

新しい作用メカニズムから開発したがん細胞を抑制する抗体医薬 ～がん転移を促進する受容体 NPTXR を狙い撃つ治療戦略の登場～

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 neuronal pentraxin receptor (NPTXR) 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活動性を著しく低下させ、抗がん剤が効きやすくなることを明らかにしました。この受容体に特異的に結合するモノクローナル抗体^{※4}をマウスに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。

胃がんは依然として罹患数・死亡者数の高い疾患です。胃がんの治療の見通し（予後）に大きく関わる再発転移の形式には、腹膜播種、リンパ節転移、血行性転移という3つの転移経路があります。これらの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あり、異なる作用メカニズムをもつ治療薬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^{※5}とコンパニオン診断法^{※6}の開発を目指して、転移を伴う胃がんで高発現している分子を探し出すことを試みました。網羅的遺伝子発現解析の結果、NPTXR という受容体が転移を伴う胃がんの組織中で異常高発現していることを発見し、ゲノム編集技術を用いて胃がん細胞株から NPTXR の発現を人為的に喪失させると、細胞の増殖する能力のみでなく、がんが別の臓器に転移するために重要とされる能力の数々（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、NPTXR の喪失により細胞が細胞死に向かうこと、細胞周期に変化をきたしていること、がんの悪性度に強く関与する PI3K-AKT-mTOR シグナルや FAK-JNK シグナルが不活性化していることが分かりました。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 の効果が、NPTXR を喪失させることで上昇しました。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、NPTXR 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、NPTXR を阻害することでがんの治療が可能となると考え、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。抗 NPTXR モノクローナル抗体は、試験管内で胃がん細胞の増殖を抑制し、その効果は抗がん剤 5-FU との併用で相乗的に上昇しました。また同抗体を、マウスの腹腔内にがん細胞を移植した腹膜転移モデル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。NPTXR をノックアウト（人工的に発現を喪失させること）し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。実際の胃がん症例でも、切除した胃がん組織中の NPTXR 発現量は転移や切除後再発を伴っている胃がんで上昇していました。

抗 NPTXR 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薬となります。コンパニオン診断法により NPTXR を発現している胃がんを選別することで、極めて効率的かつ有効な治療法となることが期待されます。NPTXR は胃がん以外にも、乳がん、大腸がん、膵がん、肺がん、食道がんなどでも高発現しており、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、米国科学雑誌「Molecular Cancer」（2020年8月26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がん生体試料を用いて 57749 種類の分子を網羅的に解析し、あらゆる転移形式の胃がんで異常高発現する受容体 neuronal pentraxin receptor (NPTXR) を発見しました。
- ゲノム編集技術でがん細胞から NPTXR 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、動物実験でもがん転移ができにくくなることが明らかになりました。
- NPTXR を特異的に阻害するモノクローナル抗体によって、がん細胞の増殖が抑制され、がんを移植したマウスに投与することでがんの進展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、胃がんに対し保険適応となっている分子標的治療薬は、2 種類の増殖因子阻害剤（ラムシルマブ、HER2 陽性胃がんに対するトラスツズマブ）と免疫チェックポイント阻害薬のみとなっています。従来の抗がん剤も含め、これら治療への効果がない、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、これを阻害するモノクローナル抗体医薬の開発とともに、その治療薬の効果を事前に判定できるコンパニオン診断法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、neuronal pentraxin receptor (NPTXR) があらゆるタイプの転移を伴う胃がん組織中で異常に高発現していることを発見しました。ゲノム編集技術を用いて NPTXR を発現している胃がん細胞株を対象にノックアウトを行ったところ（図 1A）、胃がん細胞の増殖する能力（増殖能：図 1B）が低下し、がん細胞集団の中で細胞死に向かう比率が増加しました（図 1C）。マウスの皮下に胃がん細胞を注入することで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 NPTXR 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）。他にも、NPTXR のノックアウトによって胃がん細胞の転移に重要な移動する能力（遊走能）、浸潤する能力（浸潤能）、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 の効果が、NPTXR を喪失させることで上昇しました。

