

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2014～2016

課題番号：26430180

研究課題名（和文）難治性乳がんに対する抗体医薬の開発を目指したEphA10の機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of a novel breast cancer related protein: EphA10 for development of anti-EphA10 antibody drugs in refractory breast cancer cases

研究代表者

長野 一也（NAGANO, Kazuya）

大阪大学・薬学研究科・准教授

研究者番号：40548301

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、新規乳癌関連蛋白質として同定したEphA10に対する抗体医薬の開発を目指し、その機能を明らかにし、抗腫瘍効果機序と起こりうる副作用の解析を目的とした。本観点から、まず、乳癌細胞におけるEphA10の役割を解析した。その結果、本受容体はがん細胞を増殖される機能を有しており、独自に樹立した抗EphA10抗体は、CDC活性や中和活性により抗腫瘍効果を発揮していることが推定された。また、正常組織におけるEphA10の機能を解析したところ、交配能力に影響を与えないものの、精巣重量やテストステロン量を低下させる可能性を提示した。さらに、臨床応用に向けて、ヒト抗体候補を取得することができた。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this research is to reveal the EphA10 function in both breast cancer tissues and normal tissues, for development of an anti-EphA10 antibody drug in refractory breast cancer cases. The function analysis of EphA10 in breast cancer cells showed that EphA10 promoted breast cancer cell proliferation, suggesting that Clone: LBR inhibited tumor growth by CDC or neutralizing activity. On the other hand, the function analysis of EphA10 in testis tissues showed that EphA10 might inhibit the tissue growth and testosterone secretion. Furthermore, we could successfully isolate human anti-EphA10 monoclonal antibody candidates for clinical trials. Consequently, we hope that the findings contribute to the development of effective and safe antibody drugs.

研究分野：動態学

キーワード：Eph receptor A10 抗体療法 アカデミア創薬

1. 研究開始当初の背景

Triple Negative 乳癌(TNBC)は、ホルモン療法と抗 Her2 抗体療法の標的であるエストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、Her2 の発現が全て陰性で、これら有効な治療法を適用できない難治性症例である。そのため、TNBC は、乳癌の中でも予後が悪く、新たな創薬標的と、それに対する有効で安全な治療法の開発が求められている。その点、我々はこれまで、独自の創薬標的蛋白質の探索法「抗体プロテオミクス技術」を活用し、正常乳腺組織には発現せず、乳癌組織に高率に発現する EphA10 を世界に先駆けて同定してきた。

EphA10 が属する Eph ファミリーは、癌細胞の増殖や浸潤などに関与することが報告されており、癌の創薬標的として注目されている。一方で、EphA10 に関しては、精巢に mRNA レベルで発現していることくらいしか報告されておらず、新規性に富んだ受容体である。

本観点から我々は、EphA10 の創薬標的としての可能性を検証すべく、ヒト組織での発現分布を解析してきた。その結果、EphA10 は、TNBC 症例にも高発現しているうえ、正常組織では精巢にしか発現が認められず、女性が多くを占める乳癌にとって、有望な標的であることが示唆された。また、EphA10 に対して樹立した抗体は、担癌モデルマウスの癌組織の増殖を有意に抑制したことから、新規抗体医薬の開発に繋がる可能性が示された。

今後、本抗体を、有効で安全な抗体医薬として開発していくためには、治療効果のメカニズムや正常組織に対する影響を明らかにすることが必須と言える。しかし、機能が未知の EphA10 に対しては、本抗体の作用機序はもとより、起こりうる副作用を予測し、回避策を講じることもできない。さらに、EphA10 の機能を明らかにすることができれば、単に、抗体の結合力や ADCC/CDC 活性の向上のみならず、新たな作用点に対する抗体フォーマットも設計でき、これらを比較することで、実用化に適う最適な抗体シーズが創製できるものと考えられ、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、有効で安全な抗体医薬の開発に必須の「作用機序」と「起こりうる副作用」を解析すべく、EphA10 の癌/正常組織における機能の解明を目的とする。さらに、それら知見に基づき、新規抗体フォーマットを設計・比較評価することで、難治性乳癌に対して最適な抗体シーズの創製を目指す。

