

2021年1月15日

論文審査要旨

主査 今村 保忠

論文題目： 非三重らせん状の VI 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖, NTH $\alpha 1(\text{VI})$, の研究

申請者： 佐藤学道（日本化薬株式会社医薬研究所）

本研究は、がんに対する有効な治療薬や治療法を開発する目的に対して、新しい生体成分が有効である可能性を提示したものである。

申請者が明らかにしたのは、コラーゲン分子を構成するポリペプチド鎖の 1 種が、コラーゲン分子とは別に細胞により生成されること、それが部分分解されることで癌細胞の増殖を促すことを指摘したことである。このポリペプチド鎖は、NTH(Non-Triple Helical collagen peptide)と称されるもので、申請者は VI 型コラーゲンの $\alpha 1$ 鎖をコードする遺伝子から、NTH $\alpha 1(\text{VI})$ が生成することを発見した。癌増殖活性を持つ NTH $\alpha 1(\text{VI})$ の部分分解断片を標的とした新しいがん治療法の可能性が論じられている。

申請論文は、4 章で構成されている。第 1 章では、序論として、がんに対する有効な治療薬や治療法を開発することが急務であることを指摘した。すなわち、がんの罹患率やがんで死亡する人は依然として多い。がん医療は、プレシジョンメディシンや免疫チェックポイント阻害剤など、目覚ましい進歩を遂げているにもかかわらず、これらの治療法に効果を示さない患者も一定数存在することから、さらなる治療薬の開発が望まれていることを指摘した。

次に、非三重らせん状のコラーゲンポリペプチド鎖 (NTH) の研究に関して、主要な論文を取り上げ、研究の現状を概括した。すなわち、非らせん状の IV 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖である NTH $\alpha 1(\text{IV})$ は、ヒト培養細胞やヒト組織中に存在すること、及び、ウサギ血管新生モデルにおいて新生血管の先端領域に存在することが示されている。さらに、申請者らの研究グループは、様々なヒトがん培養細胞株の上清において、NTH $\alpha 1(\text{IV})$ の発現を確認した。そこで、NTH $\alpha 1(\text{IV})$ は癌血管新生及び増殖に重要である、と仮説を立て、NTH $\alpha 1(\text{IV})$ を認識する抗体#141 を用いて NTH $\alpha 1(\text{IV})$ の研究を実施した。

申請者は、この研究の過程で、抗体#141 が NTH $\alpha 1(\text{IV})$ とは異なる分子 (140K) を認識することを明らかにし、140K の同定及び生物学的作用を解明することにより新たな創薬につながる可能性を述べている。コラーゲンを含む細胞外マトリックスは、その部分分解断片が生理活性を持つことが知られており、マトリクリプチンあるいはマトリカインなどと呼ばれているが、その由来については十分に議論されていない。申請者ら

2021年1月15日

は NTH がその生理的なソースである可能性を述べている。このようにして、申請者が発見した新たな非三重らせん状コラーゲン分子である NTH $\alpha 1$ (VI)の機能解析の重要性を論じた。

第 2 章では、NTH $\alpha 1$ (VI)の同定の経緯を述べた。すなわち、抗体#141 が認識する 140K の同定を行い、その結果、新たな非三重らせん状コラーゲンポリペプチドである NTH $\alpha 1$ (VI)を発見した。また、抗体#141 は、COL4A1 と COL6A1 に共通するエピトープ配列を認識すること、2つのエピトープに対し異なる親和性を示すことを明らかにした。さらに、この抗体は 3 本らせんを形成している VI 型コラーゲン分子に対しては親和性を示さず、3 本らせん構造が壊れて初めて認識することから、3 本らせん分子中のエピトープ部位には結合できない、コンフォメーションに依存した特性を持つことを示した。NTH $\alpha 1$ (VI)は、単に三重らせんを構成していないというだけでなく、糖鎖修飾に関しても、3 本らせん分子由来の VI 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖とは異なることを示した。以上の結果は、NTH $\alpha 1$ (VI)は VI 型コラーゲンとは生合成機構や生物学的機能が異なり、NTH $\alpha 1$ (VI)が新たな創薬標的分子となり得る可能性が示された。

第 3 章では、NTH $\alpha 1$ (VI)由来の 10 kDa 以下のペプチドが癌細胞株の増殖を促進する作用を有することを示した。すなわち、高転移性の膵臓癌由来 S2-VP10 細胞において、COL6A1 ノックダウンにより細胞増殖が抑制されることを見出した。さらに、この増殖抑制作用は、S2-VP10 細胞の馴化培地を添加することにより回復された。細胞増殖に関係するのは、精製 VI 型コラーゲン分子ではなく、馴化培地の NTH $\alpha 1$ (VI)でもなかった。馴化培地に含まれている NTH $\alpha 1$ (VI)由来の 10 kDa 未満のペプチドであると推定された。この作用の発現には、NTH $\alpha 1$ (VI)が部分分解されることが必要で、新たなマトリクリプチンであることを指摘するとともに、そのソースになることを示した。以上の結果から、NTH $\alpha 1$ (VI)の 10 kDa 未満のペプチドへの断片化が癌細胞増殖促進活性に必要であることが示された。

