QOL の向上と医療経済学の両方に貢献できる。さらにナノ診断法の創成により、安価で家にいながらできるがんスクリーニングの開発をし、がん検診率を上昇させ、がん死亡率を減少させることを目的とする。

(到達目標)

1. ナノ DDS の臨床：

- 胃がんに対する S-1/シスプラチンミセル併用の非臨床研究。胃がんに対する DACH プラチン内包ミセルとエピルビシン内包ミセルの併用療法の非臨床研究。本研究終了までに企業導出を行なう。

2. 抗体付加抗腫瘍剤内包ナノ粒子の開発：

- ホウ素中性子捕捉療法用抗 TF 抗体付加ホウ素化合物内包ナノ粒子の開発
- 抗 TF 抗体付加エピルビシン内包ミセルの開発
- 抗 TF 抗体付加 DACH プラチン内包ミセルの開発

3. がん間質ターゲティング療法。Cancer Stromal Targeting (CAST) therapy and diagnosis：

- 各種浸潤がんにおける不溶性フィブリン沈着、TF 発現状況のトランスレーショナル研究。
- 抗不溶性フィブリン抗体・抗がん剤 MMAE 複合体の作用機作の解明と薬理・薬効評価。
- 抗 TF 抗体・MMAE 複合体の薬理・薬効評価。
- 抗不溶性フィブリン抗体の MRI 造影剤の作製。
- 抗不溶性フィブリン抗体の PET/CT 造影剤の作製。
- 抗不溶性フィブリン自己抗体の検出とがん診断への応用の検討。
- 抗体-抗がん剤コンジュゲートの効果の更なる増強を目指し、効果的なリンカーの設計、合成、比較検討を行う。

- 新規大腸がん抗体・抗がん剤複合体の開発。

- 上記抗体産生細胞のマスターセルの樹立の後、GMP 準拠の抗体および各種複合体を作製する。

4. 体液を利用したがんナノ診断法の開発のための基盤整備

- 新規大腸がん抗体ナノイムノビーズによる、血液、便、を対象とした大腸がん腫瘍マーカー、スクリーニング法の開発。新規体外診断薬としての開発につき PMDA 相談を研究期間の終了まで行なう。

5. 質量顕微鏡による DDS 製剤の可視化と DDS ドラッグデザインへの応用。

・タキソール以外の抗がん剤、分子標的剤の組織内可視化を試み、組織学的薬物動態試験としての有用性を証明。

第2年次

(到達目標)

1. ナノ DDS の臨床：
 - ・胃がんに対する S-1/シスプラチンミセル併用の非臨床研究。胃がんに対する DACH プラチン内包ミセルとエピルピシン内包ミセルの併用療法の非臨床研究
2. 抗体付加抗腫瘍剤内包ナノ粒子の開発：
 - ・抗 TF 抗体付加エピルピシン内包ミセルの膵がんおよび脳腫瘍モデルにおける非臨床評価
 - ・抗 TF 抗体付加 DACH プラチン内包ミセルの開発
3. がん間質ターゲティング療法。Cancer Stromal Targeting (CAST) therapy and diagnosis：
 - ・各種浸潤がんにおける不溶性フィブリン沈着、TF 発現状況のトランスレーショナル研究。
 - ・抗不溶性フィブリン抗体・抗がん剤 MMAE 複合体の作用機作の解明と薬理・薬効評価。
 - ・抗 TF 抗体・MMAE 複合体の薬理・薬効評価。
 - ・抗不溶性フィブリン抗体の MRI 造影剤の作製
 - ・抗不溶性フィブリン抗体の PET/CT 造影剤の作製
 - ・抗不溶性フィブリン自己抗体の検出とがん診断への応用の検討。
 - ・抗体-抗がん剤コンジュゲートの効果の更なる増強を目指し、種々のリンカーの設計、合成などの比較検討
 - ・上記抗体のうち、非臨床評価が終わり次第、抗体産生細胞のマスターセル樹立をめざす。
4. 体液を利用したがんナノ診断法の開発のための基盤整備
 - ・新規大腸がん抗体ナノイムノビーズによる、血液、便、尿を対象とした大腸がん腫瘍マーカー、スクリーニング法の開発。
5. 質量顕微鏡による DDS 製剤の可視化と DDS ドラッグデザインへの応用。
 - ・タキソール以外の抗がん剤 (MMAE など) への応用。

(年次評価時点の実績要点)