3. 研究の方法

3-1. 乳がん細胞における EphA10 の機能解析

ヒト EphA10 安定発現乳がん細胞株の作製

EphA10 低発現の MDA-MB-435 (ATCC) に、ヒト EphA10 を組込んだレンチウイルスベクター (Bsd 耐性) を 100 MOI で添加した。24 時間後に、Bsd (Life Technologies) 含有培地で 1 週間培養することで、Bsd 耐性細胞を選択した。FACS Aria (BD Biosciences) で、EphA10 陽性細胞を単離することで、安定発現細胞 (MDA-MB-435^{EphA10}) を樹立した。

蛍光細胞染色

両細胞を 8-well chamber slide に 1×10^4 cells/well で播種し、一晚培養した。洗浄後、4%PFA を添加し、室温で 10 分間固定した。洗浄後、5%FCS を添加し、室温で 30 分間ブロッキングした。抗 EphA10 抗体と Isotype Control 抗体をで添加し、1 時間作用させた。3 度洗浄後、2 次抗体として Alexa Fluor 488 標識抗マウス IgG 抗体を添加し、1 時間作用させた。蛍光像は、共焦点レーザー顕微鏡観察により取得した。

細胞増殖性試験 (BrdU 取り込み試験)

5×10^4 cells/mL に調整した各細胞を、96 well プレートに $100 \mu\text{L}/\text{well}$ で播種し、一晚静置した。その後、FCS を含まない培地に交換し、24 時間飢餓条件で培養した。終濃度 0.25、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように希釈したヒト EphrinA3-、ヒト EphrinA4-、ヒト EphrinA5-Fc Chimera (R&D Systems) を添加し、37°C、CO₂ 存在下で 12 時間反応させた。細胞増殖は、Cell Proliferation ELISA, BrdU (Roche Applied Science) を用いて評価した。

組織マイクロアレイ (TMA) の免疫組織化学染色

Breast cancer mid-density tissue array (US Biomax Inc) に対し、EphrinA3, EphrinA4, EphrinA5 に対する 1 次抗体としてそれぞれ、抗ヒト EphrinA3 抗体、抗ヒト EphrinA4 抗体、抗ヒト EphrinA5 抗体 (いずれも Abcam) を用いて、ENVISION+ System (DAKO) にて染色・解析した。

細胞増殖性試験 (WST-8 試験)

MDA-MB-435^{EphA10} と MDA-MB-435 をそれぞれ、高密度条件下 (5×10^5 cells/mL) と低密度条件下 (2.5×10^4 cells/mL) で 96 well プレートに $100 \mu\text{L}/\text{well}$ で播種した。4 日後、WST-8 試験により、各条件での MDA-MB-435 に対する MDA-MB-435^{EphA10} の増殖活性を比較した。

3-2. 正常組織における EphA10 の機能解析

EphA10 のノックアウト (KO) マウスの構築

EphA10 の KO マウスは、大阪府立成人病センター研究所・三好 淳先生、岡本三紀先生に依頼し、マウス EphA10 の ATG を含む第一 exon に対して、ネオマイシン耐性遺伝子を含んだターゲティングベクターで相同組み換えすることによって作製した。

精巢重量の測定とテストステロン量の定量

野生型マウスと KO マウスを飼育し、それぞれ 10 週、20 週、27 週のときに解剖し、精巢を摘出した。1 個体あたり 2 個の精巢の合計重量で比較解析した。

また、テストステロン量は、マウスから心臓採血によって、血液を採取し、Testosterone ELISA Kit (Cayman Chemical) にて、定量した。

3-3. 抗 EphA10 モノクローナル抗体 (Clone: LBR) の薬効機序の解析

Clone: LBR の調製

Clone: LBR は、以下の方法で腹水より調整した。まず、プリスタン (Wako) を Balb/c nu/nu マウス (日本 SLC、雌性、6 週齢) に 500 μ L/mouse で腹腔内投与した。その 1 週間後、Clone: LBR のハイブリドーマを 1 x 10⁶ cells/mouse に調整し、上記マウスの腹腔内に投与した。経時的に腹水を回収した。

