

既存の抗がん剤と異なるレセプターを標的とした 新しいがん治療抗体医薬

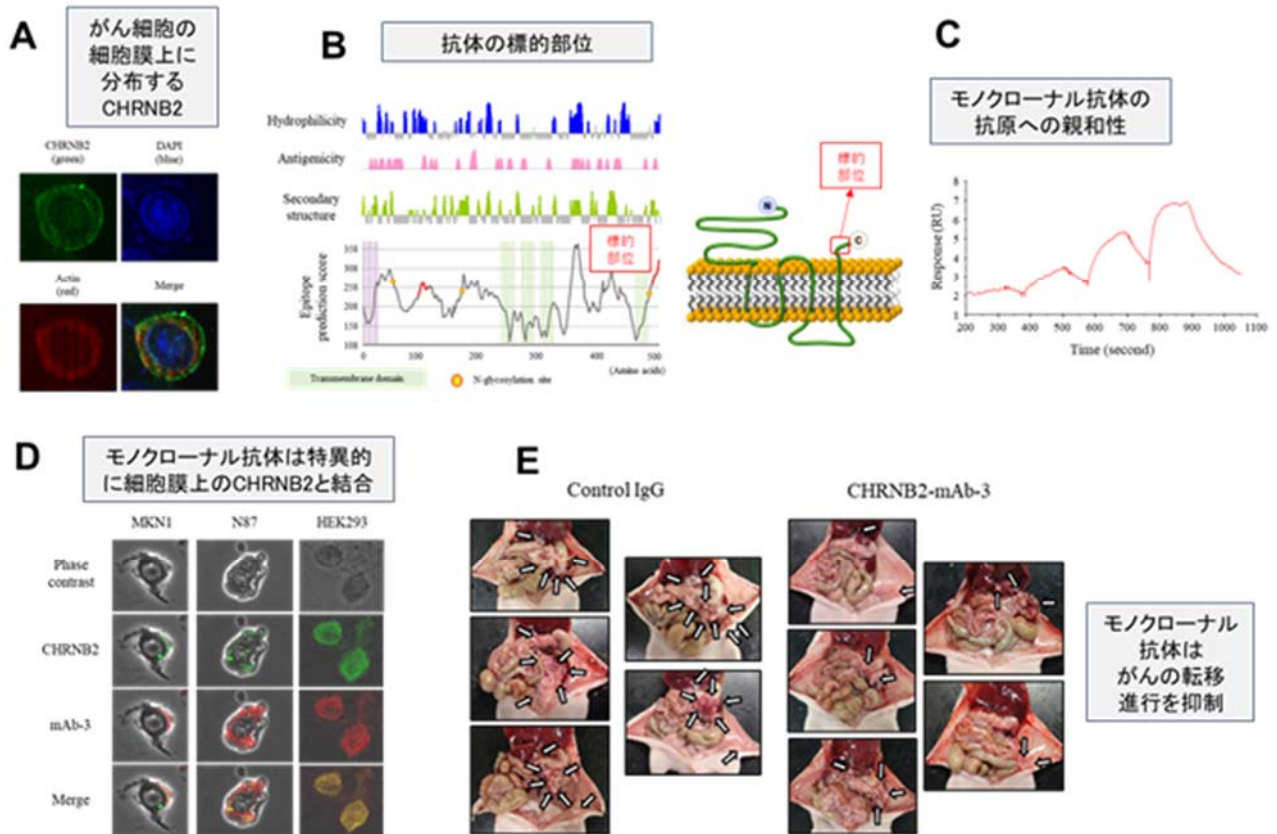
～がん細胞の転移を促進する CHRNB2 を狙い撃つ分子標的治療薬の開発～

名古屋大学大学院医学系研究科消化器外科学の小寺 泰弘（こでら やすひろ）教授、神田 光郎（かんだ みつろう）講師の研究グループは、転移のない胃がん患者と実際に転移を起こした胃がん患者からそれぞれ得た生体試料を用いて、ほぼ全ての既知の遺伝子とそのスプライシング産物^{※1}を対象に57749種類の分子の網羅的遺伝子発現解析を行い、腹膜播種転移、血行性転移^{※2}、リンパ行性転移を起こした患者群の全ての群で cholinergic receptor nicotinic beta 2 subunit (CHRNB2)という受容体が異常に高発現していることを発見し、ゲノム編集技術^{※3}でこれを喪失させることで胃がん細胞の転移に必要な能力を低下させることを明らかにしました。この受容体を特異的にブロックするモノクローナル抗体^{※4}を、胃がん細胞を移植したマウスに投与することにより、がんの進行を抑制することができました。

