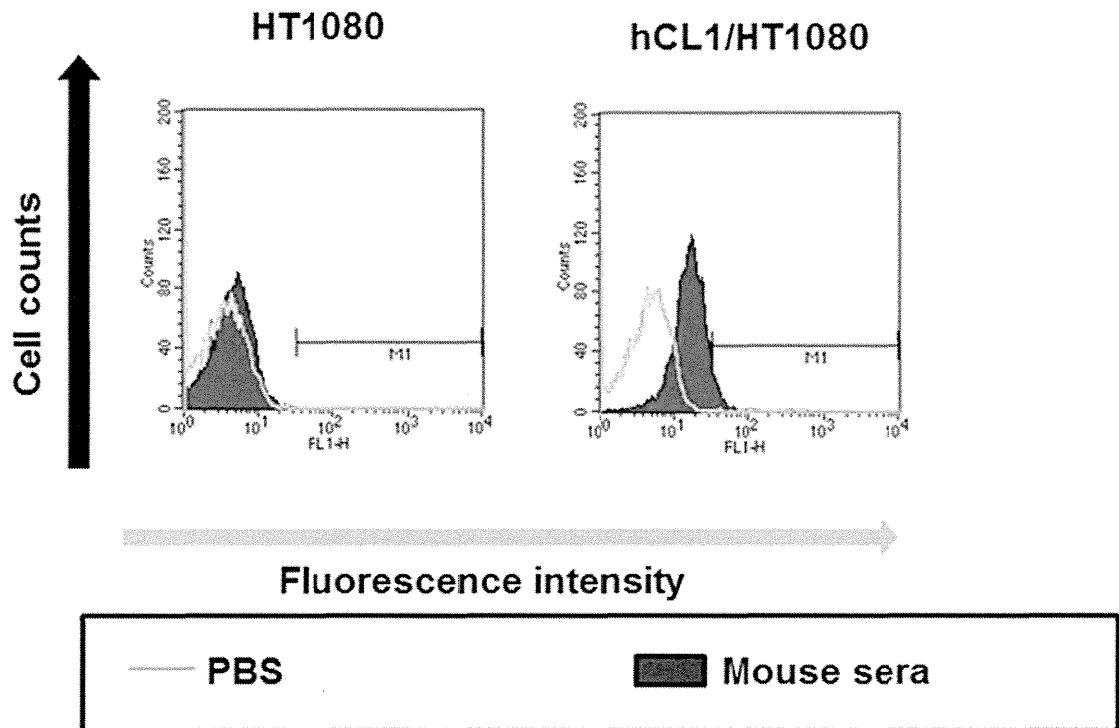
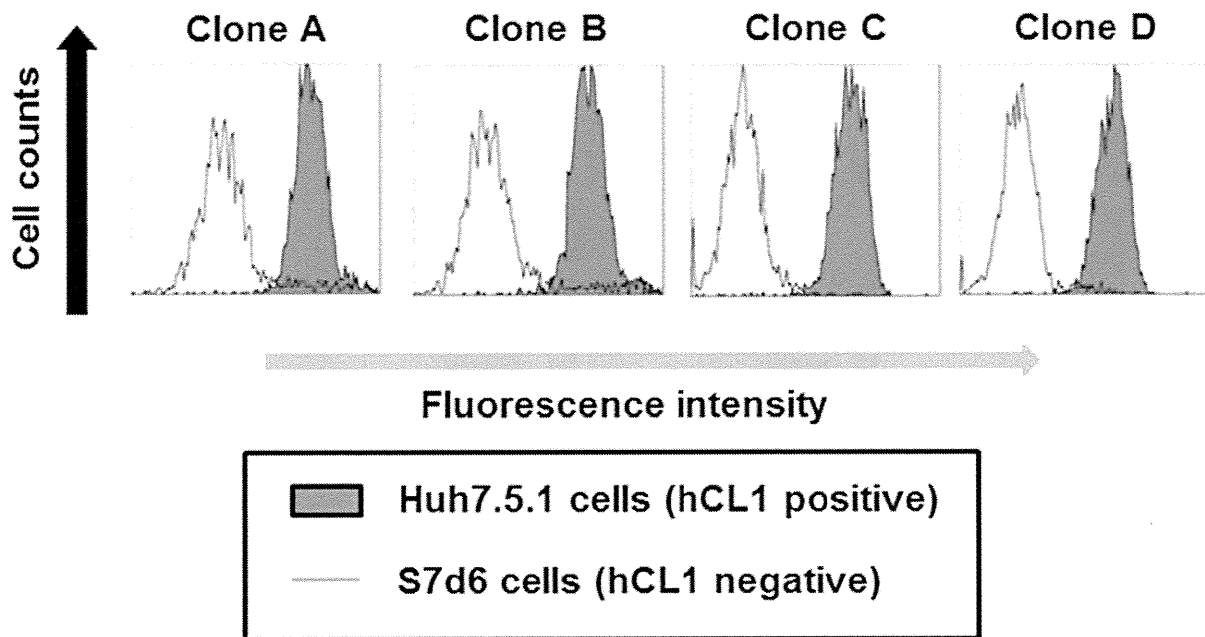


- Kiyohito Yagi, Establishment of a cell-based screening system for chemical modulators of claudin expression., Tight junction conference 2012, Nov 1-4, 2012, Merida, Mexico.
7. Ryo Doyama, Hidehiko Suzuki, Kyohei Matsushita, Xixangru Li, Azusa Takahashi, Kohji Matsuhisa, Hirofumi Tsujino, Akihiro Watari, Masuo Kondoh, Hiroshi Aoyama, Tadayuki Uno, Kiyohito Yagi, Biochemical analysis of a claudin ligand that exhibits a broad binding specificity, Tight junction conference 2012, Nov 1-4, 2012, Merida, Mexico.
  8. Shotaro Nagase, Kyohei Matsushita, Azusa Takahashi, Hirofumi Tsujino, Xiangru Li, Hidehiko Suzuki, Hiroshi Aoyama, Masuo Kondoh, Akihiro Watari, Tadayuki Uno, Takao Hamakubo, Kiyohito Yagi, Structural and biochemical analysis of a novel, broadly specific claudin binder. 52<sup>nd</sup> Annual meeting of the American society for cell biology, Dec 15-19, 2012, San Francisco, CA, USA.
  9. Azusa Takahashi, Yumiko Saito, Masuo Kondoh, Hideki Kakutani, Hidehiko Suzuki, Kohji Matsuhisa, Akihiro Watari, Takao Hamakubo, Kiyohito Yagi, Creation of a novel claudin binder by using *Clostridium perfringens* enterotoxin and baculoviral display. 52<sup>nd</sup> Annual meeting of the American society for cell biology, Dec 15-19, 2012, San Francisco, CA, USA.
  10. 近藤昌夫、八木清仁、Claudin を標的とした動態制御技術の現状と課題、第 28 回日本 DDS 学会、平成 24 年 7 月 4-5 日、札幌
  11. 鈴木英彦、山根誠司、角谷英樹、高橋 梓、内田博司、渡利彰浩、近藤昌夫、八木清仁、高親和性 claudin-4 binder の創製と粘膜ワクチンへの応用、第 28 回日本 DDS 学会、平成 24 年 7 月 4-5 日、札幌
  12. 土山遼、長瀬翔太郎、鈴木英彦、李相儒、山根誠司、渡利彰浩、近藤昌夫、八木清仁、*Clostridium perfringens* enterotoxin 断片を利用した claudin 指向性吸収促進技術の安全性評価、第 59 回トキシシンポジウム、平成 24 年 8 月 30-31 日、帯広
  13. 近藤昌夫、八木清仁、タイトジャンクションを標的とした粘膜吸収促進技術の螺旋的発展、第 34 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、平成 24 年 11 月 15-16 日、京都
  14. 近藤昌夫、八木清仁、Claudin を標的とした動態制御技術の現状と課題、創剤フォーラム第 18 回若手研究会講演、平成 24 年 11 月 17 日、徳島
  15. 土山遼、Susanne M. Krug、Michael Fromm、近藤昌夫、八木清仁、上皮細胞を標的とした創薬基盤研究 第 1 報 ~claudin binder のバリア制御機構の解析~、日本薬学会第 133 年会、平成 25 年 3 月 27-30 日、横浜
  16. 山下真代、長瀬翔太郎、高橋梓、岩成宏子、近藤昌夫、渡利彰浩、浜窪隆雄、八木清仁、上皮細胞を標的とした創薬基盤研究 第 2 報 ~免疫抗体ライブラリの最適化~、日本薬学会第 133 年会、平成 25 年 3 月 27-30 日、横浜
  17. 長瀬翔太郎、山下真代、飯田愛未、渡利彰浩、近藤昌夫、深澤征義、八木清仁、上皮細胞を標的とした創薬基盤研究 第 3 報 ~ claudin-1 特異的 binder の創製~、日本薬学会第 133 年会、平成 25 年 3 月 27-30 日、横浜
  18. 平垣有史、相儒、清水芳実、渡利彰浩、近藤昌夫、深澤征義、八木清仁、上皮細胞を標的とした創薬基盤研究 第 4 報 ~ Claudin-binder-4 特異的 binder の創製~、日本薬学会第 133 年会、平成 25 年 3 月 27-30 日、横浜
  19. 長谷川真希、渡利彰浩、近藤昌夫、八木清仁、上皮細胞を標的とした創薬基盤研究 第 5 報 ~低分子 tight junction modulator の創製~、日本薬学会第 133 年会、平成 25 年 3 月 27-30