Clone: LBR の EphA10 に対する結合力評価

ヒト EphA10-Fc Chimera (R&D Systems) をセンサーチップ CM5 (GE healthcare) 上に、Amine Coupling Kit (GE healthcare) を用いて、固相した。Clone: LBR は、HBS-EP buffer で 400 nM に調製したサンプルを、2 倍ずつ 5 段階に希釈 (400, 200, 100, 50, 25 nM) し、薄いサンプルから順次、Biacore 3000 (GE healthcare) により計測した。各速度論的パラメーターは、測定された各濃度の結合-解離曲線にマルチサイクルカイネティクス解析プログラム中の Bivalent analyte モデルをフィッティングさせて算出した。

Clone: LBR の補体依存性細胞傷害 (CDC) 評価

MDA-MB-435^{EphA10} を 2 x 10⁴ cells/well で、96 well culture プレートに播種し、一晩培養した。培養液を除去後、Clone: LBR と Isotype Control 抗体をそれぞれ終濃度 2, 10 μ g/mL で添加した。さらに、補体成分として、マウス血清を添加し、24 時間作用させた。各群の細胞傷害活性は、WST-8 試験により評価した。

Clone: LBR の中和活性評価

5 x 10⁴ cells/mL に調製した MDA-MB-435^{EphA10} と MDA-MB-436 をそれぞれ、96 well culture プレートに 100 μ L/well で播種し、一晩培養した。翌日、FCS を含まない培地に置換し、24 時間飢餓条件で培養した。終濃度 4 μ g/mL で調製したヒト EphrinA3-、ヒト EphrinA4-、ヒト EphrinA5-Fc Chimera (R&D Systems) と、終濃度 20 μ g/mL になるように調製した Clone: LBR を添加し、37°C、CO₂ 存在下で 12 時間反応させた。細胞増殖阻害活性は、上記の「細胞増殖性試験」に準じ、Cell Proliferation ELISA, BrdU (Roche Applied Science) を用いて評価した。

3-4. ヒト抗 EphA10 抗体の創製に向けたファージヒト抗体ライブラリの活用

パンニング

EphA10-Fc をイムノチューブ (Thermo SCIENTIFIC) に添加し、室温で 12 時間静置した。2% スキムミルクを添加し、室温で 2 時間ブロッキングした。ファージヒト抗体ライブラリを添加して、室温で 30 分間反応させた。洗浄後、100 mM triethylamine を添加して、5 分間転倒混和し、ファージ溶液を回収した。ファージは予め OD₆₀₀=0.4[~]0.5 まで培養しておいた大腸菌 TG1 株に 37°C で 30 分間感染させた。ファージが感染した大腸菌 TG1 株の一部を使用して、タイターを測定した。残り的大腸菌 TG1 株は、2YT 培地で再懸濁した。

可溶性 scFv の発現

パンニング後に回収したファージを大腸菌 TG1 株に感染させ、生じたコロニーを 96 well deep プレートにピックアップし、1000 rpm、37°C で 2 時間培養した。5 mM IPTG を添加して、1000 rpm、30°C で 12 時間培養して、1800 x g、10 分で遠心し、上清を回収した。

ELISA によるスクリーニング

96 well プレートに 10 μ l/ml に調製した EphA10-Fc と Fc を添加し、室温で 12 時間静置した。PBS で洗浄後、4% スキムミルクを添加し、室温で 2 時間静置した。ブロッキング後、Anti-FLAG M2 (SIGMA-ALDRICH) と可溶性 scFv をそれぞれ添加し、室温で 2 時間静置した。洗浄後、Goat Anti-mouse IgG-HRP conjugated (Abcam) を添加し、室温で 1 時間静置した。再度、洗浄後、TMB+Substrate- chromogen (Dako) 100 μ l 添加し、室温で静置した。