胃がんは全世界で罹患数・死亡者数の高い疾患です。胃がんによって生命の危機にさらされる原因は、腹膜、リンパ節、肝臓などへの転移です。胃がん治療成績を向上させるためには、転移を制御することが重要ですが、既存の抗がん剤の効果は限定的です。別の角度からがんを攻撃できる、新しい作用メカニズムをもつ分子標的治療薬^{※5}のニーズが高まっています。本研究グループは、全く新しいメカニズムからがん細胞を攻撃する新規分子標的治療薬の開発を目指して、転移を伴う胃がんで特徴的に高発現している分子を探しました。次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子発現解析の結果、CHRNB2という細胞膜にある受容体が転移を伴う胃がんの組織中で異常に高発現していることを発見しました。このCHRNB2をゲノム編集技術を用いて胃がん細胞株から人為的に喪失させると、細胞の増殖する能力のみでなく、がんが転移するために重要とされるさまざまな能力（浸潤する能力、移動する能力、接着する能力）が著しく低下することが明らかになりました。その背景として、CHRNB2の喪失によりPI3K-AKTシグナルやJAK-STATシグナルといった、がんの悪性度に強く関与する細胞内シグナルが不活性化していることが分かりました。マウスの皮下に胃がん細胞を注入すると腫瘍が形成され徐々に増大しますが、CHRNB2の発現を喪失させた細胞ではほとんど増大しませんでした。この結果から、CHRNB2を阻害することががんの治療に応用できると考え、この受容体を特異的にブロックするモノクローナル抗体を合成しました。腹腔内にがん細胞を移植したマウスに対して抗CHRNB2モノクローナル抗体を腹腔内投与することにより、胃がん転移の進行を抑制することができました。人工的にCHRNB2発現を喪失させたマウスの解析では、生殖、発育、臓器機能、運動認知機能に異常がないことが明らかとなっており、この受容体を阻害することで神経機能や臓器に重大な影響を与える危険性は低いと考えています。

抗CHRNB2モノクローナル抗体は、既存のがん治療薬と異なる、完全に新しい作用メカニズムを持つ治療法となります。さらに実際の胃がんの組織でCHRNB2発現の有無を評価することもできており、免疫染色法によるコンパニオン診断法によりCHRNB2を発現している胃がんを選別することで、効率的に抗CHRNB2モノクローナル抗体を用いた治療を行うことが期待されます。CHRNB2は胃がんの他にも、大腸がん、肺がん、乳がん、膵がんなどでも一定頻度で高発現しており、将来的には胃がんのみならず他のがんにも応用していくことを目指しています。

本研究成果は、英国科学雑誌「Oncogene」（2021年7月30日付けの電子版）に掲載されました。



ポイント

- 実際に転移を起こした胃がんの生体試料を用いて 5 万種類を超える分子の発現を網羅的に解析し、あらゆる転移形式のがんで異常高発現する受容体 cholinergic receptor nicotinic beta 2 subunit (CHRNB2)を発見しました。
- ゲノム編集技術でがん細胞から CHRNB2 を喪失させることにより、がん細胞の転移に必要な能力が著しく低下しました。
- CHRNB2 を特異的に阻害するモノクローナル抗体によって、がん細胞を活性化する細胞内シグナルが抑制され、がんを移植したマウスにこの抗体を投与することでがんの増殖を止めることができました。

1. 背景

胃がんは日本で年間罹患数（約 13 万人）、年間死亡者数（約 5 万人）ともに第 3 位と頻度が高く、特に転移や再発をきたし切除することのできない場合、その予後は非常に不良です。この状況の中、胃がんに対し有効性が実証されている分子標的治療薬の種類は限られています。抗がん剤治療の効果が少ない、あるいは治療中に抵抗性を獲得する胃がんの治療は難しいものとなっており、既存の抗がん剤とは作用メカニズムの異なる新しい治療法が渴望されています。研究グループは、胃がん細胞の転移を促進する分子を発見し、これを阻害する新しいモノクローナル抗体医薬の開発を目指しました。

