

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

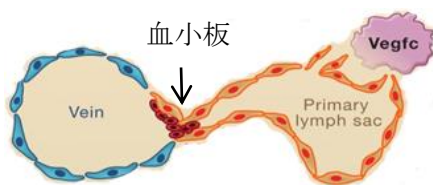
研究課題名	新規血小板上受容体 CLEC-2 を標的とした抗血小板薬、抗転移・腫瘍薬、検査の開発
研究機関・部局・職名	山梨大学・大学院医学工学総合研究部・准教授
氏名	井上 克枝

【研究目的】

我々はロドサイチンと呼ばれる血小板活性化蛇毒の受容体検索を通じて、新規血小板活性化受容体 C-type lectin-like receptor 2 (CLEC-2) を血小板上に同定した。当時 CLEC-2 の生体内リガンドは不明であったが、CLEC-2 が血小板—巨核球に特異的に発現すること、強力な血小板活性化能を持つことを考え合わせると生体内で血栓止血に何らかの役割を果していると考えられた。この知見から止血疾患治療薬の探索技術を開発し、特許を出願した。

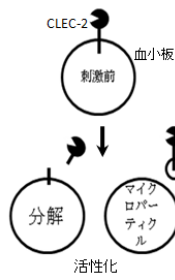
(1) **CLEC-2 と癌転移**：腫瘍細胞に発現するポドプラニンという膜蛋白は、血小板凝集を惹起して癌の血行性転移を促進するため、癌転移抑制薬の有望なターゲットとされ、その血小板側の受容体が長年検索されてきたが不明であった。我々は **CLEC-2 がポドプラニン受容体であることを**見出し、抗ポドプラニン抗体が転移を抑制することを、マウスの実験的肺転移モデルを用いて示した。しかしこの実験からは、ポドプラニンが CLEC-2 以外の血小板上のリガンドに結合して転移を促進している可能性も否定できない。本課題では、**新規抗転移薬、抗腫瘍薬の開発につなげるべく、血行性転移における CLEC-2 の役割を再確認するとともに、リンパ行性転移や癌の増殖における CLEC-2 の役割を解明したい。**

(2) **CLEC-2 とリンパ管発生**：ポドプラニンは正常リンパ管内皮にも発現する。リンパ管のポドプラニンは通常血小板と接触する環境にないが、発生の段階でリンパ管が血管から分離する過程では接触する可能性があると考えた。さらにポドプラニン欠損マウスはリンパ管分離異常が認められることから、CLEC-2 とポドプラニンの結合による血小板活性化がリンパ管と血管の分離を促すとの仮説を立てた。我々は世界に先駆けて CLEC-2 欠損マウスを作製し、リンパ管・血管分離異常が認められ、胎生致死であることを見出した。血小板は止血だけでなく、発生に関与することを初めて示した重要な発見といえる。ここまでの成果を基に、**CLEC-2 によるリンパ管分離のメカニズムと、腫瘍によるリンパ管新生における役割を解明したい。**



認められ、胎生致死であることを見出した。血小板は止血だけでなく、発生に関与することを初めて示した重要な発見といえる。ここまでの成果を基に、**CLEC-2 によるリンパ管分離のメカニズムと、腫瘍によるリンパ管新生における役割を解明したい。**

(3) **CLEC-2 と血栓症**：CLEC-2 欠損マウスは胎生致死であるため、その胎仔肝臓を放射線照射マウスに注射して骨髓キメラを作製した。コラーゲンコートキャピラリー



ーに全血を流したところ、CLEC-2 欠損血液は、血栓形成が有意に抑制された。また腹部毛細血管へのレーザー照射による血栓形成は、CLEC-2 キメラマウスで有意に抑制されていた。これより、CLEC-2 は癌と血栓症という二大死因に関わる蛋白であることがわかった。CLEC-2 の血栓止血に関わる生理的リガンドは何か？我々は、血小板が活性化されると CLEC-2 同士でホモフィリックに結合して血栓を安定化することを見出した。さらにヒト冠状動脈粥腫の凍結切片に CLEC-2 組換蛋白が血管平滑筋に沿って結合し、培養ヒト血管平滑筋細胞に CLEC-2 組換蛋白が結合するという知見を得た。本課題では、CLEC-2 をターゲットとした抗血小板薬の創薬を繋げるべく、血管平滑筋と血小板上の CLEC-2 リガンドを同定し、その血栓止血での役割を解明したい。