4. 研究成果

4-1. 乳がん細胞における EphA10 の機能解析 EphA10 高発現/低発現細胞ペアの樹立

Eph receptor ファミリーは、受容体間でリガンド (Ephrin ファミリー) を共有していることが知られている。そのため、EphA10 を介した作用を効率良く解析するためには、EphA10 以外の Eph receptor ファミリーの発現が低く、EphA10 の発現レベルに差のある細胞ペアに対して、リガンドの作用を比較することが望まれる。そこで、EphA10 のがん細胞の増殖に及ぼす影響を解析するにあたって、まず、これら細胞ペアの樹立を試みた。

EphA10 と他の Eph receptor ファミリーが共に低発現の MDA-MB-435 に対して、ヒト EphA10 をコードしたレンチウイルスを感染させ、MDA-MB-435^{EphA10} を樹立した。そこで、これら細胞における EphA10 の発現を免疫細胞染色法により評価した結果、MDA-MB-435^{EphA10} 細胞は、親株と比較して、EphA10 の発現が亢進していることが示され、EphA10 を介した作用の評価に適した細胞ペアであることが示唆された。

がん細胞の増殖に与える影響解析

乳がん細胞における EphA10 の機能を明らかにするため、他の Eph receptor ファミリーの機能としても知られるがん細胞の増殖に着目した。本解析に際し、EphA10 に対する結合因子として知られていた EphrinA3, EphrinA4, EphrinA5 を、上記で樹立した両細胞に添加し、BrdU の取込み量を比較した。その結果、いずれの Ephrin を添加しても、MDA-MB-435^{EphA10} の細胞増殖活性は濃度依存的に有意に促進された。一方で親株では、BrdU の取込みに殆ど違いは認められなかった。このことから、EphA10 は、EphrinA3, A4, A5 の刺激依存的にがん細胞を増殖させる機能を有していることが示された。

乳がん組織でのリガンドの発現分布解析

EphA10 のリガンドであることが明らかとなった EphrinA3-A5 は、Ephrin A ファミリーに属し、Eph receptor ファミリーと同様に、種々のがん組織で発現亢進していることが報告されている。そこで、EphA10 とリガンドとの相互作用機構を明らかにすることを目指し、乳がん組織における EphA10 と EphrinA3, A4, A5 の発現分布などを評価した。

乳がん組織における EphA10 と各リガンドの発現を比較解析するため、同一ロットの TMA を免疫染色した。その結果、乳がん組織

には、EphA10 に加え、EphrinA3, A4, A5 のいずれも発現していた。さらに興味深いことに、これら症例の EphA10 とリガンドの発現分布が類似していたことから、EphA10 とリガンドががん細胞に共発現していることが示唆され、がん細胞上で相互作用していることが考えられた。

がん細胞同士の相互作用による増殖活性

上記から、EphA10 とリガンドは、がん細胞膜上で相互作用することでその増殖を促進していることが推察された。そこで、本仮説を検証するため、EphrinA3, A4, A5 が共に発現している MDA-MB-435^{EphA10} と親株を利用して、細胞上に発現している EphA10 とリガンドを相互作用させた際の細胞増殖に与える影響を解析した。

両細胞をそれぞれ、細胞間で相互作用がおきやすい高密度条件下と相互作用がおきにくい低密度条件下で播種した。4 日後、WST-8 試験により、各条件での親株に対する MDA-MB-435^{EphA10} の増殖活性を比較した。その結果、低密度条件下では、両細胞の増殖性に違いは認められなかった。一方で、高密度条件下では、MDA-MB-435 に比較して、MDA-MB-435^{EphA10} の増殖性が有意に亢進していることが示された。これにより、EphA10 とリガンドは、細胞膜上で相互作用することで細胞を増殖させることが示唆された。

4-2. 正常組織における EphA10 の機能解析

EphA10 のノックアウト (KO) マウスの構築

正常組織における EphA10 の機能を明らかにするため、大阪府立成人病センター研究所・分子生物学部門・三好 淳先生、岡本三紀先生に EphA10 の KO マウスを作製いただき、観察した。その結果、外見上、野生型マウスと同じように成育し、自然交配することを明らかにした。