1. ナノ DDS の臨床：
 - ・医師主導治験をめざす胃がんに対する S-1/シスプラチンミセル併用の非臨床研究において、S-1/シスプラチンと同等の抗腫瘍効果であった。一方毒性は有意に S-1/CDDP ミセルにおいて軽減された。将来入院治療が必要のない S-1/CDDP ミセルの胃がんへの適応をめざす。
2. 抗体付加抗腫瘍剤内包ナノ粒子の開発：
 - ・(IgG, F(ab')₂, Fab) 付加ミセルを作成し、TF 高発現ヒト膵がん皮下腫瘍モデルで薬効比較をおこなったところ3者に有意差はなかった。今後薬理学的研究も追加する必要があるが、治験へむけて IgG を付加することが決定された。
 - ・抗凝固活性のある抗 TF 抗体クローンと抗凝固活性のない抗 TF クローンではがん細胞に対する親和性が抗凝固活性のあるほうが細胞への結合力が有意に強かった。治験のための抗 TF クローンを選定し、キメラ化抗体の樹立に成功した。現在リサーチセルバンク樹立をめざしている。
 - ・皮下移植モデルにフォトフリンを投与し、24 時間後に光照射を行い、照射後 24 時間後に TF 発現量が最大となることを確認した。
3. がん間質ターゲティング療法。Cancer Stromal Targeting (CAST) therapy and diagnosis：
 - ・TF 発現は脳腫瘍グリオーマステージ4では 100%発現していることが確認された。
 - ・新たな抗不溶性フィブリン抗体クローンを樹立した。
 - ・抗不溶性フィブリン抗体・抗がん剤 MMAE 複合体の作用機序を in vitro フィブリンプレート上で明確にした。
 - ・将来の PET/CT プローブへの応用をめざし、抗不溶性フィブリン IgG と Fab を蛍光ラベルして in vivo イメージングで比較した。
 - ・種々の抗 TF 抗体クローンの抗 TF-MMAE 複合体の抗腫瘍効果を比較した。いずれも MMAE より有意な抗腫瘍効果を示した。
 - ・将来の PET/CT プローブへの応用をめざし、抗 TF 抗体 IgG と Fab を蛍光ラベルして in vivo イメージングで比較した。

- ・将来の SPECT プローブへの応用をめざし、抗 TF 抗体 IgG を In-111 でラベルし glioma 同所移植モデルで著明な集積を確認した。
 - ・マレイミドとシステインスルフィドリル基の体内における安定性を高めるためにジスルフィド型リンカーを設計、合成した。さらに抗体の Fc 部の糖鎖部を介して改変糖加水分解酵素と生物直交性反応を用いて、薬物を結合し、均一構造の抗体-薬物複合体の作成を行った。
4. 体液を利用したがんナノ診断法の開発のための基盤整備
 - ・新抗体付加イムノビーズと化学発光を用いた高感度タンパク検出系確立とがん患者血漿と正常血漿とで比較した。
 5. 質量顕微鏡による DDS 製剤の可視化と DDS ドラッグデザインへの応用。
 - ・MMAE の可視化に成功した。抗体付加 MMAE は検出できないことを証明できた。腫瘍標的部位でのコントロールリリースの評価に有用であることを示した。