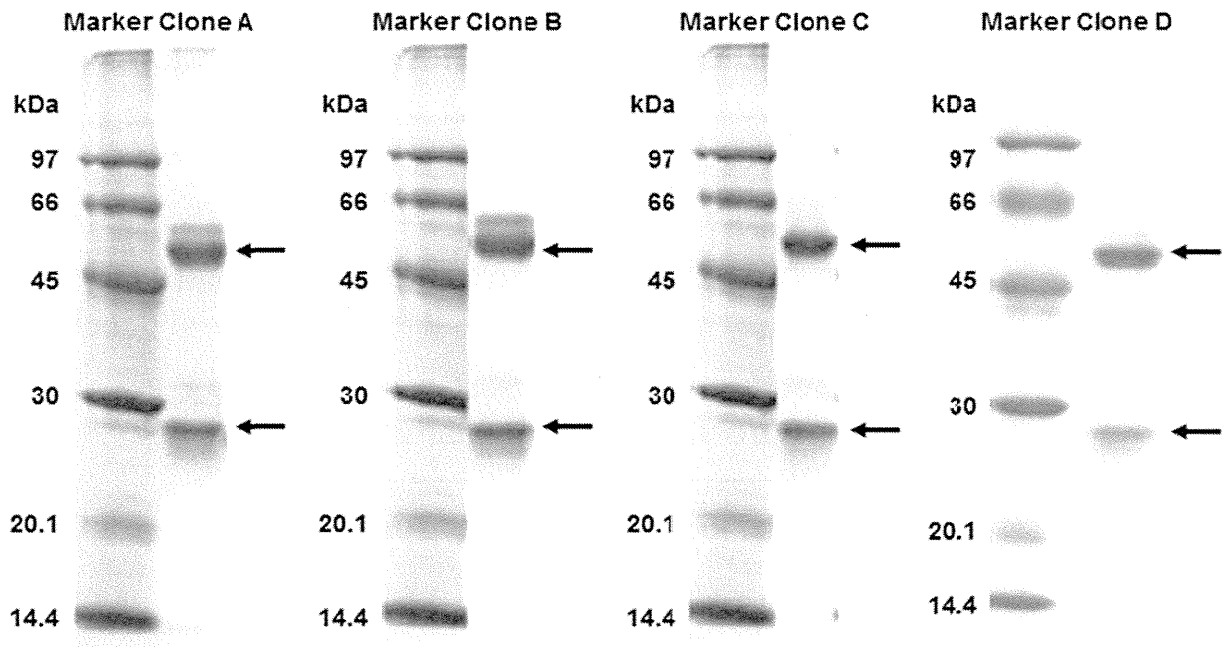
- 日、横浜
20. 早石知浩、近藤昌夫、渡利彰浩、永浜正博、八木清仁、上皮細胞を標的とした創薬基盤研究 第6報 ～Tricellular junction modulatorの創製～、日本薬学会第133年会、平成25年3月27-30日、横浜
  21. 李相儒、近藤昌夫、渡利彰浩、八木清仁、上皮細胞を標的とした創薬基盤研究 第7報 ～Claudin-3/-4 結合分子(C-CPE)の体内動態解析～、日本薬学会第133年会、平成25年3月27-30日、横浜
  22. 清水芳実、近藤昌夫、渡利彰浩、深澤征義、八木清仁、上タイトジャンクションによる薬物代謝活性制御の可能性、日本薬学会第133年会、平成25年3月27-30日、横浜
  23. 山岸喜彰、渡利彰浩、李相儒、吉岡靖雄、近藤昌夫、堤康央、八木清仁、ナノ・サブナノ白金の Maus 腎臓における毒性評価、日本薬学会第133年会、平成25年3月27-30日、横浜
  24. 山岸喜彰、渡利彰浩、李相儒、吉岡靖雄、近藤昌夫、堤康央、八木清仁、ナノ・サブナノ白金の Maus 肝臓における毒性評価、日本薬学会第133年会、平成25年3月27-30日、横浜
- G. 知的所有権の出願・取得状況
1. 特許取得
    - 1) (発明者) 近藤昌夫、深澤征義、石井明子、多田稔、八木清仁、渡利彰浩「抗体、フラグメント、分子及び抗HCV治療剤」(特願2013-38059) 出願中
    - 2) (発明者) 近藤昌夫、國安弘基、深澤征義、石井明子、多田稔、八木清仁「抗体、フラグメント、医薬組成物、分子及び腫瘍マーカー」(特願2013-40211) 出願中
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし



**Figure 1** Detection of anti-hCL1 antibodies in the sera of **BXSB** mouse immunized with plasmid DNA encoding hCL1. hCL1/HT1080 cells were incubated with 1000-fold diluted sera of the immunized BXSB mouse, and then the cells were incubated with FITC-conjugated goat anti-mouse IgG (H+L). The antibodies-bound cells were detected using a flow cytometer.