EphA10 の KO マウスの精巣に着目した解析

EphA10 は、正常組織の中で、mRNA・蛋白質レベルの双方で精巣に発現していることを確認している。そこで、精巣に着目して解析した。経時的 (10、20、27 週) に KO マウスと野生型マウスの精巣重量を測定したところ、週令が進むごとに、野生型マウスの精巣と比較して KO マウスの精巣の重量が低下し、27 週において有意な違いが認められた。また、精巣のライディッチ細胞から分泌されるテストステロン量を比較したところ、野生型マウスと比較して、テストステロン量が減少傾向にあることを見出した。

以上、EphA10 の KO マウスでは交配能力は有しているものの、精巣重量とテストステロン量が低下する傾向があることから、男性乳がんなどに対して慎重な検討が必要なことが示された。

4-3. 抗 EphA10 モノクローナル抗体 (Clone: LBR) の薬効機序の解析

Clone: LBR の結合能力評価

これまでに Clone: LBR を担癌モデルマウスに投与したところ、がん細胞の増殖が有意に抑制したことから、新規抗体医薬の開発に繋がる可能性を示しているものの、その機序は明らかでない。そこで、Clone: LBR の特性として結合能力を解析したうえで、EphA10 発現がん細胞への影響を評価するため、CDC 活性と中和活性を解析した。

始めに、Clone: LBR の結合能力を評価するため、SPR 法により結合速度定数を算出した。EphA10-Fc 上に、各濃度の Clone: LBR を添加し、それぞれの結合・解離曲線から平衡解離定数 (KD) を算出した結果、Clone: LBR の KD は、1.9 nM であった。Her2 に対する抗体医薬や VEGF に対する抗体医薬の KD がそれぞれ、1-5 nM、1 nM であることが報告されていることから、既存の抗体医薬と同等の結合活性を有していることが示された。

Clone: LBR の CDC 活性評価

EphA10 が発現するがん細胞に対する傷害活性を評価する一環として、CDC 活性を解析した。MDA-MB-435^{EphA10} に Clone: LBR とコントロール抗体を添加した。ここに、補体を含むマウス血清を作用させ、24 時間後の細胞傷害活性を評価した。その結果、コントロール抗体添加群と比較して、Clone: LBR 添加群で、細胞傷害性が有意に高いことが示された。また、この作用は、Clone: LBR 単独添加群と比較しても有意であったことから、Clone: LBR は、CDC 活性により EphA10 発現細胞を殺傷する作用を有していることが示された。

Clone: LBR の中和活性評価

最後に、Clone: LBR の中和活性を検証するため、リガンド刺激依存的な細胞増殖作用に対する阻害活性を評価した。その結果、MDA-MB-435^{EphA10} 細胞や EphA10 を内在的に発現する MDA-MB-436 細胞に、各リガンドを添加することによって誘導された細胞増殖活性は、Clone: LBR との共添加によりいずれも有意に抑制された。また、Clone: LBR 単独添加群では、細胞増殖活性に影響を与えなかったことから、Clone: LBR は中和抗体であることが示唆された。