研究成果と考察

第2年次評価時点

1. ナノ DDS の臨床：タキソール内包ミセル、シスプラチン内包ミセル、エピルピシン内包ミセルの phase1-3 治験は順調に推移している。本年度は胃がんの本邦における標準治療である S1/CDDP 併用における CDDP の毒性を軽減すべく S1/CDDP ミセルの併用につき *in vitro* と *in vivo* の薬効比較を行った。結果両併用群に抗腫瘍効果の違いはみられなかったが、ミセル群において腎毒性、消化管毒性に関する著明な減弱がみとめられた。胃がんにおける臨床評価が妥当と思われる。
 2. 抗体付加抗腫瘍剤内包ナノ粒子の開発：がん細胞表面に高発現している Tissue Factor(TF) に対するモノクローナル抗体(anti-TF1849)を付加したエピルピシン内包ミセル(NC-6300)anti-TF1849-NC-6300 は、TF 高発現腫瘍がん細胞において高い細胞内取り込みを示し、同細胞のマウス皮下移植モデルにおいて、NC-6300 に比し有意に優れた抗腫瘍効果を示した (図 1)。しかし anti-TF1849 抗体は強いヒト TF 活性阻害作用を有しているため anti-TF1849-NC-6300 は毒性としての出血が懸念される。そこで、凝固阻害作用が少ない抗ヒト TF 抗体 anti-TF1859 を作成し、これを付加した anti-TF1859-NC-6300 と NC-6300 の比較検討を行った。*in vitro* における affinity、殺細胞効果は、それぞれ NC-6300 に比し anti-TF1859-NC-6300 は良好な結果を示した。TF 高発現腫瘍がん細胞株のマウス皮下移植モデルにおいて anti-TF1859-NC-6300 は NC-6300 に比し有意な腫瘍増殖抑制効果を示した。以上より、凝固阻害作用の少ない anti-TF1859-NC-6300 の優れた抗腫瘍効果が示唆された。加えて、ミセルに付加する抗体として IgG、F(ab')₂、Fab' の 3 つのサイズの抗体を用意し、同じ数だけ付加した。結果として 3 者間に抗腫瘍効果に関する有意差は認めなかった。今後の臨床開発にむけた GMP 製剤における付加抗体は IgG 出良いということが確認された (図 2)。
- 抗 TF 抗体付加 DACH プラチン内包ミセルの開発に関しては、これまでにミセル 1 個あたりに 1 分子の抗ヒト TF 抗体が導入できる条件を確立し、ヒト腫瘍がん BxPC3 細胞の皮下移植モデルにおいて抗 TF 抗体付加ミセルががん細胞に効率的に取り込まれることによって優れた抗腫瘍効果を示すことが明らかになった。しかしながら治験において DACH による過敏症反応の頻度が高く、現在臨床開発が中断されているような状況である。そこで本年度は、TF 発現量と抗 TF 抗体付加ミセルのがん集積量の関係を明らかにし、将来的な抗 TF 抗体付加ミセルと物理エネルギー治療 (放射線治療、光線力学治療(PDT)、HIFU 治療等) の併用治療を視野に入れて、まずは PDT により固形がんの TF 発現量を上昇させるための条件検討を行った。具体的には、ヒト肺がん A549 細胞の皮下移植モデルに対して 10mg/kg のフォトリンを投与し、24 時間後に半導体レーザー(630nm)を用いて光照射を行った (100J/cm²)。その 12, 24, 48, 72 時間後に腫瘍を摘出し、ウエスタンブロッティング、ELISA、組織切片の免疫染色により評価した。その結果、光照射から 24 時間後に TF 発現量が最大となることが確認された。現在、PDT 後の固形がんへの抗 TF 抗体付加ミセルの集積量の評価を実施中である。ホウ素内包ミセル粒子とリポソーム粒子の製造には失敗した。今後の粒子製剤の開発は断念するのが妥当と考えた。
3. がん間質ターゲティング療法。Cancer Stromal Targeting (CAST) therapy and diagnosis：松村研究室で同定した抗不溶性フィブリン抗体のエピトープペプチドを免疫原として使用した際、抗不溶性フィブリン抗体の取得に成功した。Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) と表面プラズモン共鳴 (SPR) 解析の結果から新規抗体は clone 102-10 より不溶性フィブリンに対して親和性が高かった (図 3、表 1)。また、フィブリノゲンに対する反応性に差は見られなかった (図 3)。組織免疫染色の結果、各抗体は腫瘍

の間質部を特異的に染めることができた (図 4A)。P53、p48、K-Ras の三重変異マウス (膵臓がんモデルマウス)由来の膵臓がん細胞株を用いて作製したマウス皮下腫瘍モデルで *in vivo imaging* を行った結果、clone 443 と clone 99 は clone 102-10 と同等あるいはそれ以上の血中滞留性および腫瘍集積性を有していた (図 4B)。

プラスミン特異的切断サイトを持つ linker-MMAE を用いた ADC の作製と *in vitro* における抗腫瘍効果においては、プラスミンにより特異的に認識される切断サイトを持ち、強力な抗がん剤である MMAE を薬剤として有するリンカー-MMAE を構築し、フィブリン特異的抗体に結合された抗体薬剤複合体 (抗フィブリン-ADC) を作製した。抗フィブリン-ADC は *in vitro* においてヒト膵臓がん細胞 Panc-1 に対しフィブリンの存在下において顕著な抗腫瘍効果を示し、その 50% 阻害濃度 (IC50) は 3.63 nM (MMAE 換算) であった。一方、同じフィブリン特異的抗体に ADC に広く使用されているカテプシンによる切断サイトを持つリンカー-MMAE を付加したコントロール ADC は弱い抗腫瘍効果を示したが、IC50 には至らなかった。現在動物モデルとして 3 重変異マウスを用いた *in vivo* における抗腫瘍効果を検討中である。

