

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592353

研究課題名(和文)ファージディスプレイ法より前立腺癌の癌特異抗原に対し単離した完全ヒト型抗体の研究

研究課題名(英文)Functional analysis of isolated specific antibody to prostate cancer specific antigen using phage-display method

研究代表者

白木 良一(Shiroki, Ryoichi)

藤田保健衛生大学・医学部・教授

研究者番号：70226330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：藤田保健衛生大学総合医科学研究所抗体プロジェクトではヒト数十人の扁桃、骨髄、末梢血、臍帯血などからBリンパ球を抽出し、ヒトファージ抗体ライブラリー(AIMS5)を樹立した。この抗体ライブラリーからファージ・ディスプレイ法を用い、ICOS法(J Immunol Methods. 351:1-12, 2009)によりPSMA(前立腺膜特異抗原)に対する抗体(75-10)を単離した。このPSMA抗体(75-10)は樹立細胞株並びに臨床検体に於いて前立腺癌組織に対する特異的な反応性(膜特異的な染色性)とin vitroにおける癌細胞増殖抑制機能等を認めた。

研究成果の概要(英文)：In Antibody project in Comprehensive Research Institute of Fujita Health University, Human phage antibody library; AIMS5 library, was established using human extracted B lymphocyte from the almond of dozens of people, marrow, peripheral blood, umbilical cord blood. Applying the phage-display method, specific antibody to PSMA, prostate specific membrane antibody, (75-10) was isolated from this library using ICOS method, J Immunol Methods. 351:1-12, 2009. Specific antibody to PSMA (75-10) was demonstrated to show the specific prostate membrane-specific reactivity to prostate cancer tissue (the specific stainability to cell surface membrane) and an in vitro cancer cytotoxicity in cultured and a clinical specimen of the prostate cancer.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：前立腺癌 前立腺膜特異的抗原(PSMA) 癌特異的抗原 抗体

1. 研究開始当初の背景

急速に高齢化が進行している本邦において、前立腺癌は著明に増加している癌腫の1つであり、2020年には年間約8万人が罹患し、2万人余り(2000年の2.8倍)が死亡するとの試算もある。前立腺癌に対する局所治療として手術および放射線治療は確立されているものの、高齢者に罹患率が高いため適応とならない場合も多い。全身治療としてのホルモン療法も長期化すると有効性が消失することは確実であり、他にも骨粗鬆症や男性更年期障害、心血管障害などの不可逆的な合併症を誘発するため、他の有効かつ副作用の少ない治療オプションの開発は急務と考えられる。前立腺癌の進行は比較的緩徐であり、高齢者に罹患率が高いことより手術などの過激な治療法の適応とならない症例またはホルモン療法が不応性となった場合には比較的副作用の少ない免疫療法による治療が期待される。2011年、前立腺癌に対するワクチン治療薬としてプロベンジ(Sipuleucel-T)がホルモン不応性前立腺癌に対し全生存期間の延長を認め(N Engl J Med 2010;363:411-22.)世界で初めて米国FDAにも承認されたがん治療ワクチンとなった。このように、免疫療法がホルモン不応性前立腺癌に対する新しい治療のトレンドになることは十分に期待できる。抗体による免疫療法が前立腺癌に対する治療として確立される可能性は十分に期待できる。

2. 研究の目的

藤田保健衛生大学総合医科学研究所抗体プロジェクトではヒト数十人の扁桃、骨髄、末梢血、臍帯血などからBリンパ球を抽出し、ヒトファージ抗体ライブラリー(AIMS5)を樹立した。この抗体ライブラリーからファージ・ディスプレイ法を用い、前立腺癌の癌特異抗原に対し特異的抗体を単離する。そして、前立腺癌の樹立細胞株、臨床検体等を用いたin vitro, in vivoにおける生物学的活性を評価する。将来の臨床応用に向けその機能並びに活性を解析することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

私共は本学総医研との共同研究により、10億種以上の抗体産製能を有するファージディスプレイを用い、ヒト前立腺癌樹立細胞株(PC3およびLNCaP)をICOS法によるスクリーニングを施行し5種類の抗体を新たに単離した。これらに加え、現在までに認識抗原が同定されている29種類の単離抗体のうち、前立腺癌に比較的特異的発現が予想される抗原、PSMA、トランスフェリンR(TfR)、12、CD57に対する抗体を用い、ヒト前立腺癌

の臨床検体の癌組織に対する染色性を検討した。

4. 研究成果

AIMSライブラリーより前立腺上皮細胞の構造蛋白であるProstate specific membrane antigen(PSMA;前立腺特異的膜抗原)を用い、特異的抗体を単離した。これは本ファージディスプレイ法が未知の抗原だけでなく、より純化した既知の癌特異抗原の単離に対しても効果を発揮した初めての例である。これを既に抗原決定されている抗体(15種類)と併せて前立腺癌組織20例、良性前立腺組織20例に免疫組織染色を行った。良性前立腺組織ではMCP、ALCAMが95%、JAM-1は80%の症例で陽性であったのに対してPSMA陽性率は5%であった。一方、前立腺癌組織ではALCAMが全例で膜陽性を示し、PSMAは95%、EpCAM、MCPは70%が膜陽性であった。以上より、今回単離に成功した抗PSMA抗体のみ癌特異的染色性が確認され前立腺癌組織診断において有用な抗体であると考えられた。そして、このPSMA抗体は前立腺癌細胞株であるLNCaPに対しin vitroにおいて特異的な細胞増殖抑制機能等を認めた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計6件)