2. 研究成果

転移のない胃がん患者と実際に転移を起こした胃がん患者からそれぞれ得た生体試料を対象に、次世代シーケンサーを用いてほぼ全ての既知の遺伝子とそのスプライシング産物を対象に 57749 種類の分子の網羅的遺伝子発現解析を行いました。その結果、cholinergic receptor nicotinic beta 2 subunit (CHRNA2)があらゆるタイプの転移を伴う胃がん組織中で異常高発現していることを発見しました。胃がん細胞株を対象に、ゲノム編集技術を用いて CHRNA2 を安定的にノックアウトしたところ (図 1A)、胃がん細胞の転移に重要な移動する能力 (遊走能: 図 1B) と浸潤する能力 (浸潤能: 図 1C) が低下しました。マウスの皮下に胃がん細胞を移植して、皮下腫瘍を作成しました。未処理の胃がん細胞を注入した場合、皮下腫瘍は時間経過とともに増大しました。これと比較して CHRNA2 をノックアウトした胃がん細胞では皮下腫瘍が増大する程度が小さくなりました (図 1D)。これら以外にも、CHRNA2 のノックアウトによって胃がん細胞の細胞増殖能、接着する能力 (接着能) も低下しました。さらに、さまざまながんに対して用いられる抗がん剤 5-FU とシスプラチンの効果が、CHRNA2 を喪失させることで上昇しました。

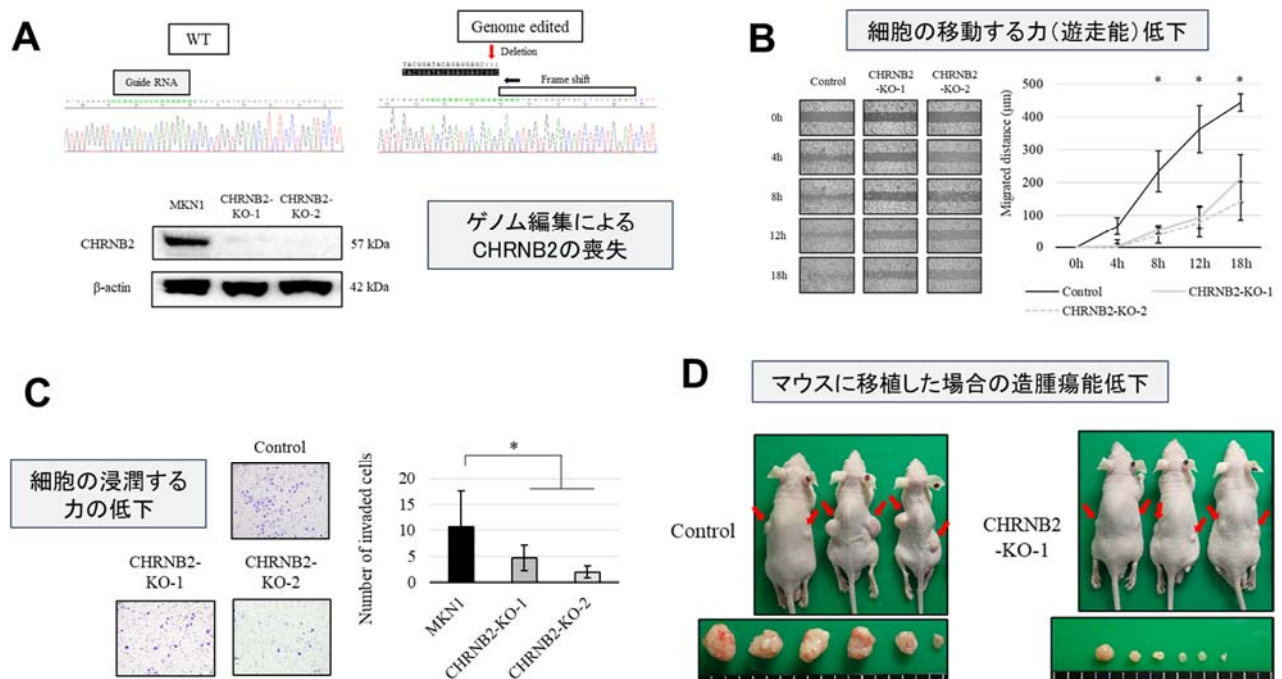


図 1: ゲノム編集による CHRNA2 のノックアウト (A) と、それによる胃がん細胞株の遊走能低下 (B)、浸潤能低下 (C)、マウス皮下腫瘍モデルでの造腫瘍能の低下 (D)。Control;未処理胃がん細胞, CHRNA2-KO; CHRNA2 ノックアウト胃がん細胞。