抗フィブリン Fab を用いた腫瘍イメージングを試みた。Fab は IgG から Fc 部分を排除した低分子化抗体である。蛍光標識した抗フィブリン抗体を担癌マウスへ投与すると、Fab は IgG と比べてより短時間で腫瘍に集積し体外排出された。抗フィブリン Fab プローブは、投与して数時間以内に腫瘍イメージングを行うことができる。さらに抗フィブリン抗体は *in vitro* において血液凝固・線溶系には影響しなかった。以上の結果より、抗フィブリン Fab を用いた腫瘍イメージングの臨床的有用性が示唆された。

抗 TF 抗体の研究においては、4 種類の抗 TF ADC を作製して、それぞれの IgG の性状と ADC の抗腫瘍効果の関係性を検討した。BxPC3 皮下移植モデルマウスを用いて、腫瘍サイズが 200 mm³ に達した時点で各薬剤を尾静脈投与した (図 5A)。その結果、444ADC と 1084ADC、1849ADC の投与群はその他の群と比較して有意に高い腫瘍増殖抑制効果を示した。同様に腫瘍サイズが 600 mm³ に達した時点で投与を開始した (図 5B)。投与開始後の 1 週間においては、1084ADC 投与群は 1849ADC 投与群よりも有意に高い抗腫瘍効果を示した。この結果は、1084 IgG の高い腫瘍組織浸透性が寄与すると考えられる。以上の結果から、抗 TF ADC は BxPC3 皮下移植モデルマウスにおいて高い腫瘍増殖抑制効果を示し、ADC デザインにおいて、IgG の腫瘍組織浸透性が 1 つの重要な要素になる可能性が示唆された。

抗 TF IgG (150 kDa) と抗 TF Fab (50 kDa) を蛍光標識してヒト膵臓がん細胞株 BxPC3 皮下移植モデルマウスに尾静脈投与した。その結果、抗 TF IgG は高い血中滞留性と長時間に渡る腫瘍部集積性を示した (図 6A 上段)。一方、Fab は迅速に腫瘍部に集積し、短時間で体外へ排出された (図 6A 下段)。また、腫瘍部と非腫瘍部の蛍光強度を抗 TF IgG と抗 TF Fab で比較した結果、抗 TF IgG と比較して、抗 TF Fab は投与後、より早い時間で腫瘍部と正常部の蛍光強度比のピークが得られた (図 6B)。このような動態の違いは、分子サイズによる代謝経路や Fc ドメインの有無による血中安定性、抗原からの解離速度が起因していると考えられる。以上の結果から、抗 TF Fab は抗 TF IgG と比較して、短時間での画像診断が可能であり、有効な画像診断薬の DDS ツールになりえる事が示唆された。一方で、抗 TF IgG は長時間にわたって高い腫瘍集積性を示す事から、治療目的の DDS ツールに適することが示唆された。将来の放射線診断の臨床応用のため診断用放射性核種 In-111 で抗 TF 抗体をラベルし、グリオーマ同所移植モデルで集積性をコントロール抗体と比較したところ、抗 TF 抗体において著明な集積が確認された。

4. 体液を利用したがんナノ診断法の開発のための基盤整備

本研究室では、新規の大腸がん特異分子を特殊な網羅的発現解析で見いだしていたが、ようやく抗体を樹立することができた。そこで、大腸がんの検診法として血中に含まれるタンパクを対象とした新しい大腸がん診断法の確立を目指している。具体的には大腸がん細胞から放出されるエクソソーム上の微量なタンパクを検出するために、高感度検出法である抗体付加磁性ビーズを用いた化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA 法) による診断法の開発を行っている。現在は大腸がん特異的な分子に対する高性能な抗体の取得及び検出用抗体の組み合わせの検討及び標的となる分子の性状解析を行っている。大腸癌術前患者 112 例の余剰血漿を集めた。内訳は結腸癌 42 例、直腸癌 62 例、術後再発 8 例であった。病期別には Stage I 27 例、II 39 例、III 28 例、IV 6 例、術後再発 8 例、化学療法後完全寛解 4 例であった。最終的にはこれらの検体と健常者の血漿の比較を行い、さらに今日大腸がんの検査法として用いられている便潜血検査との比較を行う予定である。

5. 質量顕微鏡による DDS 製剤の可視化と DDS ドラッグデザインへの応用。

質量顕微鏡は、顕微鏡による明視野情報と質量分析計を一体化した装置である。薬効を有する抗がん剤の詳細な組織内分布情報を得る解析には質量顕微鏡が有効な選択肢の内の一つである。ADCs が腫瘍組織のどこに抗がん剤を放出しているかで抗腫瘍効果に影響がある可能性があり、腫瘍内に放出された抗がん剤分布を検討する必要がある。そこで質量顕微鏡を ADC 研究に応用し、ADCs の腫瘍内組織内で起こる現