以上、Clone: LBR は、EphA10 が有するがん細胞の増殖活性を抑制し、EphA10 発現細胞を傷害することで抗腫瘍効果が発揮されたことが示唆された。

4-4. ヒト抗 EphA10 抗体の創製に向けたファージヒト抗体ライブラリの活用

Clone: LBR は、マウス抗体のため、免疫原性に伴う効果の減弱や副作用が想定される。そのため、臨床応用に向けては、ヒト抗体を創製する必要がある。その点、当研究室はこれまで、ヒト抗体を鋳型に、抗原特異性に重要な CDR3 をランダムライズしたファージヒト抗体ライブラリを構築し、様々な抗原蛋白質に対してヒト抗体の創製を図ってきた。そこで、本ライブラリから EphA10 に対するヒト抗体の単離を試みた。EphA10-Fc にファージヒト抗体ライブラリを添加し、結合するクローンを回収した。これらファージを大腸菌に感染・増幅させ、一連のパンニングを 3 回繰り返した。その結果、パンニングを繰り返すにしたがって、回収されるファージ数は増加 (1st: 1 x 10⁵, 2nd: 5 x 10⁶, 3rd: 1 x 10⁹ CFU) し、EphA10 に対する抗体が濃縮された。そこで、3rd パンニング後のファージをモノクローン化し、その結合性を評価した。その結果、Fc には結合せず、EphA10 に対して特異的に結合性を示す 9 クローンを見出すことに成功した。今後、配列や結合能力など詳細な検討によって、その特性を明らかにする予定である。

4-5. まとめ

本研究では、難治性乳がんに対する抗体医薬の開発を目指し、EphA10 の機能を解析した。まず、乳がん細胞における EphA10 の役割を解析した結果、EphA10 はがん細胞を増殖される機能を有しており、Clone: LBR は、CDC 活性や中和活性により抗腫瘍効果を発揮していることが推定された。また、正常組織における EphA10 の機能を解析したところ、交配能力は影響を与えないものの、精巣重量やテストステロン量を低下させる可能性を提示した。さらに、臨床応用に向けて、ヒト抗体候補を取得することができた。今後、これらの知見がもとになって、有効で安全な抗体医薬の開発に繋がることを期待する。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件 (全て査読あり))

1. **Nagano K**: Challenge to the development of molecular targeted therapy against a novel target candidate identified by antibody proteomics technology, *Yakugaku Zasshi*, 136(2):145-149, 2016.
DOI : 10.1248/yakushi.15-00226-1
2. **Nagano K**, Tsutsumi Y: Development of novel drug delivery systems using phage display technology for clinical application of protein drugs, *Proceedings of the Japan Academy, Ser. B.*, 92(5):156-166, 2016.
DOI : 10.2183/pjab.92.156.