蛍光細胞染色法によって CHRNA2 が胃がん細胞の細胞膜上に分布することを確認し (図 2A)、特異的抗体によってこれをブロックする方法を着想しました。CHRNA2 のアミノ酸配列から抗原性を予測して抗体の標的部位を C 末端側の細胞外領域に選定しました (図 2B)。抗 CHRNA2 モノクローナル抗体の抗原への親和性を測定したのち (図 2C)、特異的に CHRNA2 と結合しているか

について、蛍光細胞染色法で確認しました（図 2D）。このモノクローナル抗体を、がん細胞を腹腔内に移植したマウスに対して腹腔内投与することにより、胃がん転移の進行を抑制することができました（図 2E）。

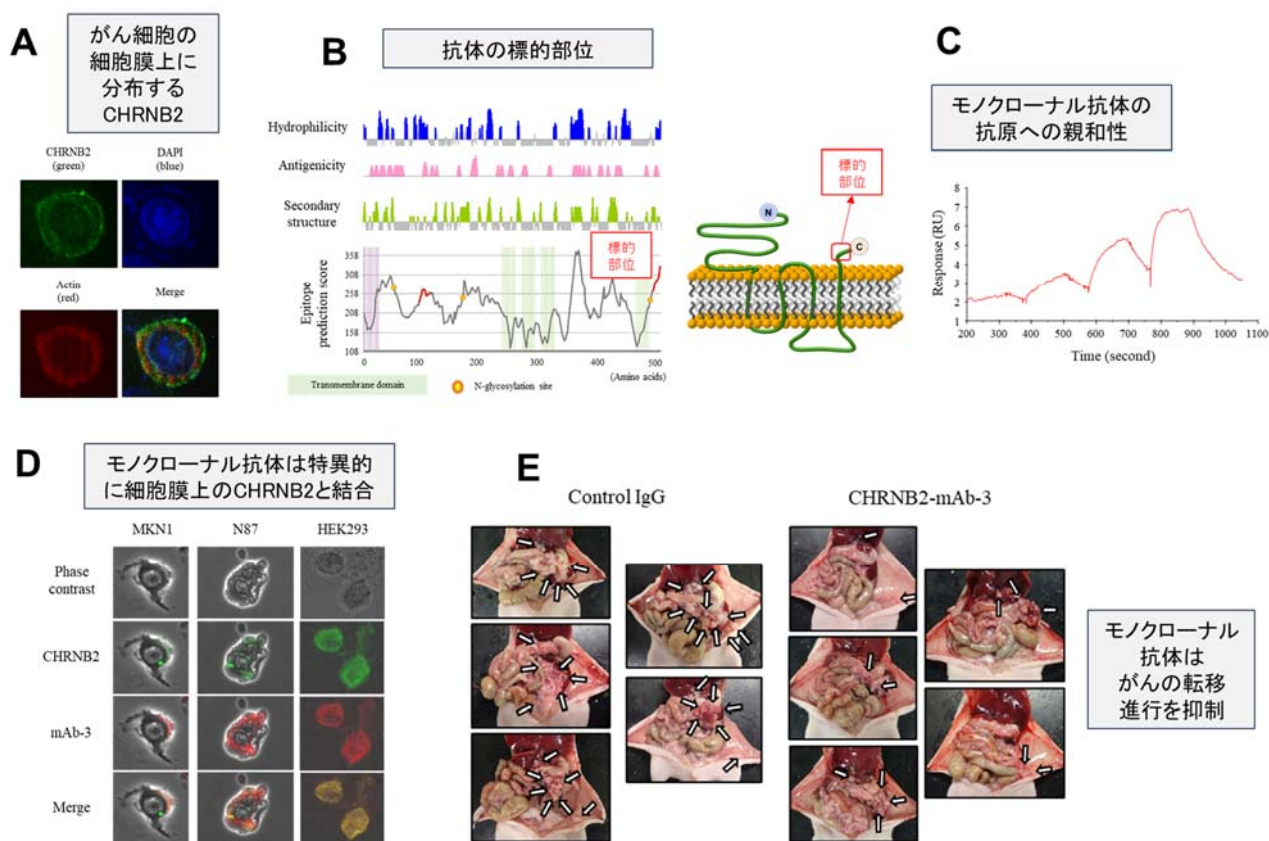


図 2： 蛍光細胞染色による胃がん細胞での CHRNB2 の局在 (A)。抗原性予測による標的部位の選定 (B)。抗 CHRNB2 モノクローナル抗体のアフィニティ解析 (C) と、CHRNB2 との特異的結合を示す蛍光細胞染色法 (D)。マウス腹膜転移モデルに対する抗 CHRNB2 抗体の効果 (E)。mAb; モノクローナル抗体。