1. Kurosawa G, Sumitomo M, Ukai Y, Subera J, Muramatsu C, Eguchi K, Tanaka-Hashiba M, Sugiura M, Ando M, Morita M, Inaba K, Morigaki S, Takasaki A, Miyakawa S, Uyama I, Maeda K, Shiroki R, Hoshinaga K, Mizoguchi Y, Hattori Y, Sugioka A, Sugiura M, Kurosawa Y. Selection and analysis of anti-cancer antibodies for cancer therapy obtained from antibody phage library. Cancer Science 102, 175-181, 2011 査読(有)
2. Otsuki H, Kuwahara Y, Kosaka T, Tsukamoto T, Nakamura K, Shiroki R, Hoshinaga K. Transurethral resection in saline vaporization: Evaluation of clinical efficacy and prostate volume. Urology Vol.79, No.3, 665-669, 2011 査読(有)
3. Otsuki H, Kuwahara Y, Tsukamoto T, Nakamura K, Shiroki R, Hoshinaga K. Photoselective vaporization of the prostate: pursuing good indications based on the results of 400 Japanese patients.

BJU International Volume Vol.109 , No.6
 , 874-879 , 2011 査読 (有)

4. Kusaka M , Iwamatsu F , Kuriyanagi Y , Nakaya M , Ichino M , Marubashi S , Nagano H , Shiroki R , Kurahashi H , Hoshinaga K. Serum neutrophil gelatinase associated lipocalin during the early postoperative period predicts the recovery of graft function after kidney transplantation from donors after cardiac death. J Urol 187 , 2261-2267 , 2012 , 査読 (有)
5. 石川清仁、丸山高広、日下守、白木良二、星長清隆 ホルミウムレーザー前立腺核出術 (HoLEP) の周術期抗菌薬予防投与の現状とアンケート調査の結果について 泌尿器科紀要57巻10号、539-543、2011 査読 (有)
6. 白木良一、丸山高広、石瀬仁司、日下守、森川高光、深谷孝介、深見直彦、佐々木ひと美、石川清仁、星長清隆 ロボット支援前立腺全摘除術の導入と手術手技—リンパ節郭清を中心に 日本泌尿器内視鏡学会雑誌25巻2号、230-236、2012 査読 (有)

[学会発表](計 7 件)

1. Shiroki R. Joint session of the European association of urology(EAU) and the Japanese urological association robot assisted radical prostatectomy 28th Annual EAU Congress. Milan, Italy, 2013
2. Shiroki R , Maruyama T , Kusaka M , Hoshinaga K. Nerve-sparing procedure impacts on early recovery of postoperative urinary continence in patients treated with total urinary reconstruction technique in Robot-Assisted Radical Prostatectomy. 32nd Congress of the Societe International Urologie. Fukuoka, Japan 2012
3. Hikichi M , Shiroki R , Kurosawa G , Akahori Y , Hoshinaga K , Kurosawa Y. Isolation of anti PSMA antibody and screening for antigens overexpressed on prostate cancer using anticancer antibodies obtained from antibody phage-display library. 33rd Congress of the Societe International Urology. Vancouver, Canada, 2013

4. Ishise H , Shiroki R , Fukaya K , Fukami N , Kusaka M , Hoshinaga K. Robot -assisted laparoscopic partial Nephrectomy for T1 renal tumor initial series at Fujita Health University. 30th Anniversary Korea-Japan Urological Congress. Seoul, Korea, 2013
5. 引地克、白木良一、河合昭浩、西野将、深谷孝介、彦坂和信、平野泰広、深見直彦、石瀬仁司、丸山高広、佐々木ひと美、日下守、石川清仁、星長清隆. 当院における去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) に対するDoxetaxel療法の長期成績. 第49回日本癌治療学会学術集会 . 名古屋 2011
6. 引地克、白木良一、西野将、河合昭浩、深谷孝介、彦坂和信、平野泰広、石瀬仁司、深見直彦、丸山高広、佐々木ひと美、日下守、石川清仁、星長清隆. 抗PSMA抗体を用いた前立腺癌臨床検体の発現プロファイル解析. 第61回日本泌尿器科学会中部総会 . 京都 2011
7. 引地克、白木良一、赤堀泰、黒澤仁、黒澤良和、星長清隆. 抗 PSMA 抗体と様々な癌特異抗原に対する抗体を用いた前立腺臨床検体における発現解析. 第 100 回日本泌尿器科学会総会 . 横浜 2012

[図書](計 0 件)

[産業財産権]
出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白木 良一 (SHIROKI, Ryoichi)

藤田保健衛生大学医学部教授

研究者番号：70226330

(2) 研究分担者

星長 清隆 (HOSHINAGA, Kiyotaka)

藤田保健衛生大学医学部教授

研究者番号：30229174

赤堀 泰 (AKAHORI, Yasushi)

三重大学医学系研究科産学官連携講座講師

研究者番号：80221711

(3) 連携研究者

()

研究者番号：