

# 高深度細胞表面タンパク質解析による新規膵臓がん治療標的分子の同定

愛知県がんセンター研究所

分子診断 TR 分野 研究員 小林 信

## 1. 研究の背景・目的

膵癌は悪性腫瘍の中でも特に予後不良で、早期診断に有効な血中バイオマーカーや新規治療標的の同定が望まれている。最近では多数症例の網羅的遺伝子解析から新規のドライバー変異が次々に同定され、がん種によってはコンパニオン診断と分子標的治療が一体となった個別化治療戦略が開発されて治療成績が大幅に向上しているが、膵癌では立ち遅れている。

細胞表面に局在するタンパク質を網羅的に同定する研究手法をサーフェスオーム解析 (Surface + ome) と呼ぶ。がん研究において細胞表面分子を標的とする利点は、1) 増殖や浸潤など悪性形質を規定する様々な細胞内シグナルの最上流に位置するものが多いこと、2) 薬剤の細胞膜透過性を考慮する必要がなくドラッグデリバリー戦略が立てやすいこと、3) 抗体薬物複合体やキメラ抗原受容体 T 細胞 (CAR-T) 療法を用いた治療法の開発に結びつくこと、4) 断片が血中で検出されやすく血清診断マーカーとして活用できることなどがある。実際にかんの治療標的として米国食品医薬品局が承認した分子標的治療薬のうち約 60% が細胞表面タンパク質を標的としている (Hu et al., *Nat Cancer*, 2021)。申請者は卵巣癌を対象としてサーフェスオーム解析を実施し、新規予後予測マーカー分子 Spondin-1 を同定することに成功した (Miyakawa et al., *J Ovarian Res*, 2023)。そこで本研究では、本法を悪性腫瘍の中でも特に予後が不良な膵癌に適用し、膵癌の余命延長に資する新規診断・治療標的候補分子を探索する。

本研究では、膵癌の表面タンパク質をサーフェスオーム解析で網羅的に同定し、そのうち機能未解明の分子について膵癌細胞での機能解析を達成すると共に、バイオマーカー及び治療標的としての有用性を検証することで、膵癌の生存率向上に寄与する新知見を得ることを目的とする。

## 2. 研究対象ならびに方法

研究対象は当分野で作製を継続している浸潤性膵管癌患者腫瘍移植モデルマウス由

来腫瘍細胞である。現在までに 153 症例を移植し 68 症例がマウスに生着した。このうち 43 例について、高分解能質量分析装置を用いてタンパク質の網羅的同定を実施した。実験方法は我々の報告 (Taguchi et al., *Cancer Cell*, 2011) に従った。まず細胞表面タンパク質を Sulfo-nhs-ss-biotin 試薬を用いてビオチン化した後にアビジンビーズを用いて濃縮し、還元アルキル化、トリプシン消化を行い、質量分析を施行した。同定された分子は The Cancer Genome Atlas、The human surfaceome atlas (Bausch-Fluck et al., *PNAS*, 2018)、Genotype tissues expression などのデータベースを融合した解析を行い、膜局在する分子のうち正常組織に発現しない治療標的分子ライブラリを作製した。

### 3. 研究結果

43 例の膵癌患者由来 PDX 組織より約 8,700 種類のタンパク質を同定した。The Cancer Genome Atlas、The human surfaceome atlas、Genotype tissues expression データベース等を活用し、正常組織において無発現～低発現である一方で膵癌組織における高発現するタンパク質を約 10 種に絞り込んだ。このうち膵癌における報告がなく新規性の高い分子 X について解析を進めた。

まず膵癌細胞株を用いたフローサイトメトリーにより分子 X の細胞表面発現を検討し、膵癌細胞株 CFPAC-1 の細胞表面における発現を見出した。次に CFPAC-1 細胞に対して抗分子 X 抗体と抗ウサギ IgG 抗体薬物複合体を処置したところ、抗分子 X 抗体は濃度依存的に殺細胞効果を認めた。さらに CFPAC-1 細胞を用いて分子 X に対する siRNA を処置したところ、細胞増殖を有意に抑制することが明らかとなった。以上より、我々の開発したサーフェスオーム解析により膵癌の新規バイオマーカーが獲得できること、さらに抗体を用いた免疫治療標的分子が獲得できることを示した。

### 4. 考察

本研究で見出した分子 X を標的とする抗体医薬品は膵癌の新規治療標的候補文となることが明らかとなった。今後は分子 X に対するモノクローナル抗体の樹立およびその抗体毒素結合体の作製を行い、抗体医薬品としての有用性を検証する。さらに膵癌細胞株を用いた担癌マウスモデル・PDX マウスモデルを用い、治療効果を検証する。

### 5. 文献

Taguchi A et al., *Cancer Cell*, 2011

### 6. 論文発表

なし