作用メカニズムを明らかとするために実施した細胞内シグナルの解析により、CHRNB2 を阻害することでがんの悪性度に強く関与する PI3K-AKT シグナルや JAK-STAT シグナルが不活性化していることがわかりました(図 3A)。CHRNB2 はアセチルコリン受容体ファミリーに属しますが、重症筋無力症に関与する筋型のアセチルコリン受容体と異なり、神経型に分類されます。そこで、CHRNB2 を減弱することが生体においてどのような影響を与うるのかを調べるため、CHRNB2 ノックアウトマウスを特に神経系に着目して解析しました。その結果、生殖、発育、臓器機能に異常がないことに加え(図 3B)、名古屋大学神経内科学の勝野雅央教授、井口洋平助教との共同解析により運動・認知機能にも異常がないことが明らかとなっており、この受容体を阻害することで臓器形成や神経系機能に重大な影響を与える危険性は低いと考えられました。また、実際の胃がん症例で切除した組織に対して汎用性の高い免疫染色法を用いることで、明瞭に CHRNB2 発現の有無が判定可能でした(図 3C)。

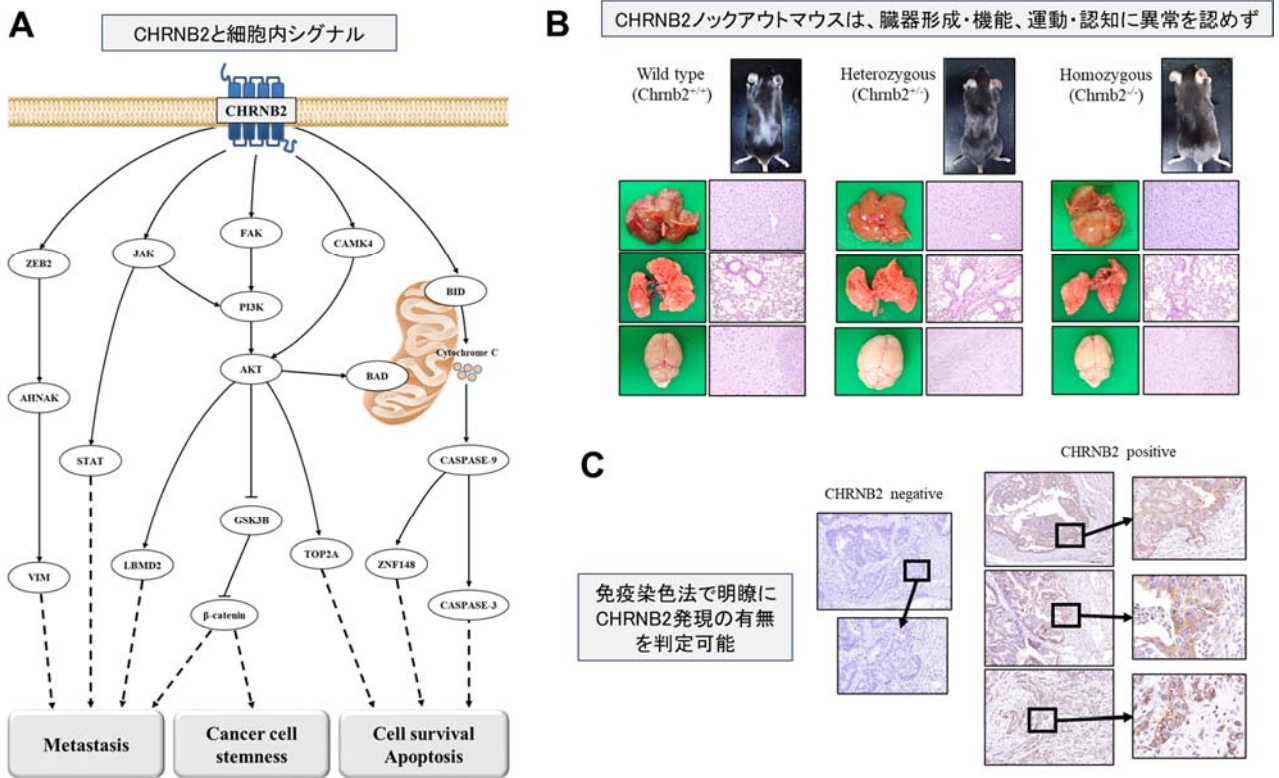


図 3：胃がんにおける CHRNB2 の役割を示す図 (A)。CHRNB2 ノックアウトの外観、肝、肺、脳の肉眼および顕微鏡所見 (B)。免疫染色法による実際の胃がん組織中 CHRNB2 発現の有無の判定 (C)。

これらの研究成果は、すでに国内特許・国際特許に出願しています。

3. 今後の展開

胃がんは非常に多様性のあるがんとして知られており、既存の抗がん剤治療への反応不良もしくは抵抗性獲得が問題となっています。既存の全ての分子標的治療薬と全く異なる、新しい作用メカニズムからの分子標的治療開発を目指して発見した CHRNB2 は、胃がんの転移形成に大きな役割を有する標的分子となります。その組織中発現が免疫染色法で判定可能であり、コンパニオン診断法として活用することで選別された対象に対して極めて効率的かつ有効な治療へとつながります。CHRNB2 を阻害することで、主要ながん関連細胞内シグナルを不活性化できるため、がんパネル検査の結果を活用できる可能性もあります。今後、ヒト化抗体の創製を進めていくとともに、将来的には胃がんのみならず、CHRNB2 が高発現している大腸がん、肺がん、乳がん、膵がんなどの他のがんにも応用していくことを目指しています。

この研究グループでは、胃がんの主要な転移様式（腹膜転移と血行性転移）それぞれに特異性の強い責任分子も同定しており、これらに特化した効率的な阻害薬も創製することであらゆる角度から胃がんを制圧することを目標に創薬研究を継続しています。

4. 用語説明

※1 スプライシング産物

同じ遺伝子をもとにして作られる、複数の転写産物のことです。これにより、遺伝子に設計された情報よりも多くの mRNA、蛋白が作られていきます。