象を捉えることで、プロドラッグである ADC の最適な評価ができると考えた。ADC 開発の主要な抗がん剤 MMAE について検討した。質量顕微鏡は半定量的に MMAE を可視化することができた (図 7A)。質量顕微鏡の検出レンジは m/z 50-5,000 であり、フリーの MMAE は検出されるが、ADC は検出されない (Fig. 7B)。質量顕微鏡を用いて腫瘍組織を直接解析した結果、がん部を標的とする ADC は選択的に癌部に MMAE を放出していることが明らかになった (Fig. 7C)。質量顕微鏡はリンカーテクノロジー評価の有効な解析ツールとなり、最適な ADC のドラッグデザイン開発に向けた研究を加速させると考えられる。

図1

抗TF抗体付加エピルビシン内包ミセル製剤の作用機序

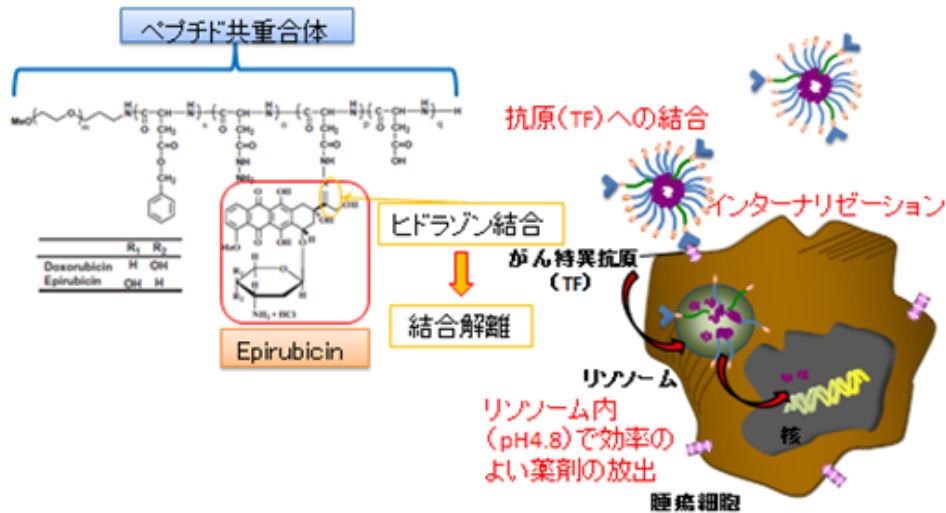


図2 TF高発現株BxPC3: 腫瘍増殖抑制効果 (IgG付加 vs F(ab')₂付加 vs Fab'付加)

