

研 究 報 告 書

平成30年度：A課題

2020年4月30日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設	名古屋大学医学部附属病院 消化器外科二
住 所	愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65
研究者氏名	神田 光郎



(研究課題)

アセチルコリン受容体サブユニットを標的とした新しい胃癌抗体医薬と抗体-薬物複合体の創出

平成31年2月4日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

(要旨)

本研究では新規胃癌関連受容体であるアセチルコリン受容体サブユニット CHRN2 に対するモノクローナル抗体を取得し、これらの胃癌阻害活性を *in vitro*、*in vivo* で評価するとともに、作用機序を明らかにすることを目的とした。モノクローナル抗体は胃癌細胞の増殖を抑制した。このレセプターは治療抵抗性を示した胃癌検体から見出した創薬ターゲットであり、既存治療で制御できなかった状況を克服するための鍵となり得る可能性がある。また、既存の増殖因子のレセプターを中心とする分子標的とは異なるため、新しいカテゴリーの治療薬となりうる。

(はじめに)

胃癌は全世界癌関連死亡の2位であり、本邦で特に罹患率が高い。近年、治療ガイドラインの整備等により切除可能胃癌の治療成績は改善したが、再発・転移例の5年生存率は10%未満である。そのため、免疫チェックポイント阻害薬などの既存の分子標的治療薬とは別の新規機序(Noh KM, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2012, Bartolini A, et al. Cancer Res 2015)で胃癌細胞を制御する阻害薬の創製が期待される。転移・再発胃癌に高発現する分子を検出すべく、遠隔転移再発群と無再発群の間で次世代シーケンサーを用いて57749分子の網羅的発現比較を行い、レセプター分子 CHRN2 を世界で初めて検出した。

群 遺伝子	腹膜播種再発群		肝転移再発群		リンパ節再発群	
	log ₂	p値	log ₂	p値	log ₂	p値
CHRN2	2.45	0.0001	4.88	0.0001	5.36	<0.0001

300例の胃癌臨床検体を対象に CHRN2 の胃癌組織中 mRNA 発現量を調べたところ、転移性胃癌で有意に発現増加しており、網羅的解析データの再現性が確認された。

そこで、高悪性度胃癌細胞株 MKN1 に対してゲノム編集技術による安定的 CHRN2 ノックアウト(KO)を行い、細胞機能を研究した。その結果、KO 株は増殖能が低下しアポトーシス細胞比が増加するとともに、遊走能、浸潤能も著明に低下した。さらに、KO 株では細胞接着能とマウス皮下腫瘍モデルでの造腫瘍能も低下していることが明らかになった。抗体医薬での阻害が効率的かつ有効な新規治療開発につながると考え、親水性・抗原性予測をもとにポリクローナル抗体を合成した。抗体は *in vitro* での胃癌細胞増殖を阻害するとともに、マウス腹膜播種モデルに対する腹腔内投与で

腹膜播種形成を有意に阻害した。基礎特許を平成 30 年 1 月 26 日に出願した(特願 2018-11937)。

(対象と方法)

1) モノクローナル抗体の取得と、効果の検証

合成: CHRNB2 に対してモノクローナル抗体を得た。

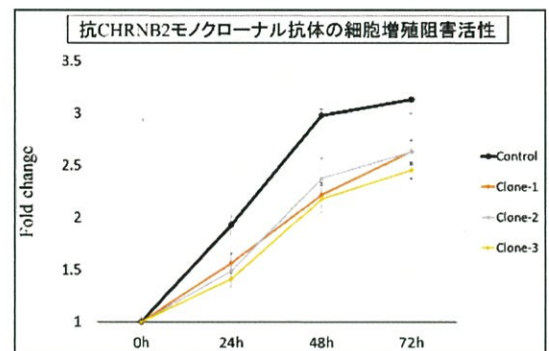
薬理試験:モノクローナル抗体の細胞機能抑制効果を in vitro(WST-8 assay)で調べた。in vivo 実験としてマウス腹膜播種モデルを樹立しモノクローナル抗体の腹腔内投与の効果調べた。

2) 薬効メカニズム解明

薬効メカニズムの検討を深める。ノックアウト細胞株を用いて追加機能解析として細胞周期、ミトコンドリア膜電位、Caspase 解析を行った。さらなるメカニズム解明のためにシグナル解析を行った。

(結果)

ハイブリドーマ 3 クローンを樹立し、これらから取得した抗 CHRNB2 モノクローナル抗体は in vitro(右)で胃癌細胞増殖阻害効果を示した。マウス腹腔内投与により腹膜播種進行を抑制した(下)。



Tissue microarray でヒト正常組織中には CHRNB2 発現は少なく、目的としない標的器官における有

害事象発現可能性は低いことが示された。

シグナル解析では、CHRN2 をブロックすることで、胃癌細胞において MAPK 経路への抑制的干渉がしめされた。

(考察)

レセプターCHRN2 に対するモノクローナル抗体は胃癌細胞の増殖抑制効果を示した。既存の増殖因子のレセプターを中心とする分子標的とは異なるため、新しいカテゴリーの治療薬となりうる。今後、さらなる薬効メカニズムの解明と、抗体のヒト化を経て、実用化へと進めていきたいと考えている。

(文献)

発表論文無し