※2 血行性転移

がんの転移の最も大きな原因で、血管の中にがん細胞が入り込み、血液の流れに乗って全身の臓器に転移するものです。胃がんをはじめとする胃腸のがんは血行性転移先として肝臓が多いですが、肺、脳、骨にも転移することがあり、生命を脅かします。

※3 ゲノム編集技術

最新の遺伝子技術で、狙った場所の遺伝子を変化させることで、特定の遺伝子発現を増やしたり減らしたりできます。今回はこの技術を用いて、cholinergic receptor nicotinic beta 2 subunit (CHRN2)の発現を喪失させた細胞を人工的に作り出しました。

※4 モノクローナル抗体

免疫系の細胞が特定の抗原（今回は CHRN2）を認識して、これに結合する抗体というタンパク質を産生します。単一の抗体産生細胞を作成・培養して得られた抗体をモノクローナル抗体といいます。

※5 分子標的治療薬

がんなどの治療において、その病気に特有あるいは過剰に発現している特定の標的分子を狙い撃ちにしてその機能を抑える薬剤の総称です。がん細胞のみを攻撃することで、より高い治療効果とより少ない副作用を併せ持つ治療法として期待されています。

5. 発表雑誌

掲雑誌名：Oncogene

論文タイトル：Blockade of CHRN2 signaling with a therapeutic monoclonal antibody attenuates the aggressiveness of gastric cancer cells

著者：Mitsuro Kanda,¹ Dai Shimizu,¹ Shunsuke Nakamura,¹ Koichi Sawaki,¹ Shinichi Umeda,¹ Takashi Miwa,¹ Haruyoshi Tanaka,¹ Yoshikuni Inokawa,¹ Norifumi Hattori,¹ Masamichi Hayashi,¹ Chie Tanaka,¹ Goro Nakayama,¹ Yohei Iguchi,² Masahisa Katsuno,² and Yasuhiro Koda¹

所属：¹Department of Gastroenterological Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

²Department of Neurology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

DOI：10.1038/s41388-021-01945-9

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Onco_210730en.pdf