第 4 章は総合討論として、NTH $\alpha 1$ (VI)や NTH $\alpha 1$ (VI)由来ペプチドは、新たな診断マーカーや創薬標的として有用であると考えられるが、1) NTH $\alpha 1$ (VI)由来ペプチドの配列決定、2) NTH $\alpha 1$ (VI)由来ペプチドの作用機序、3) NTH $\alpha 1$ (VI)や NTH $\alpha 1$ (VI)由来ペプチドの産生機構の解明、4) 臨床検体での NTH $\alpha 1$ (VI)や NTH $\alpha 1$ (VI)由来ペプチドの発現確認を課題として挙げ、今後の研究の進むべき方向性を提示した。

以上、本論文は工学領域、特に遺伝子工学からがんの基礎医学への貢献として、一定の成果があると評価される。よって、本論文は、博士（工学）の学位請求論文として十分な価値があるものと認められる。

2021年1月7日

論文審査報告

東京大学名誉教授、瀋陽薬科大学客員教授

林 利彦



論文題目：非三重らせん状の VI 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖, NTH $\alpha 1(VI)$, の研究

申請者： 佐藤学道（日本化薬株式会社医薬研究所）

本研究は、癌に対する有効な治療法を開発する目的に対して、非三重らせん状の VI 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖, NTH $\alpha 1(VI)$ という新規の生体成分の機能の解明が重要であることを世界に先駆けて提示したものである。癌増殖活性を持つ NTH $\alpha 1(VI)$ の部分分解断片を標的とした新しい癌治療法の可能性が論じられている。

申請論文は、4章で構成されている。第1章では、序論として、既存の治療薬でカバーできていないがん治療法の問題点を指摘した。さらに、非三重らせん状のコラーゲンポリペプチド鎖 (NTH) の研究に関して、主要な論文を提示し、研究の現状を概括した。すなわち、NTH は IV 型コラーゲンを構成するポリペプチド NTH $\alpha 1(IV)$ において報告され、癌との関係が指摘された。コラーゲンを含む細胞外マトリックスは、その部分分解断片が生理活性を持つことが知られており、マトリクリプチンあるいはマトリカインなどと呼ばれている。その由来については十分に議論されていない。申請者らは NTH がその生理的なソースである可能性を述べている。このようにして、申請者が発見した新たな非三重らせん状コラーゲン分子である NTH $\alpha 1(VI)$ の機能解析の重要性を論じた。

第2章では、NTH $\alpha 1(VI)$ の同定の経緯を述べた。NTH $\alpha 1(VI)$ は、単に三重らせんを構成していないというだけでなく、糖鎖修飾に関しても、3本らせん分子由来の VI 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖とは異なることを示し、生理的機能を持つ可能性を指摘した。

第3章では、NTH $\alpha 1(VI)$ 由来の 10 kDa 以下のペプチドが癌細胞株の増殖を促進する作用を有することを示した。この作用の発現には、部分分解されることが必要で、新たなマトリクリプチンであることを指摘するとともに、そのソースになることを示した。

第4章では、今後の研究課題として、NTH $\alpha 1(VI)$ 由来ペプチドの配列決定、作用機序、産生機構の解明及び臨床検体での発現確認を挙げ、これらについて考察し、今後の研究の方向性を示した。

以上、本論文は細胞外マトリックスを構成する物質の遺伝子産物が生化学的、分子生物学的方法を主体に、断片化により、新たな機能を生じうることを VI 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖について、論じた世界で初めてのもので、新しい領域を開いた。よって、博士（工学）の学位に値する。

審査報告書

化学応用学専攻長 南雲紳史殿

論文題目： 非三重らせん状のVI型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖, NTH $\alpha 1$ (VI), の研究
申請者： 佐藤学道（日本化薬株式会社医薬研究所）

本研究は、癌に対する有効な治療薬や治療法開発における新規戦略の確立を目指してがん細胞の増殖制御に関与する新規分子を発見したものである。

基底膜の主成分である4型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖遺伝子から生合成され、細胞外に分泌され、新生血管先端部など組織中に沈着する三重螺旋構造をとらないNTH $\alpha 1$ （4）については既報があるが、このタンパクを抗原として新たにモノクローナル抗体を作成し、抗体アフィニティークロマトグラフィーにより新規ポリペプチドを精製した。この新規ポリペプチドのアミノ酸分析、アミノ酸配列の決定により、6型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖遺伝子由来であることを明らかにしたこと、このポリペプチド鎖を含む培養上清の検討から、これが部分分解されることで生成する分子量10万以下の画分に細胞培養系での癌細胞増殖促進能があることが明らかにされた。

しかし、その分画中の増殖促進因子の分子的詳細や生成機構の分子機構は未だ明らかになっておらず、また、臨床検体や担がん動物モデルを用いるなどの生体内挙動のエビデンスにやや乏しく、今後の研究の発展が大いに期待される。申請者はこの点ももちろん理解しており、全体として博士の授与に不足はなく、本論文は、博士（工学）の学位請求論文として十分な価値があるものと認められる。今後、臨床検体を有し、大規模な動物実験が可能な医学部や病院との共同研究により、難治癌における当該タンパクの役割が明らかになれば、近い将来全く新しい抗がん戦略の確立と新規治療薬の開発が可能になるものと大きく期待される。

東京女子医科大学
先端生命医科学研究所
教授 大和雅之

大和