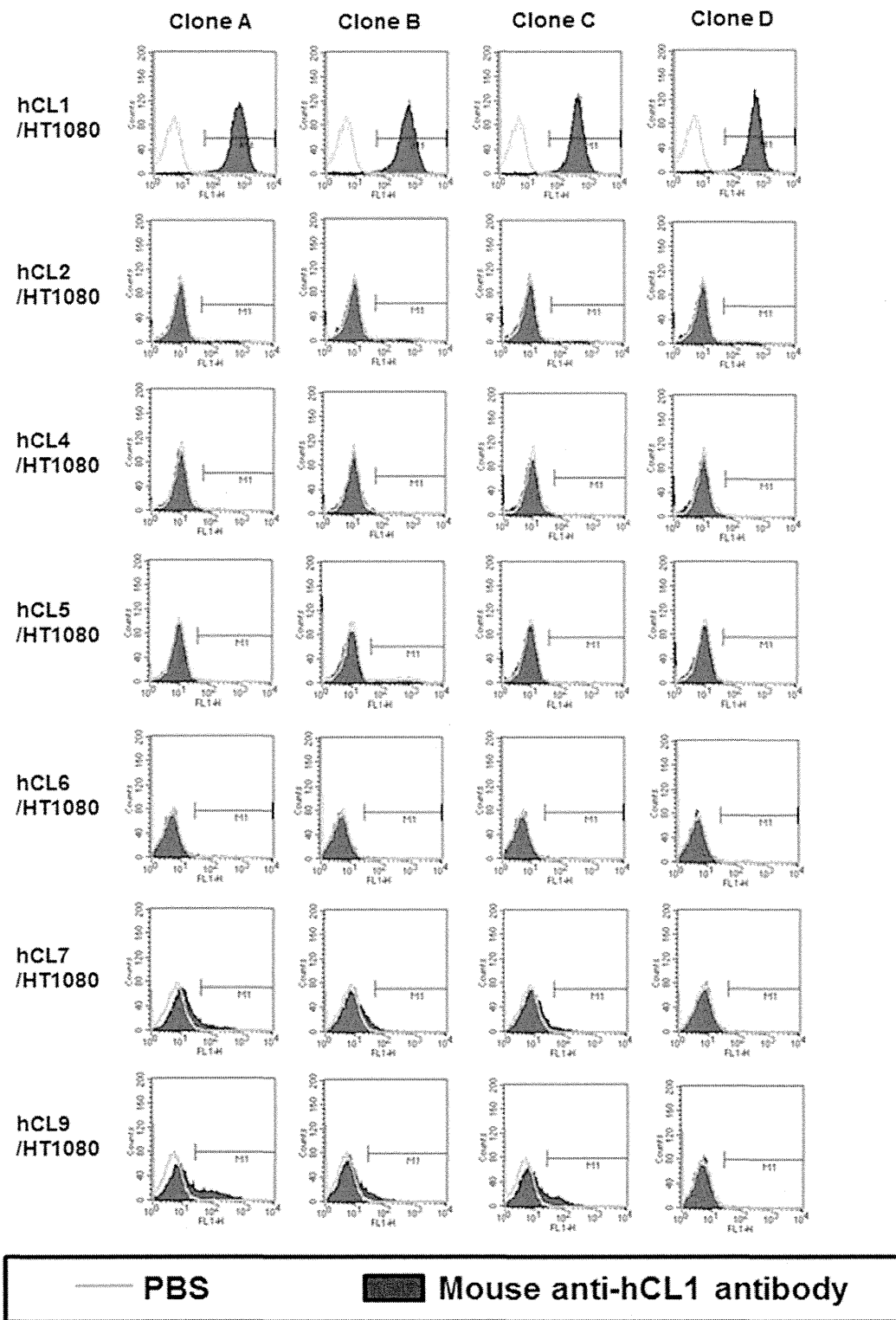


**Figure 2 Screening of hybridomas producing anti-hCL1 antibodies.** Huh7.5.1 cells or S7d6 cells were incubated with the conditioned mediums of hybridomas and stained with PE-conjugated anti-mouse IgG (H+L). The antibodies-bound cells were detected using a flow cytometer.



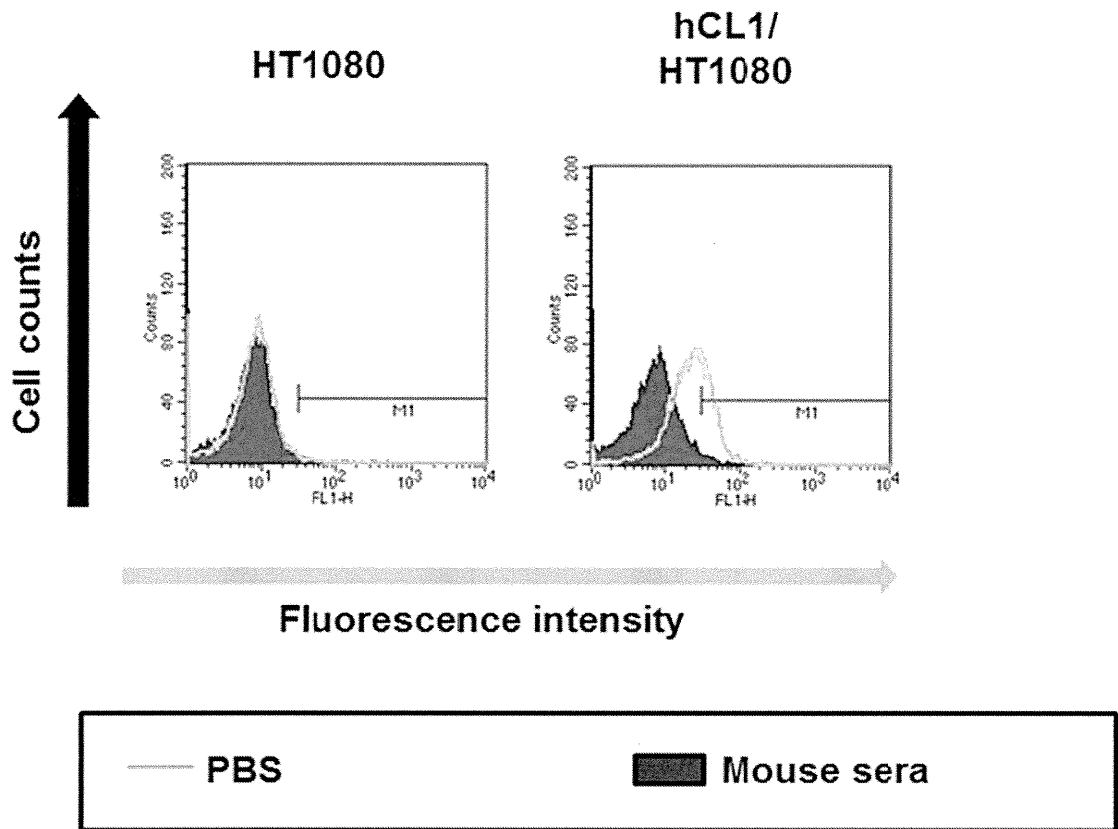
**Figure 3 Purification of mouse anti-hCL1 antibodies.**

The purification of mouse anti-hCL1 antibodies was confirmed by SDS-PAGE. The arrows indicate the IgG heavy chain (about 50 kDa) or the light chain (about 25 kDa).

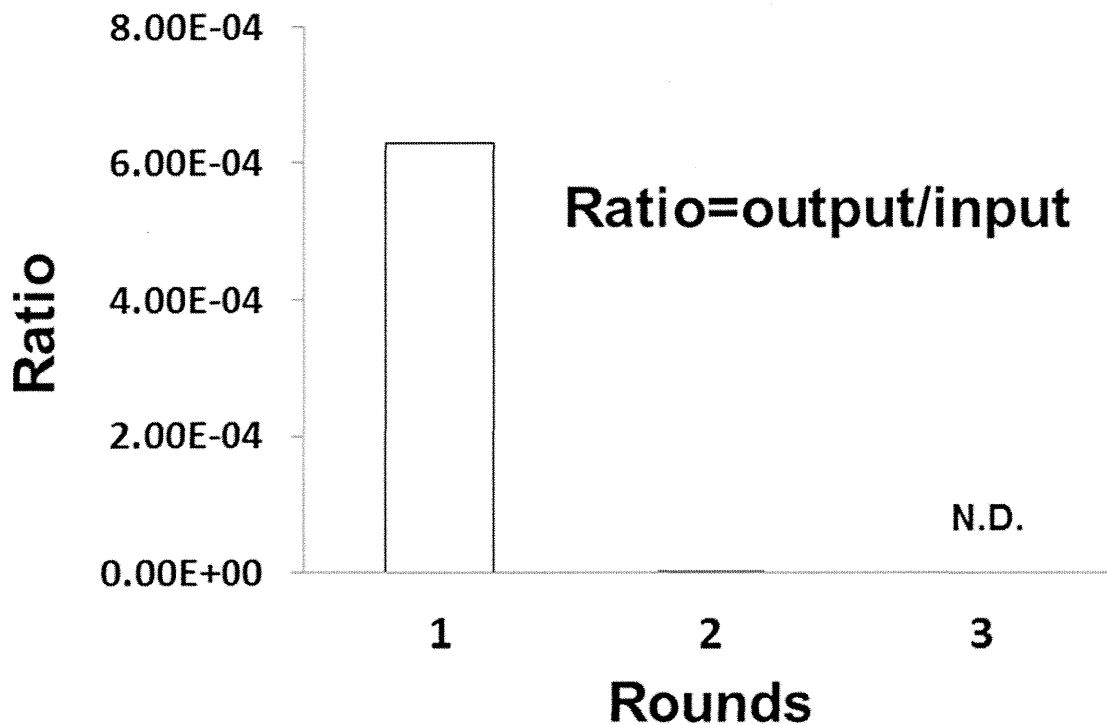


**Figure 4 CL-specificity of mouse anti-hCL1 antibodies.**

CL-expressing cells were incubated with mouse anti-hCL1 antibodies followed by FITC-conjugated goat anti-mouse IgG (H+L). The antibodies-bound cells were detected using a flow cytometer. As a control, cells were incubated with phosphate buffered saline (PBS).