3. Taki S, Kamada H, Inoue M, **Nagano K**, Mukai Y, Higashisaka K, Yoshioka Y, Tsutsumi Y, Tsunoda S: A novel bispecific antibody against human CD3 and Ephrin receptor A10 for breast cancer therapy, *PLOS ONE*, 10(12):e0144712, 2015. DOI : 0.1016/j.bbrc.2014.12.030.
 4. Kamada H, Taki S, **Nagano K**, Inoue M, Ando D, Mukai Y, Higashisaka K, Yoshioka Y, Tsutsumi Y, Tsunoda S: Generation and characterization of a bispecific Diabody targeting EPH receptor A10 and CD3, *BBRC*, 456(4):908-12, 2015. DOI : 10.1371/journal.pone.0144712
 5. **Nagano K**, Yamashita T, Inoue M, Higashisaka K, Yoshioka Y, Abe Y, Mukai Y, Kamada H, Tsutsumi Y, Tsunoda S: Eph receptor A10 has a potential as a target for a prostate cancer therapy, *BBRC*, 450(1):545-9, 2014. DOI : 10.1016/j.bbrc.2014.06.007
 6. **Nagano K**, Maeda Y, Kanasaki S, Watanabe T, Yamashita T, Inoue M., Higashisaka K, Yoshioka Y, Abe Y, Mukai Y, Kamada H, Tsutsumi Y, Tsunoda S: Ephrin receptor A10 is a promising drug target potentially useful for breast cancers including triple negative breast cancers, *J. Control Release*, 189:72-9, 2014. DOI : 10.1016/j.jconrel.2014.06.010.
- [学会発表] (計 13 件)
1. **長野一也**: がんターゲティング療法に資する、創薬ターゲットの探索とその応用, 日本薬学会第 137 年会, 仙台(宮城), 2017 年 3 月.
 2. **長野一也**: 疾患マーカー・治療標的蛋白質の効率的探索基盤の開発と創薬への展開, 日本薬学会第 137 年会, 仙台(宮城), 2017 年 3 月.
 3. **Nagano K**: Design of effective and safe antibody drugs, The seminar at Institute of Pharmaceutics, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Univ, Hangzhou(China), July 2016.
 4. **長野一也**, 角田慎一, 堤 康央: 分子標的治療薬の開発を目指したがんターゲティング分子の探索基盤の確立と評価, 第 32 回日本 DDS 学会, 静岡(静岡), 2016 年 6 月.
 5. **Nagano K**: Design of effective and safe antibody drugs and biologics, The ceremony presentation at College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Univ, Hangzhou (China), Oct 2015.
 6. 森 宣瑛, **長野一也**, 角田慎一, 堤 康央: 新規乳がん関連蛋白質 Eph receptor A10 の治療標的としての有用性評価, 平成 27 年度がん若手研究者ワークショップ, 茅野(長野), 2015 年 9 月.
 7. **Nagano K**, Maeda Y, Yamashita T, Inoue M, Mukai Y, Kamada H, Higashisaka K, Yoshioka Y, Tsutsumi Y, Tsunoda S: Development and evaluation of a monoclonal antibody against Eph receptor A10 for novel molecular targeted therapy of breast cancers, *Controlled Release Society Annual Meeting 2015*, Edinburgh (Scotland), 26-29 July, 2015.
 8. **長野一也**, 森 宣瑛, 永野貴士, 向井美穂, 大須賀絵理, 竹谷苑子, 芳賀優弥, 井阪亮, 鎌田春彦, 角田慎一, 堤 康央: 乳がん関連たんぱく質 EphA10 の各種がんでの発現分布の解析, 日本薬学会第 136 年会, 横浜(神奈川), 2016 年 3 月.
 9. 鎌田春彦, 瀧慎太郎, **長野一也**, 井上雅己, 堤 康央, 角田慎一: 難治性乳がんの治療に資する二重特異性抗体 (EphA10/CD3) の作製とその効果, 日本薬学会第 136 年会, 横浜(神奈川), 2016 年 3 月.
 10. **長野一也**: 抗体プロテオミクス技術による新規治療標的候補の同定と分子標的治療薬開発への挑戦, 日本薬学会第 135 年会, 神戸(兵庫), 2015 年 3 月.
 11. **Nagano K**, Yamashita T, Abe Y, Mukai Y., Kamada H, Yoshioka Y, Tsutsumi Y, Tsunoda S: Anti-tumor effect and bio distribution analysis of anti-EphA10 monoclonal antibody in breast cancer xenograft model, 第 73 回日本癌学会, 横浜(神奈川), 2014 年 9 月.
 12. 瀧慎太郎, 鎌田春彦, 長野一也, 向 洋平, 堤 康央, 角田慎一: 抗腫瘍活性の向上にむけた Bispecific 抗体の最適化, 第 13 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム 4, 富山(富山), 2014 年 9 月.
 13. 瀧慎太郎, 鎌田春彦, 井上雅己, **長野一也**, 向 洋平, 堤 康央, 角田慎一: 難治性乳がんをターゲットとする新規 Bispecific 抗体 (EphA10/CD3) の創製, 第 18 回日本がん分子標的治療学会学術集会, 仙台(宮城), 2014 年 6 月.
- [図書] (計 0 件)
- [産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)
○取得状況 (計 0 件)
- [その他] ホームページ等
- ## 6. 研究組織
- (1) 研究代表者
長野 一也 (NAGANO Kazuya)
大阪大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号: 40548301
- (2) 研究分担者: なし
- (3) 連携研究者: なし
- (4) 研究協力者
角田 慎一 (TSUNODA Shin-ichi)
鎌田 春彦 (KAMADA Haruhiko)
三好 淳 (MIYOSHI Jun)
岡本 三紀 (OKAMOTO Miki)
西澤 恭子 (NISHIZAWA Kyoko)
松田潤一郎 (MATSUDA Jun-ichiro)
向 洋平 (MUKAI Yohei)
堤 康央 (TSUTSUMI Yasuo)
吉岡 靖雄 (YOSHIOKA Yasuo)