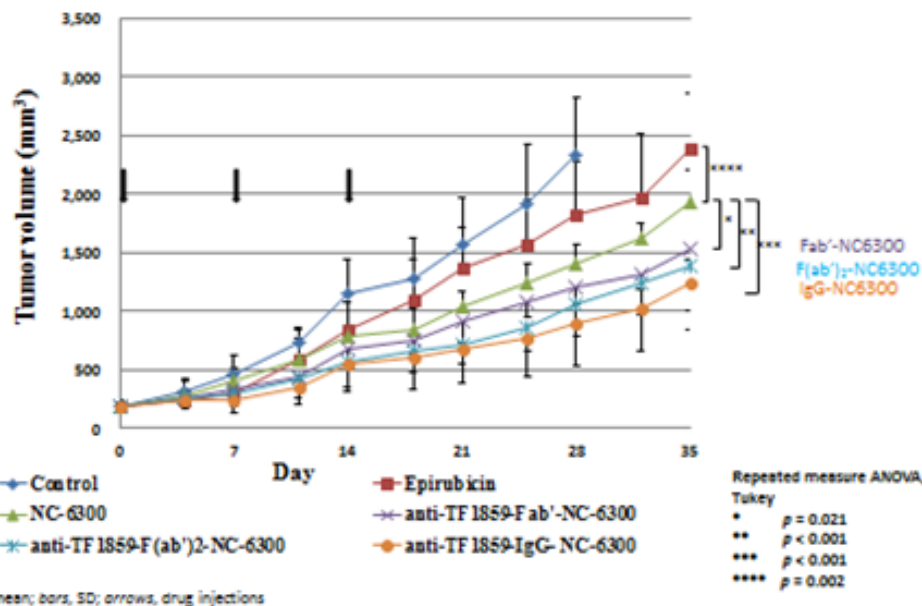


表1

SPR解析による102-10と新規抗体の比較

	Clone No.	結合速度定数 ka (1/Ms)	解離速度定数 kd (1/s)	アフィニティー KD (M)
マウス抗体	72	2.37×10^4	1.90×10^4	8.04×10^8
	99	1.80×10^4	5.85×10^4	3.26×10^8
	411	1.92×10^4	6.81×10^4	3.55×10^8
ラット抗体	443	2.14×10^4	2.69×10^5	1.26×10^9
	1555	2.35×10^4	1.23×10^4	5.20×10^9
	1831	2.23×10^4	1.32×10^4	5.90×10^9
マウス/ヒトキメラ抗体	102-10	3.77×10^4	1.75×10^3	4.64×10^8