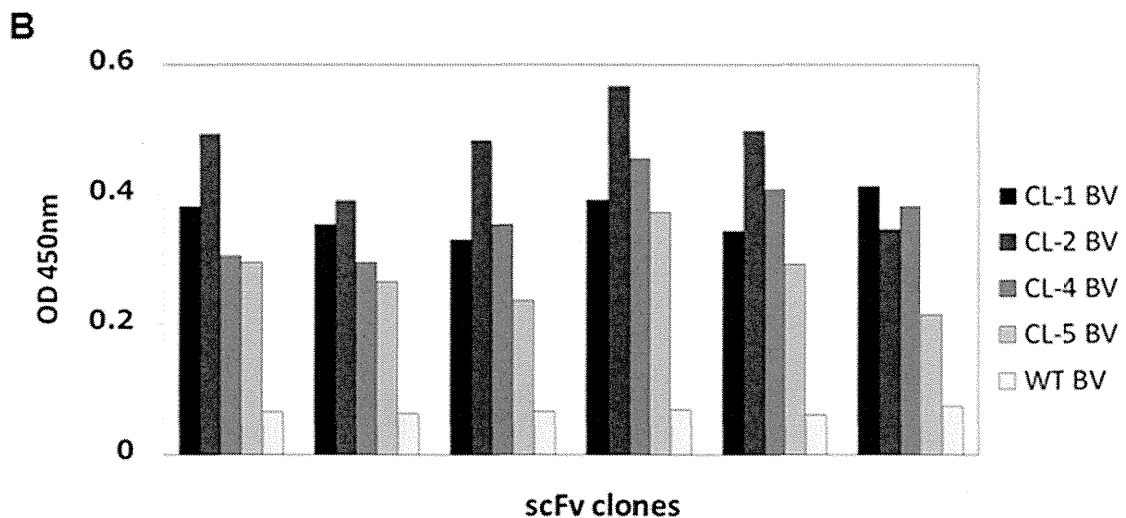
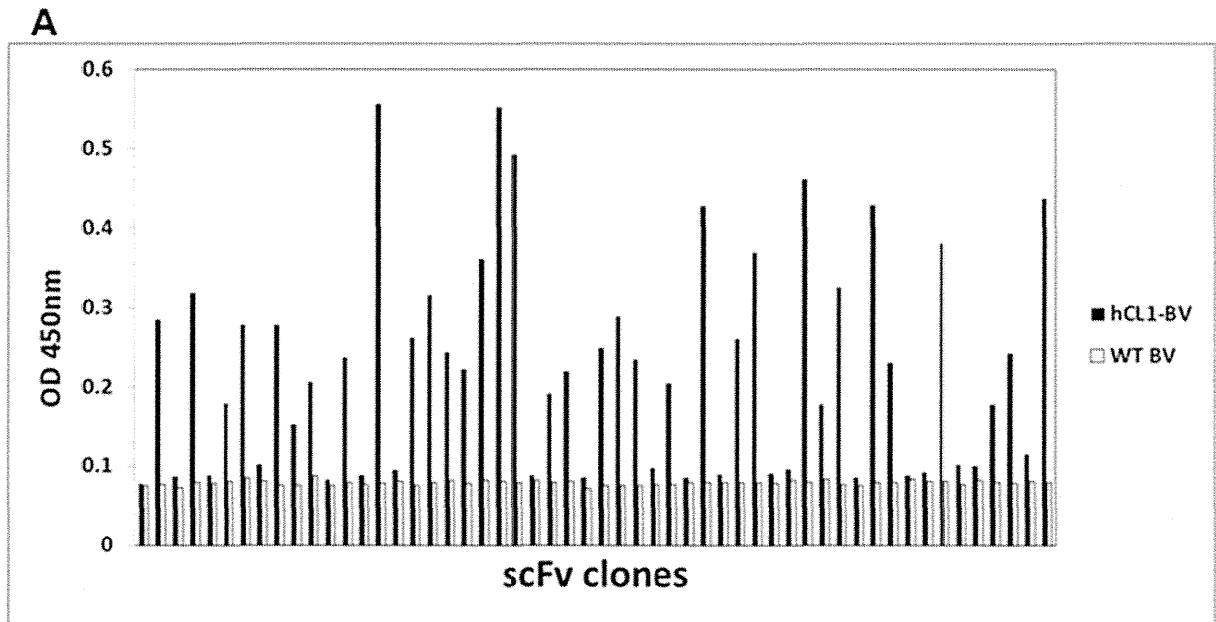
**Figure 6** Detection of anti-hCL1 antibodies in the sera of gp64-Tg mouse immunized with hCL1-dysplayed budded baculovirus. hCL1/HT1080 cells were incubated with 1000-fold dilution of the sera derived from gp64-Tg mouse immunized with hCL1-dysplayed budded baculovirus followed by FITC-conjugated goat anti-mouse IgG (H+L). The antibodies-bound cells were detected using a flow cytometer. As a control, cells were incubated with phosphate buffered saline (PBS).



**Figure 7 Panning of hCL1-binding scFv phages derived from hCL1-DNA immunized BXSB mice.**

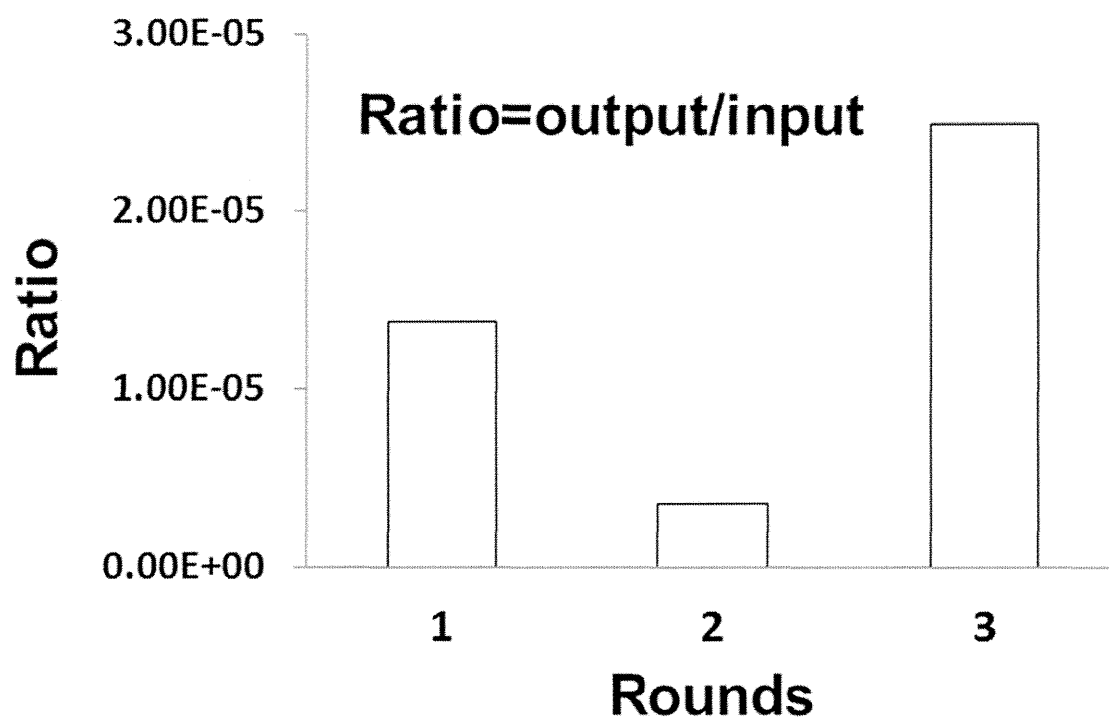
Enrichment of phages with affinity to hCL1-BV. Immunoplate coated with hCL1-BV were incubated with the scFv phage library at  $1.0 \times 10^8$  CFU titer (1st input phage). The phages bound to hCL1-BV were recovered (1st output phage). The hCL1-BV-bound phages were recovered and were subjected to another additional cycle of the incubation and wash step, resulting in 2nd, 3rd output phage. The ratio of output phage to input phage titers was calculated.