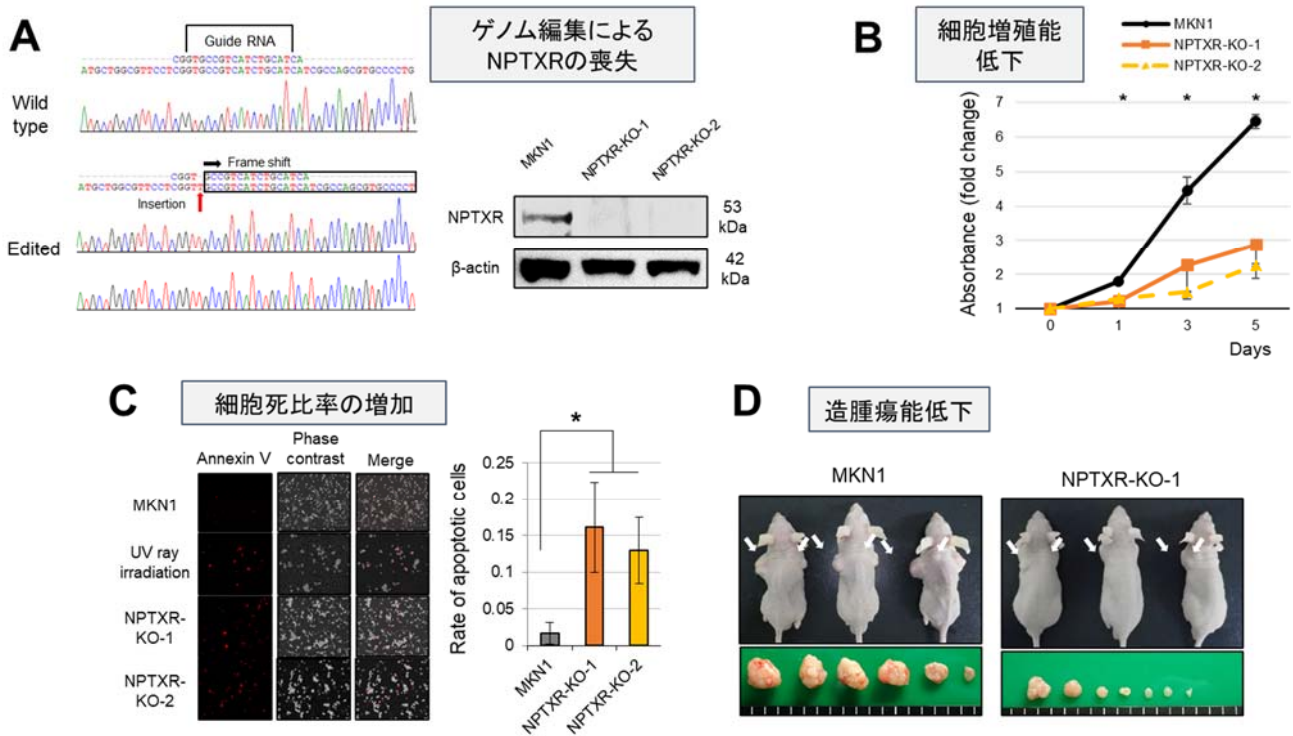


図 1：ゲノム編集による NPTXR のノックアウト (A) と、それによる胃がん細胞株の増殖能低下 (B)、胃がん細胞株のアポトーシス細胞比率増加 (C)、マウス皮下腫瘍モデルでの造腫瘍能の低下 (D)。MKN1;未処理胃がん細胞, NPTXR-KO; NPTXR ノックアウト胃がん細胞。

NPTXR 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考案しました。NPTXR 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選定しました (図 2B)。抗 NPTXR モノクローナル抗体は、試験管内で胃がん細胞の増殖を抑制し (図 2C)、その効果は抗がん剤 5-FU との併用で相乗的に上昇しました (図 2D)。また同抗体を、マウスの腹腔内にごがん細胞を移植した腹膜転移モデル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)。中には、転移が全く形成されないマウスも見られました。