図3

ELISAによる不溶性フィブリンおよびフィブリノゲンに対する反応性の評価

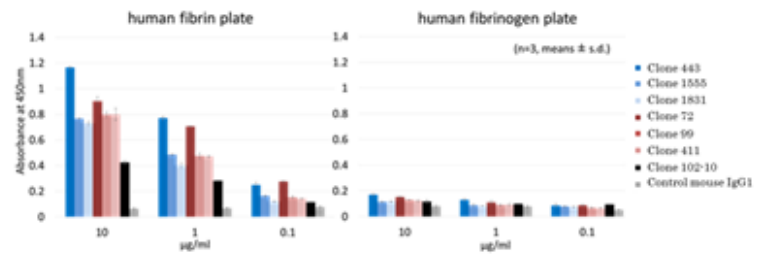


図4

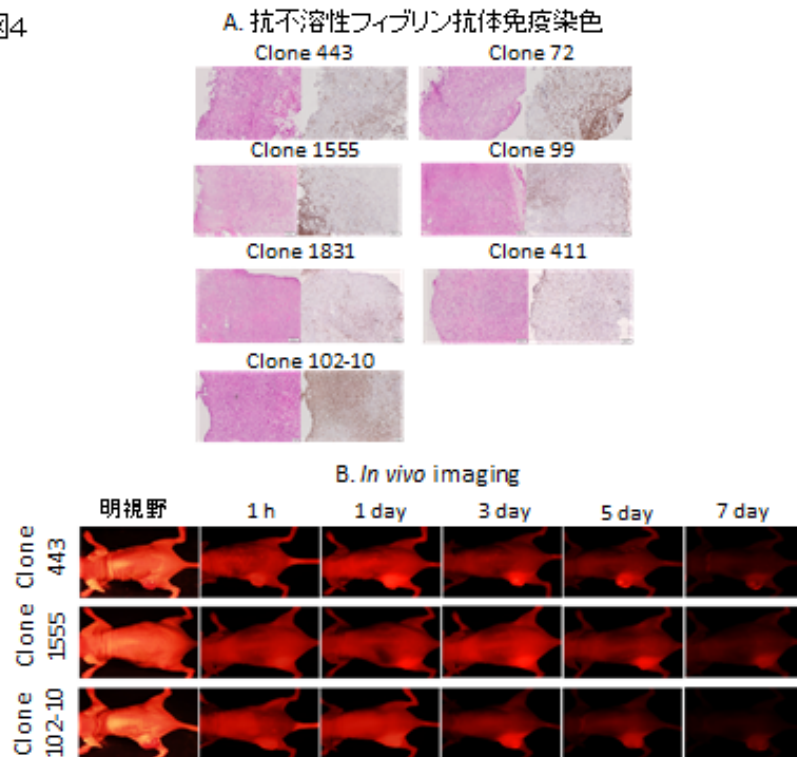


図5

抗Tf抗体-MMAE複合体の抗腫瘍効果

5 mg/kg, 週2回, 3週間, 計6回投与

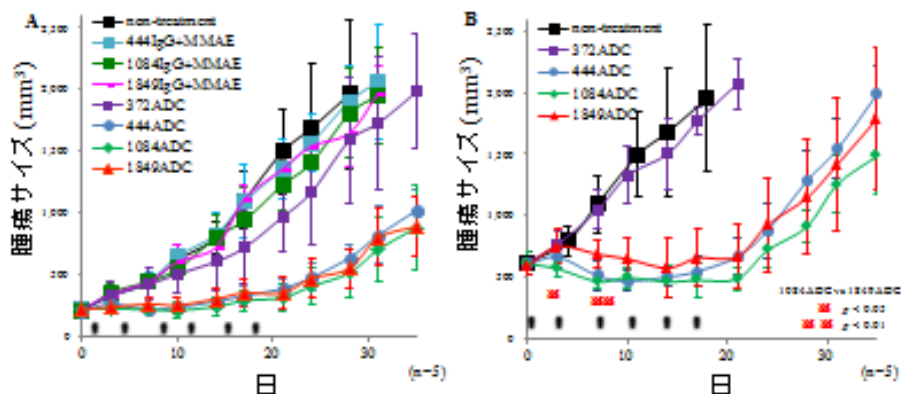


図6

抗TF抗体IgGとFabの腫瘍集積

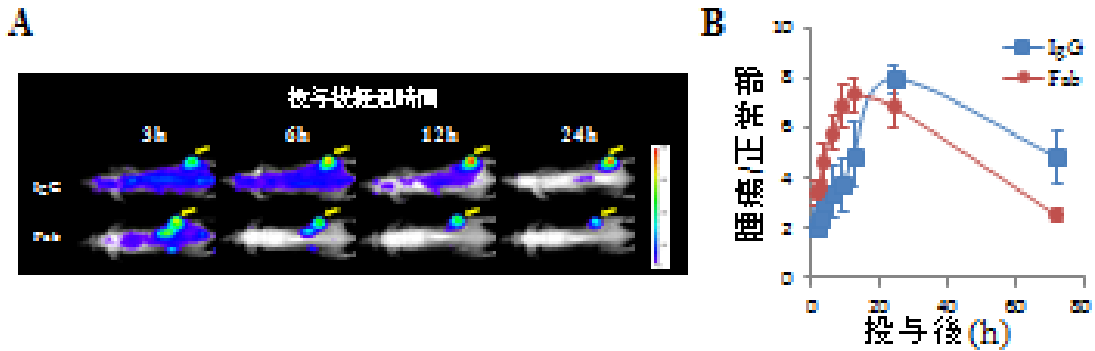
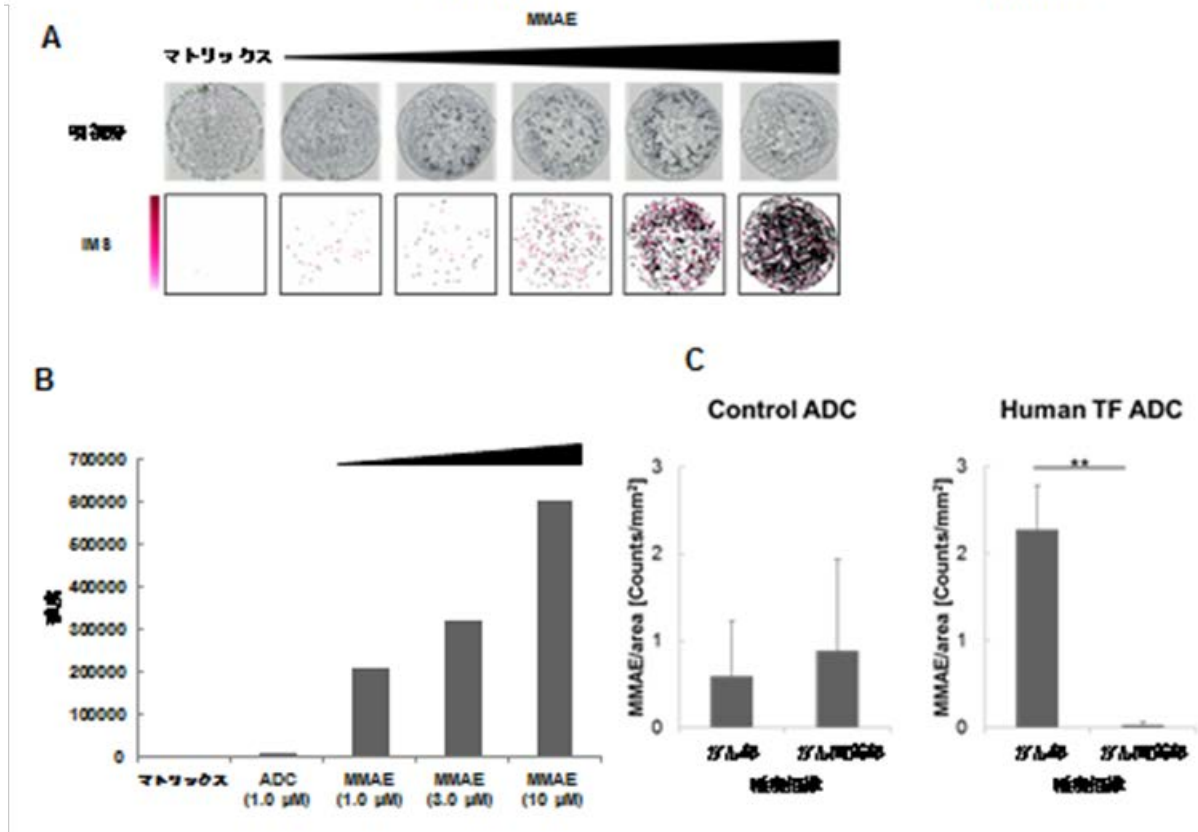