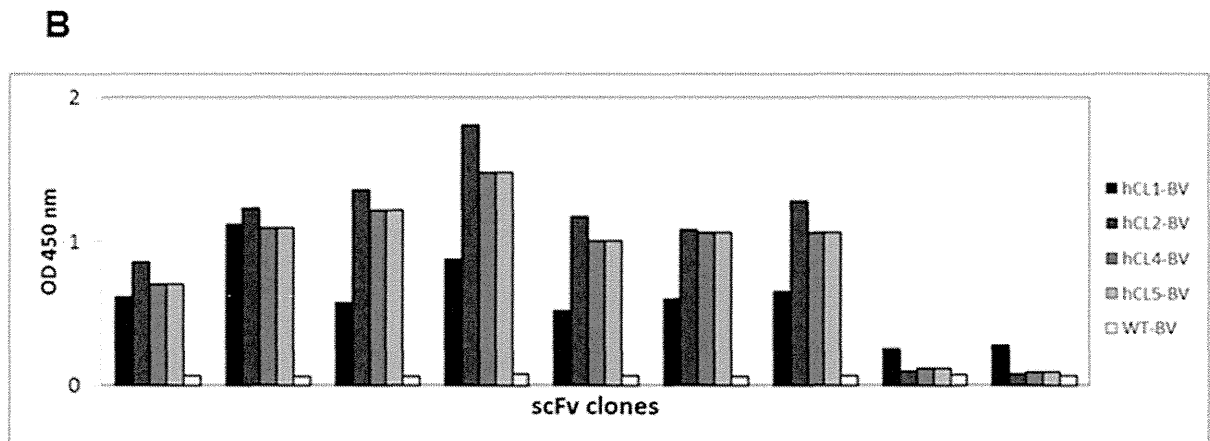
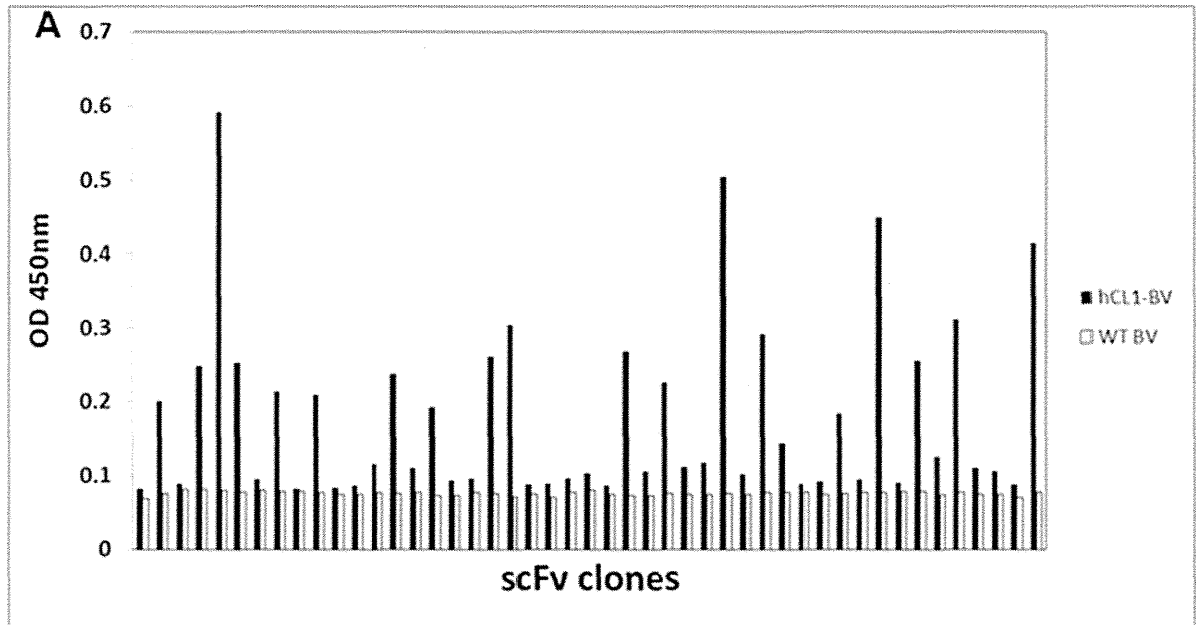
**Figure 8 Monoclonal analysis of scFv phage derived from hCL1-DNA immunized BXSB mice.**

A) After the 3rd round panning with hCL1-BV, monoclonal scFv phage clones were added to the WT- or hCL1-BV-coated immunoplates. CL-BV bound phage clones were detected by ELISA with an anti-M13 mAb. B) Monoclonal scFv phage clones binding hCL1 were added to the WT-, hCL1-, hCL2, hCL4- or hCL5-BV-coated immunoplates. CL-BV bound phages were detected by ELISA with an anti-M13 mAb.



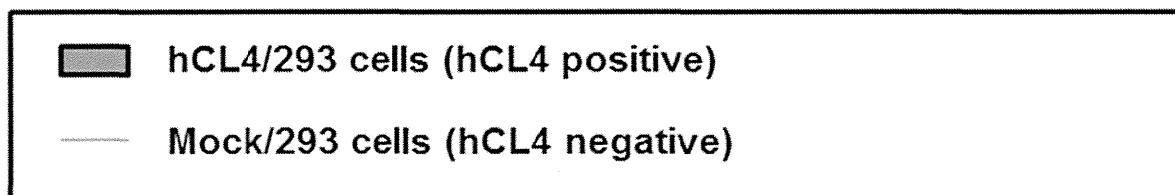
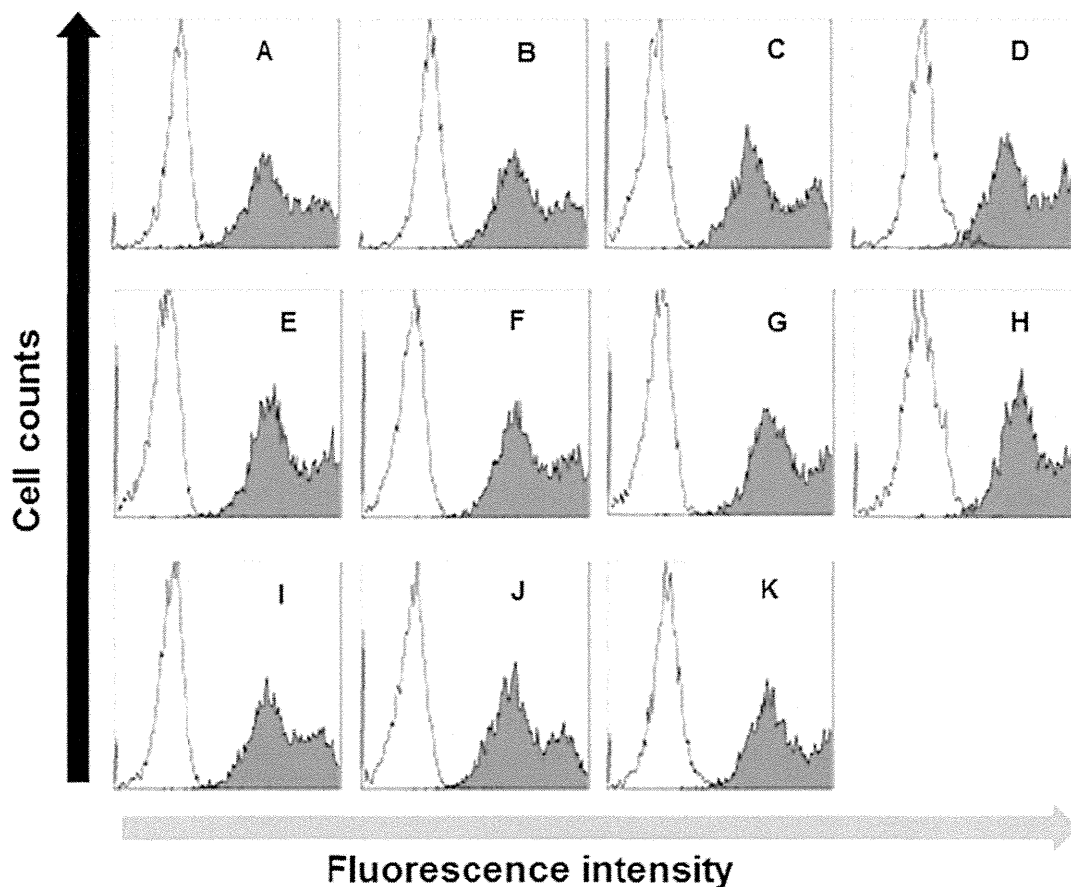
**Figure 9 Panning of hCL1-bound scFv phages.**

Enrichment of phages with affinity to hCL1-BV. Immunoplate coated with hCL1-BV were incubated with the scFv phage library at  $1.1 \times 10^{12}$  CFU titer (1st input phage). The phages bound to hCL1 -BV were recovered (1st output phage). The hCL1-BV-binding phages were subjected to another additional cycle of the incubation and wash step, resulting in 2nd, 3rd output phage. The ratio of output phage to input phage titers was calculated.