- (4) **CLEC-2 と血小板造血**：CLEC-2 キメラの血小板数は野生型に比べて 75%ほど低い。本課題では、CLEC-2 の血小板造血における役割を解明したい。
- (5) **CLEC-2 と臨床検査**：生体内血小板活性化を知る血液検査は、動脈血栓症準備状態の検出に有用であるが、既存の PF4 は採血の過程で容易に放出され信頼性に乏しい。我々は活性化血小板では CLEC-2 が切断されて、あるいはマイクロパーティクル上に乗る形で遊離することを見出した。本課題では、血中 soluble CLEC-2 の測定系を立ち上げ、心筋梗塞や脳梗塞の発症予防における有用性を検討したい。
- (6) **CLEC-2 低分子化合物リガンドの検索**：抗転移・腫瘍薬、抗血栓薬開発のリード化合物を見つける。

【総合評価】

<input type="radio"/>	特に優れた成果が得られている
<input type="checkbox"/>	優れた成果が得られている
<input type="checkbox"/>	一定の成果が得られている
<input type="checkbox"/>	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

CLEC-2 の作用について血栓止血、リンパ管発生、癌転移、血小板造血、soluble CLEC-2 測定法の確立、CLEC-2 リガンド検索など多面的なアプローチを行っており、各々一定の成果を得ている。特に、(1)ポドプラニン発現腫瘍の血行性転移が CLEC-2 欠損キメラで抑制され、血小板による癌転移機序の一部を明らかにしたこと、(2)胎生期におけるリンパ管と血管の分離に血小板の CLEC-2 が必須の分子として関与すること、(3)CLEC-2 の平滑筋発現リガンドのひとつが S100A13 であり、動脈硬化の進展に関与すること、(4)血小板造血における CLEC-2 の役割を解明したこと、(5)soluble CLEC-2 測定系を確立したことは、いずれも優れた成果であるが、(1)、(2)、(3)はブレークスルー成果と評価である。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

- (1) 癌転移における役割については、ポドプラニン発現腫瘍の血行転移が CLEC-2 欠損キメラで有意に抑制される成果を得ており、所期の目標は達成できている。
- (2) リンパ管発生における役割については、TGF β ファミリーの機能を介して血小板によるリンパ管・血管分離機序を明らかにしており所期の目標を達成している。
- (3) 血栓止血における役割については、血管内血栓モデルを用いて CLEC-2 の血栓塞栓作用を示したが、その機序の解明が今後の課題として残されている。
- (4) 血小板造血における役割については、CLEC-2 が巨核球前駆細胞の増殖に関与することが明らかになり、その分子機序に関する検討が残されている。
- (5) Soluble CLEC-2 測定系の開発は所期の目標を達成した。
- (6) CLEC-2 低分子化合物リガンドの検索については、低分子化合物のリード化合物を 2 種得ており、肺転移マウスモデルの検討が残されている。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が (ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が (創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

癌転移に関する血小板の関与については、これまでも示唆されてきたが、CLEC-2 の役割が明確化されたことは先進性に優れ、ブレークスルー成果といえる。

リンパ管発生におけるリンパ管・血管分離機序に重要な働きをする血小板の役割とそのメカニズムを解明したことは先進性・優位性に優れた成果で、ブレークスルー成果といえる。血栓形成における CLEC-2 の促進作用は、血栓止血機序における重要な知見であり創薬ターゲットになる可能性を示唆する。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が (見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が (見込まれる ・ 見込まれない)

本研究の成果は、癌の血行転移の機序の一部を解明したこと、血管内血栓形成に関与する血小板 CLEC-2 の役割を明らかにしたことから、いずれも臨床的に創薬ターゲットとして波及効果が期待される。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究体制は概ね適切にマネジメントされているが、人員体制の確保・調整には、かなり苦勞されたことが窺われる。成果の発表（論文発表・学会発表）も着実になされており、soluble CLEC-2 測定系の開発は特許も申請されており評価できる。国民に対する理解を醸成するための取り組みも積極的に実施されており評価に値する。