図7 質量顕微鏡による抗TF-MMAE複合体からリリースされたMMAEの同定



倫理面への配慮

動物実験は、国立がん研究センターおよび各研究施設の定める「動物実験指針」に従うとともに、動物倫理委員会の承認を得たうえで、動物の苦痛の低減に務め、動物愛護の精神に基づく実験を行う。遺伝子組み換えに関しては法律「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」及び関連する法律・政令・省令・告示を遵守して行う。臨床研究においては、がん患者、健常者、検診受診者問わず、全ての検体（便、タンポン、手術標本など）は、検体提供者本人の自由意思にて本研究に用いることについての同意を得たものを用いる。得られた個人情報の管理については、「個人情報保護法」を厳

守する。ただし、本研究は遺伝子多型解析などを行うものではなく、いわゆる三省合同指針「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の対象とはならないので、連結可能匿名化の必要はないが、得られた個人情報の管理については、研究者が暗号化を行い、個人情報を厳密に守る。研究は各研究者が属する施設が設置・運営する倫理審査委員会にて承認を得た上で実施する。臨床試験においては「新GCP」に従い施設内倫理審査の承認を得たうえで慎重に行う。

本研究に関連する、本研究期間中の主な論文・学会発表等

第2年次

(雑誌論文)

・ 国立がん研究センター研究開発費による成果であることが記載されているもの

1. Sugaya A, Hyodo I, Koga Y, Yamamoto Y, Takashima H, Sato R, Tsumura R, Furuya F, Yasunaga M, Harada M, Tanaka R, Matsumura Y. Utility of epirubicin-incorporating micelle tagged with anti-tissue factor antibody clone with no anticoagulant effect. *Cancer Sci* 2016 in press
2. Yamamoto Y, Hyodo I, Koga Y, Tsumura R, Sato R, Obonai T, Fuchigami H, Furuya F, Yasunaga M, Harada M, Kato Y, Ohtsu A, Matsumura Y. Enhanced antitumor effect of anti-tissue factor antibody-conjugated epirubicin-incorporating micelles in xenograft models. *Cancer Sci* 106:627-634,2015
3. Koga Y, Manabe S, Aihara Y, Sato R, Tsumura R, Iwafuji H, Furuya F, Fuchigami H, Fujiwara Y, Hisada Y, Yamamoto Y, Yasunaga M, Matsumura Y. Antitumor effect of anti-tissue factor antibody-MMAE conjugate in human pancreatic tumor xenografts. *Int J Cancer* 137:1457-1466,2015
4. Ahn J, Miura Y, Yamada N, Chida T, Liu X, Kim A, Sato R, Tsumura R, Koga Y, Yasunaga M, Nishiyama N, Matsumura Y, Cabral H, Kataoka K. Antibody fragment-conjugated polymeric micelles incorporating platinum drugs for targeted therapy of pancreatic cancer. *Biomaterials* 39:23-30, 2015
5. Tsumura R, Sato R, Furuya F, Koga Y, Yamamoto Y, Fujiwara Y, Yasunaga M, Matsumura Y. Feasibility of use of the Fab fragment of a monoclonal antibody against tissue factor (TF) as a diagnostic tool. *Int J Oncol* 47: 2107-2114, 2015
6. Sakai-Kato K, Nishiyama N, Kozaki M, Nakanish T, Matsuda Y, Hirano M, Hanada H, Hisada S, Onodera H, Harashima H, Matsumura Y, Kataoka K, Goda Y, Okuda H, Kawanishi T. General considerations regarding the in vitro and in vivo properties of block copolymer micelle products and their evaluation. *J Control Release* 210: 76-83, 2015 (政策提言関連)

(政策提言 (寄与した指針等))

Sakai-Kato K, Nishiyama N, Kozaki M, Nakanish T, Matsuda Y, Hirano M, Hanada H, Hisada S, Onodera H, Harashima H, Matsumura Y, Kataoka K, Goda Y, Okuda H, Kawanishi T. General considerations regarding the in vitro and in vivo properties of block copolymer micelle products and their evaluation. *J Control Release* 210: 76-83, 2015 (政策提言関連)