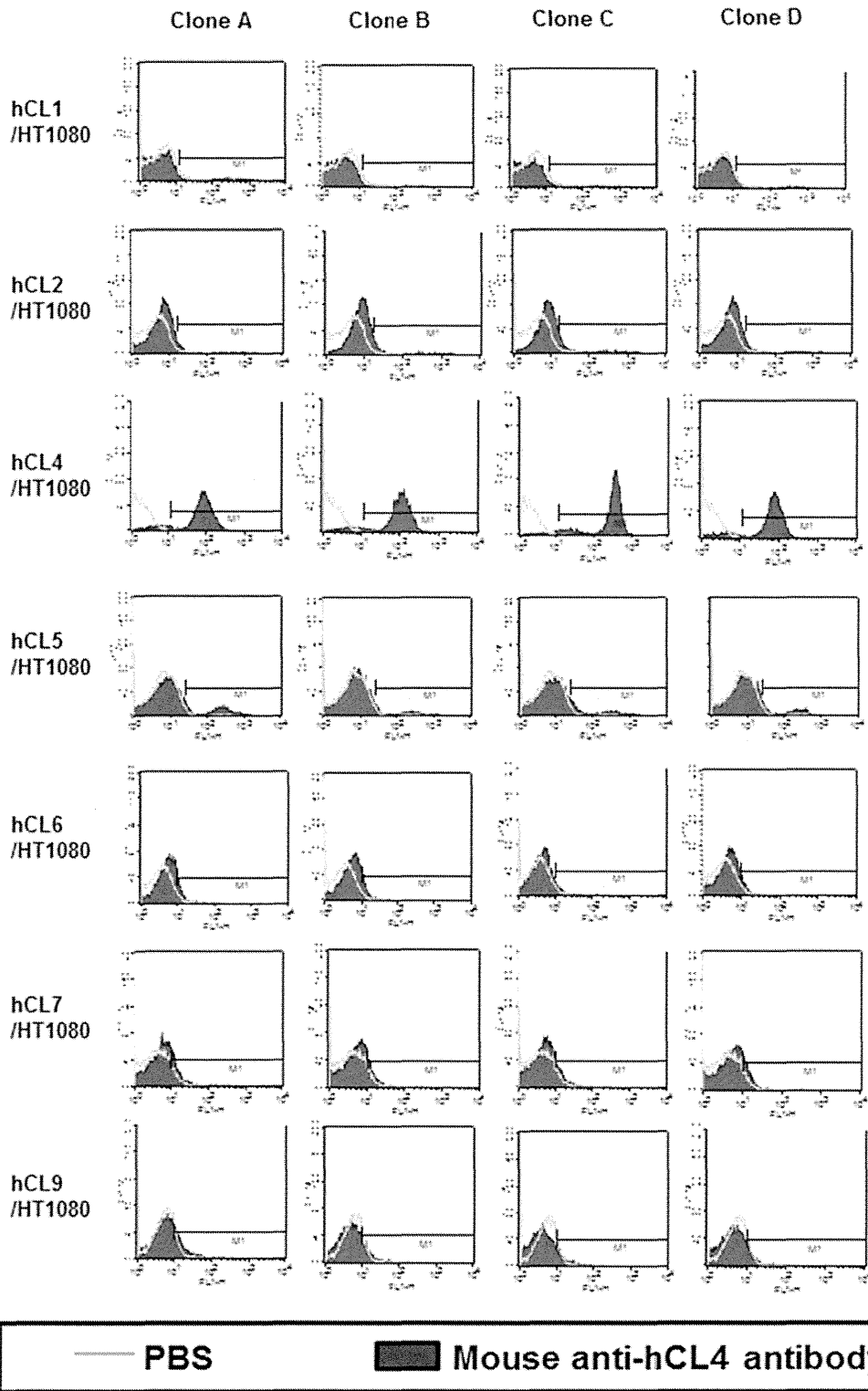


**Figure 10 Monoclonal analysis of scFv phage derived from hCL1-BV immunized gp64-Tg mice.**

A) After the 3rd round panning with hCL1-BV, monoclonal scFv phage clones derived from hCL1-BV immunized gp64-Tg mice were added to the WT- or hCL1-BV-coated immunoplates. Phage clones bound to the BV-coated immunoplates were detected by ELISA with an anti-M13 mAb. B) Monoclonal scFv phage clones binding to hCL1 were added to the WT-, hCL1-, hCL2-, hCL4- or hCL5-BV-coated immunoplates. Phage clones bound to the BV-coated immunoplates were detected by ELISA with an anti-M13 mAb.