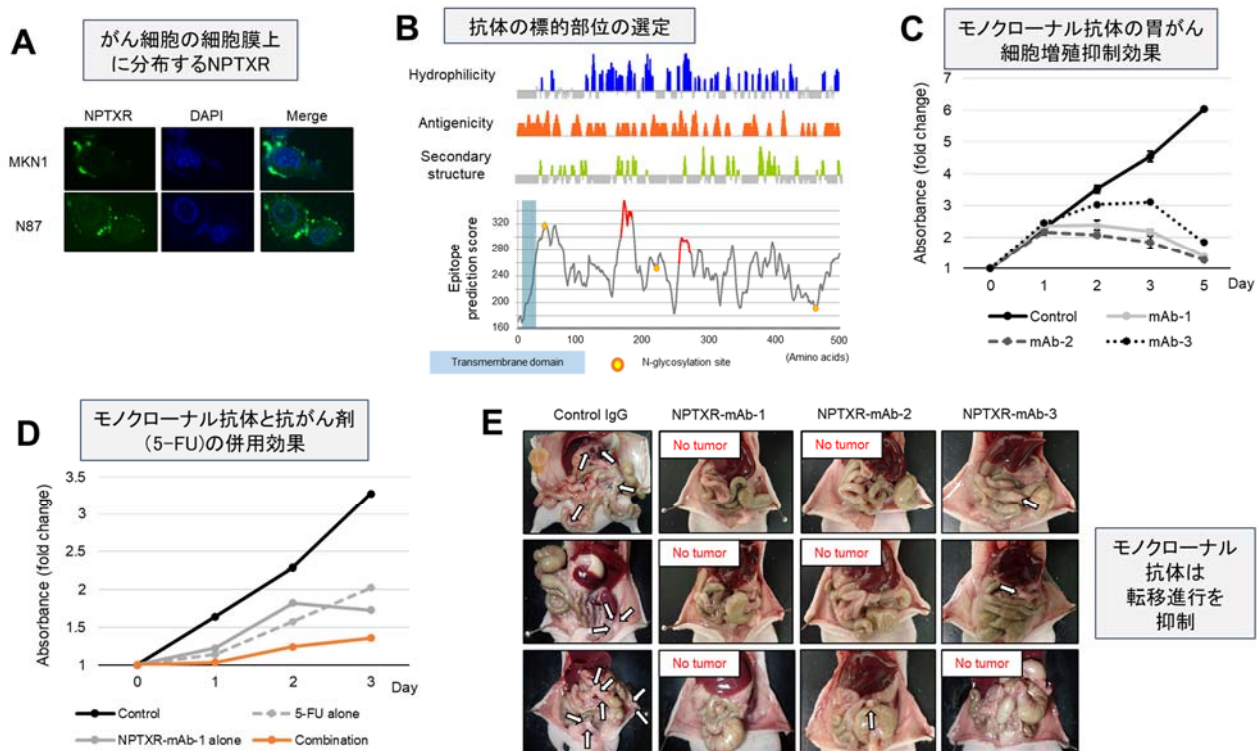


図 2：蛍光細胞染色による胃がん細胞での NPTXR の局在 (A)。抗原性予測による標的部位の選定 (B)。抗 NPTXR モノクローナル抗体の胃がん細胞増殖抑制効果 (C) と、抗がん剤との併用効果 (D)。マウス腹膜転移モデルに対する抗 NPTXR 抗体の効果 (E)。mAb; モノクローナル抗体。

作用メカニズムを明らかにするために実施した細胞内シグナルの解析により、NPTXR を阻害することでがんの悪性度に強く関与する PI3K-AKT-mTOR シグナルや FAK-JNK シグナルが不活性化していることが分かりました (図 3A)。実際の胃がん症例で切除した胃がん組織中の NPTXR 発現を調べると、その発現量は転移や切除後再発を伴っている胃がんで上昇していました (図 3B)。また、汎用性の高い免疫染色法を用いることでも、明瞭に NPTXR 発現の陽性、陰性が判定可能でした (図 3B)。また、NPTXR を減弱することが生体にどのような影響を与えるのかを調べるため、NPTXR ノックアウトマウスを解析しました。その結果、生殖、発育、臓器機能に異常がないことに加え (図 3C)、名古屋大学神経内科学教室の勝野雅央教授、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に重大な影響を与える危険性は低いと考えられました。