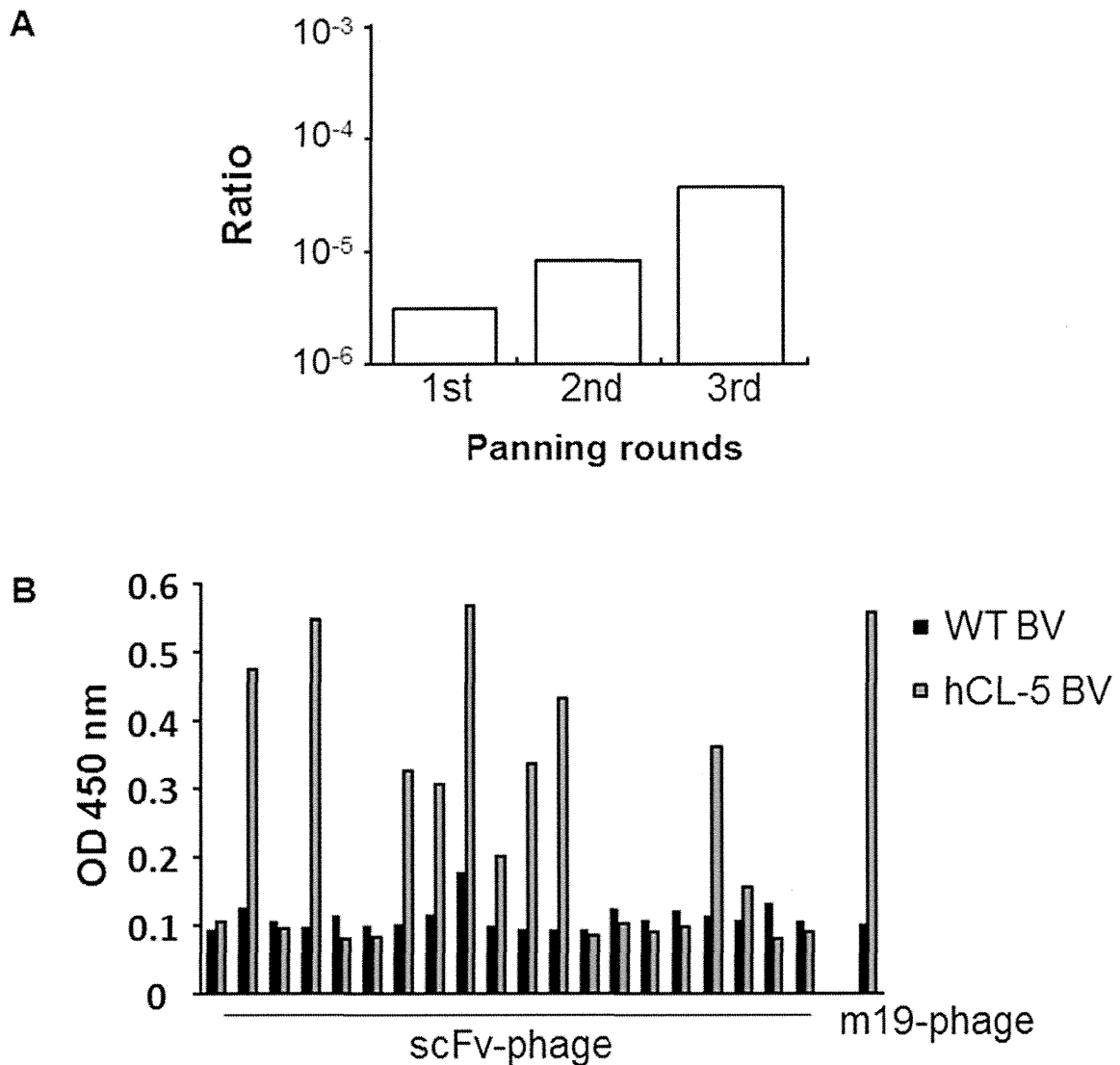


**Figure 11 Screening of hybridomas producing anti-hCL4 antibodies.** Anti-sera on BOM0/hCL4-transfected 293 cells or anti-sera on control gene-transfected 293 cells were incubated with the conditioned mediums of hybridoma clones and stained with PE-conjugated anti-rat IgG (H+L). The antibodies-bound cells were detected using a flow cytometer.



**Figure 12 Flow cytometry analysis of the interaction between mouse anti-hCL4 antibodies and CLs-expressing cells.**

CLs-expressing cells were incubated with rat anti-hCL4 antibodies, and FITC-conjugated goat anti-rat IgG (H+L). The antibodies-bound cells were detected using a flow cytometer. As a control, cells were incubated with phosphate buffered saline (PBS).



**Figure 14 Screening of hCL5 binding scFv phages.**

A) Enrichment of phages with affinity to hCL5-BV. hCL5-BV coated on immunotubes were incubated with the hCL5-immune scFv phage library at  $3.49 \times 10^6$  CFU titer (1<sup>st</sup> input phage). The phages bound to hCL5-BV were recovered (1<sup>st</sup> output phage). The hCL5-BV-binding phages were subjected to two additional cycles of the incubation and wash step, resulting in 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> output phage. The ratio of output phage to input phage titers was calculated. B) Monoclonal analysis of hCL5-immune scFv phage. hCL5-BV-bound phage clones were isolated from the 2<sup>nd</sup> output phages, and the interaction of the monoclonal phage with hCL5-BV was examined by ELISA with HRP-anti-M13 Ab.

**Table 1** The immunoglobulin isotypes of mouse anti-hCL1 antibodies.

clone	isotype
A	IgG2b
B	IgG2b
C	IgG2a
D	IgG1

**Table 2** The amino acid sequence of hCL1 binding-scFv derived from hCL1-DNA immunized BXSB mice.

<b>VL</b>	<b>FR1</b>	<b>CDR1</b>	<b>FR2</b>	<b>CDR2</b>	<b>FR3</b>	<b>CDR3</b>	<b>FR4</b>	<b>(G4S)3</b>
<b>Clone 1</b>	DIELTQSH KFMSTSV GDRVSITC		WYQQ KPGQS PKLLIY		GVPDRFTGSGS GTDFTLTISNVQ SEDLAEYFC		FGAGT KLEIKR	GGGGSG GGGSGG GGS

<b>VH</b>	<b>FR1</b>	<b>CDR1</b>	<b>FR2</b>	<b>CDR2</b>	<b>FR3</b>	<b>CDR3</b>	<b>FR4</b>	<b>FLAG tag</b>
<b>Clone 1</b>	SQVHVKQS GADLVRPG ALVKLSCK ASGFNIK		WVKQ RPEQ GLEWI G		KASITADTSSNTAY LQLSSLTSEDVAV YYCTR		WGQGT SVTVS S	DYKDDD DK



**Table 4 The immunoglobulin isotypes of rat anti-hCL4 antibodies.**

<b>Clone</b>	<b>Subclass</b>
A	IgG1
B	IgG2b
C	IgG2a
D	IgG2a
E	IgG2b
F	IgG2b
G	IgG2b
H	IgG2b
I	IgG2b
J	IgG2b or IgM
K	IgG2a or IgG2b

## Claudin-1 および Claudin-4 のヒトがんにおける役割

國安弘基 奈良県立医科大学 教授

### 研究要旨

Claudin-1・Claudin-4 の発現と癌の進展に相関の見られた膵癌および膀胱癌に関して、その役割を培養細胞・実験動物を用いた実験系で検討した。膵癌においては、Claudin-4 発現は、stage、T 因子、N 因子、M 因子との間に有意な相関を示した。ヒト膵癌細胞株 MIA-PaCa を抗 Claudin-4 抗体 4D3 により処理すると、①抗体濃度依存性の細胞増殖抑制、②5FU による細胞障害作用の抗体濃度依存性増強、③5FU 細胞内濃度の抗体濃度依存性増加が見られ、MIA-PaCa 細胞ヌードマウス皮下腫瘍モデルでは、④5FU・4D3 併用による相乗的な腫瘍増大抑制効果が認められた。膀胱癌においても、Claudin-4 発現は、stage、T 因子、N 因子との間に有意な相関を示し、ヒト膀胱癌細胞株 T24 において、①CDDP 細胞障害作用の 4D3 濃度依存性増強と②CDDP 細胞内濃度の抗体濃度依存性増加が見られた。一方、T24 細胞の TGF- $\beta$  誘導 EMT は抗 Claudin-1 抗体 2C1 により抑制された。腎癌では、Claudin-4 核内局在が進行例に有意に多く認められた。このように、Claudin とくに Claudin-4 標的抗体療法が、単独で、また、抗がん剤との併用により抗癌作用を示しており、有用性が示唆された。

### A. 研究目的

Claudin-1 および Claudin-4 は、tight junction を形成する細胞間接着因子として正常上皮組織に広く発現している。昨年度の課題において、がんでの Claudin-1・Claudin-4 の発現について検討したが、その中でも発現と癌の進展に相関の見られた膵癌および膀胱癌に関して、その役割を培養細胞・実験動物を用いた実験系で検討し明らかにする。

### B. 研究方法

#### B-1. ヒト膵癌における Claudin-1 および Claudin-4 の発現と癌の役割

臨床病理学的情報の明らかな膵癌 91 例のパラフィン包埋切片を用いて Claudin-1 および Claudin-4 の発現を免疫染色を施行し、組織学的 grade、病期 (Stage)、腫瘍進展 (T)、リンパ節転移 (N)、遠隔転移 (M) と比較した。

また、ヒト膵癌細胞株を用いて、抗 Claudin-1 お

よび Claudin-4 抗体の与える影響についても検討を行った。

#### B-2. ヒト膀胱癌における Claudin-1 および Claudin-4 の発現と癌の役割

臨床病理学的情報の明らかな膀胱癌 86 例のパラフィン包埋切片を用いて Claudin-1 および Claudin-4 の発現を免疫染色を施行し、組織学的 grade、病期 (Stage)、腫瘍進展 (T)、リンパ節転移 (N)、遠隔転移 (M) と比較した。

また、ヒト膀胱癌細胞株を用いて、抗 Claudin-1 および Claudin-4 抗体の与える影響についても検討を行った。

#### B-3. ヒト腎癌における Claudin-1 および Claudin-4 の発現と癌の役割

臨床病理学的情報の明らかな腎癌 202 例のパラフィン包埋切片を用いて Claudin-1 および Claudin-4 の発現を免疫染色を施行し、組織学的

grade、病期(Stage)、腫瘍進展(T)、リンパ節転移(N)、遠隔転移(M)と比較した。

## C. 研究結果

### C-1. ヒト膵癌における Claudin-1 および Claudin-4 の発現と癌の役割

ヒト膵癌における Claudin-1 および Claudin-4 の発現は 91 例中、それぞれ 85 例(93%)、および、78 例(86%)に認められた。Claudin-1 および Claudin-4 の発現と臨床病理学的パラメーターとの相関を検討すると、Claudin-4 発現は、stage (P = 0.0089), T factor (P = 0.0498), N factor (P = 0.0498), M factor (P = 0.0303)との間に有意な相関が認められた(Fig. 1)。一方、Claudin-1 発現は、T factor と相関していたが(P < 0.0001)、他の因子との相関は認められなかった。なお、Claudin-1 および Claudin-4 とも grade との相関は見られず、また両者の発現に相関は認められなかった。

ヒト膵癌細胞株 MIA-PaCa を抗 Claudin-1 抗体 2C1、または、抗 Claudin-4 抗体 4D3 により処理すると、4D3 では濃度依存性の細胞増殖抑制が認められた(Fig. 2 左)。これに対し、2C1 では抑制傾向は見られたものの有意差は認められなかった。4D3 を用いて、さらに 5FU の細胞障害作用への影響を培養系で検討すると、5FU による細胞障害作用を 4D3 は濃度依存性に増強し、5FU と 4D3 の間には相乗効果が認められた(Fig. 2 中)。この相乗効果について tight junction の障害による 5FU の癌細胞への accessibility の亢進によると考え、細胞内 5FU 濃度を測定した(Fig. 2 右)。5FU 細胞内濃度は 4D3 濃度依存性に増加していた。

さらに、4D3 が培養系で示した単独での抗腫瘍作用、および、5FU 抗腫瘍作用の増強効果をヌードマウス皮下腫瘍モデルを用いて検討した(Fig. 3)。MIA-PaCa 細胞の皮下接種から Day1, 3, 7 に 5FU, 4D3、または、両者を投与し 4 週まで腫瘍増大を観察したところ、4 週後には 4D3 単独で 27%、5FU 単独で 44%、両者の併用では 57%の腫瘍増大抑制効果が認められた。

### C-2. ヒト膀胱癌における Claudin-1 および Claudin-4 の発現と癌の役割

ヒト膀胱癌における Claudin-1 および Claudin-4 の発現は 86 例中、それぞれ 32 例(37%)、および、63 例(73%)に認められた。Claudin-1 および Claudin-4 の発現と臨床病理学的パラメーターとの相関を検討すると、Claudin-1 では、相関係数を解析すると stage との間に逆相関が認められた( $r = -0.2154$ ,  $P = 0.0464$ )。Claudin-4 では、T factor (P = 0.0067), N factor (P = 0.0262), stage (P = 0.0042)との間に相関が認められた(Fig. 4)。なお、Claudin-1 および Claudin-4 とも grade との相関は見られず、また両者の発現に相関は認められなかった。

ヒト膵癌において抗癌剤と抗 Claudin-4 抗体との相乗効果が認められたことから、ヒト膀胱癌細胞株 T24 を用いて、抗 Claudin-4 抗体 4D3 と CDDP との細胞障害作用への影響を培養系で検討した。すると、CDDP による細胞障害作用を 4D3 は濃度依存性に増強していた(Fig. 5 左)。T24 の細胞内プラチナ含量を測定すると(Fig. 5 右)、プラチナ細胞内濃度は 4D3 濃度依存性に増加していた。

臨床症例の検討において Claudin-1 と stage との間に逆相関が認められたことから、膀胱癌においては Claudin-1 に癌抑制性の作用があることが疑われた。Claudin-1 は、上皮分化マーカーとしても知られ上皮間葉移行(EMT)の際に発現の低下が報告されている。そこで、T24 膀胱癌細胞株を TGF- $\beta$  で処理し EMT を誘導する系を用いて、抗 Claudin-1 抗体 2C1 の作用を検討した(Fig. 6)。2C1 単独では上皮マーカー(ECDH)、間葉系マーカー(VIM,SNAIL)、幹細胞マーカー(NS)に変化は認められないが、TGF- $\beta$  処理によりもたらされる、ECDH 低下、VIM $\cdot$ SNAIL $\cdot$ NS の増加は 2C1 の処理により著明に抑制された。2C1 処理後 Claudin-1 は細胞表面に留まっていることが認められており、Claudin-1 細胞内移行の抑制が EMT に対して何らかの抑制効果を持つ可能性が予想される。

### C-3. ヒト腎癌における Claudin-1 および Claudin-4

## の発現と癌の役割

ヒト腎における Claudin-1 および Claudin-4 の発現は 203 それぞれ 78 例(38%)、および、128 例(63%) に認められた。Claudin-1 および Claudin-4 の発現と臨床病理学的パラメーターとの相関を検討すると (Fig. 7)、Claudin-1 では、T factor との間に逆相関が認められた( $P = 0.0471$ )。一方、Claudin-4 では、stage, T factor, N factor, M factor のいずれとも相関は認められなかった。なお、Claudin-1 および Claudin-4 とともに grade との相関は見られず、また両者の発現に相関は認められなかった。

しかし、Claudin-4 免疫染色における Claudin-4 の細胞内局在を検討すると、高発現症例で核に明瞭な染色性を有するものの通常の膜への染色性を欠くものが少数含まれることが判明した (Fig. 8)。このような症例は 203 例中 5 例(2.5%)、Claudin-4 陽性例の 4%に相当し、すべて pT3-4 の浸潤癌で 2 例はリンパ節転移陽性であった。pT3-4 症例の頻度を Claudin-4 核染色陰性症例と比較すると、核染色陽性症例では有意に高頻度であった( $P < 0.0001$ , Table 1)。

## D. 考察

Claudin-1 および-4 の発現は上皮性悪性腫瘍において高頻度に認められるが、その役割は腫瘍ごとに異なっている可能性が明らかになった。

Claudin-1 については、膵癌では有意な腫瘍進展との相関は認められなかったが、膀胱癌・腎癌では腫瘍進展に対し抑制的に作用することが示唆された。膀胱癌細胞株を用いた検討では、Claudin-1 は EMT に対して抑制的に作用している可能性が考えられ、抗 Claudin-1 抗体は Claudin-1 膜局在を介して EMT を抑制する可能性が示唆された。

一方、Claudin-4 は、膵癌・膀胱癌で腫瘍進展との相関が認められた。抗 Claudin-4 抗体を用いた細胞株の検討では、抗 Claudin-4 抗体は単独で抗腫瘍効果を示すのみならず、5FU や CDDP という抗癌剤との併用により、抗腫瘍効果の相乗効果が生じることが認められた。さらに動物実験では、抗体使用例では腫瘍増大の立ち上がりは対照例と変わらないが腫瘍増大速度は低下しており、無胸腺マウスであることを考慮すると血管新生などの因子への抑制効果も伺われる。4D3 および 5FU の併用例では腫瘍増大の立ち上がりが遅延するのみならず、腫瘍増大速度も低下しており、生体内での相乗効果が認められた。これらの効果にさらに抗体依存細胞障害活性などが加わればより著明な併用効果が得られることが期待される。

腎癌では Claudin-4 発現と腫瘍進展に相関は認められなかったが、Claudin-4 核局在症例は少数ではあるものの有意に進行しており、Claudin-4 の tight junction 外の作用が示唆された。

## E. 結論

本年度の検討から、Claudin-1 の腫瘍進展抑制作用、Claudin-4 の腫瘍促進作用とその特異的抗体を用いた targeting による腫瘍抑制作用が、抗体単独ならびに抗癌剤との併用による相乗効果を示して認められており、Claudin-1 および Claudin-4 が有用な腫瘍治療の標的分子であることが示された。また、近藤班長から提供された特異抗体が著明な腫瘍抑制作用を示し、分子標的治療の有用なツールとして期待された。今後は、他の臓器癌における検討・抗体の有用性の検討を拡大するとともに、Claudin-1 と EMT、Claudin-4 抗体の直接抗腫瘍効果の機構、Claudin-4 核内局在の意義と機構など基礎的な解明にも力を注いで行く予定である。