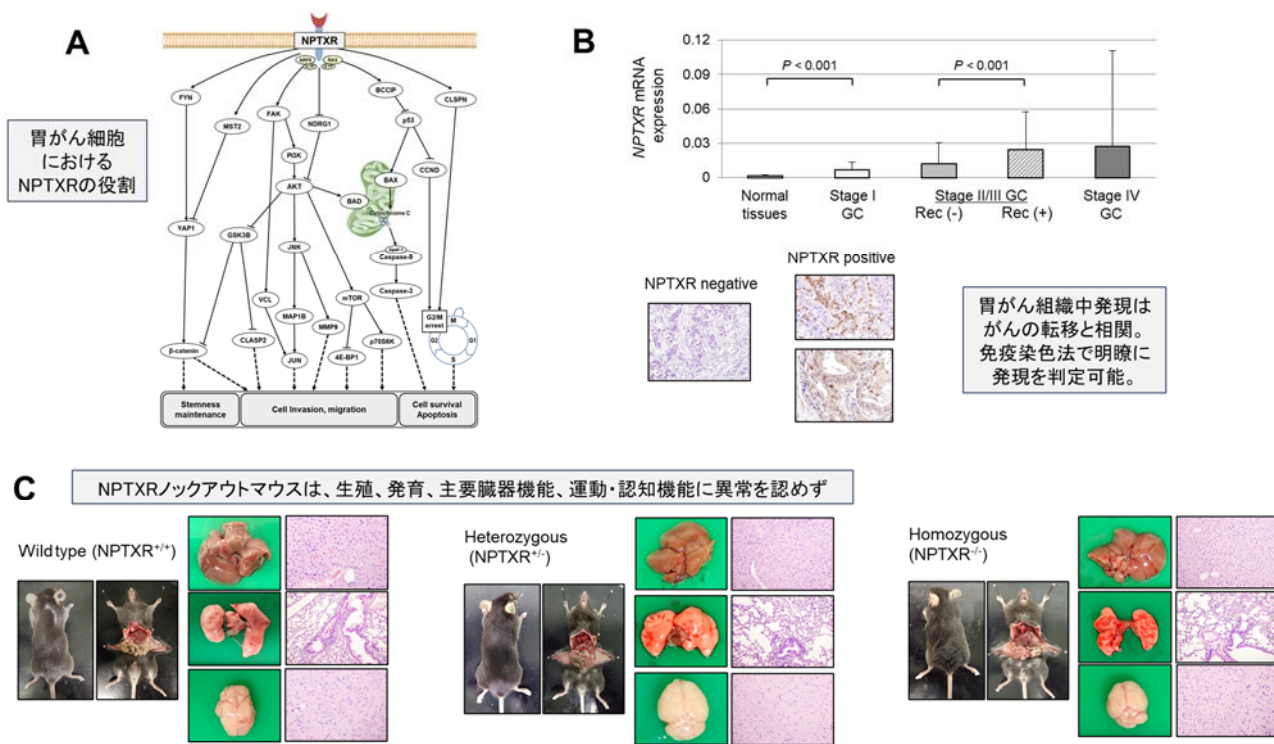


図 3：胃がんにおける NPTXR の役割を示す図 (A)。実際の症例での胃がん組織中 NPTXR 発現 (B)。NPTXR ノックアウトの外観、開腹所見、肝、肺、脳の肉眼および顕微鏡所見 (C)。GC；胃がん、Rec；切除後再発。

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。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 NPTXR 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。その組織中発現が実際のがん転移に相関しており、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。抗 NPTXR モノクローナル抗体は、作用メカニズムが既存の全ての分子標的治療薬と全く異なるため、完全に新しい治療薬となります。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、NPTXR が高発現している乳がん、大腸がん、膵がん、肺がん、食道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、neuronal pentraxin receptor 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 neuronal pentraxin receptor）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。

※6 コンパニオン診断法

医薬品の効果や副作用を投薬前に予測するために行なわれる検査のことで、個人の反応性を事前に判定できるため個別化治療に不可欠とされています。

5. 発表雑誌

掲雑誌名：Molecular Cancer

論文タイトル：Therapeutic monoclonal antibody targeting of neuronal pentraxin receptor to control metastasis in gastric cancer

著者：Mitsuro Kanda,¹ Dai Shimizu,¹ Koichi Sawaki,¹ Shunsuke Nakamura,¹ Shinichi Umeda,¹ Takashi Miwa,¹ Haruyoshi Tanaka,¹ Chie Tanaka,¹ Masamichi Hayashi,¹ Yohei Iguchi,² Suguru Yamada,¹ Masahisa Katsuno,² and Yasuhiro Kodera¹

所属：¹Department of Gastroenterological Surgery (Surgery II), Nagoya University Graduate

School of Medicine, Nagoya, Japan

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

DOI : 10.1186/s12943-020-01251-0

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Mo_Ca_200827en.pdf