

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	抗ヒトASCT2抗体KM8094の胃がんにおける薬効および作用機序解析
Title(English)	Evaluation of the efficacy and the molecular mechanism of KM8094, an anti- human ASCT2 antibody, as a therapeutic agent for gastric cancer
著者(和文)	長内綾
Author(English)	Aya Osanai
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11163号, 授与年月日:2019年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中村 聡,丹治 保典,和地 正明,福居 俊昭,八波 利恵
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11163号, Conferred date:2019/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース
学生氏名： Student's Name	長内 綾	

申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	中村 聡	
指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

がん細胞は、増殖や生存維持のためにグルタミンを活発に取り込んでいる。取り込まれたグルタミンは、エネルギー産生やアミノ酸、核酸などの生合成、抗酸化物質であるグルタチオン (GSH) の新生に働く。ASCT2 (別名 SLC1A5) は、Na⁺イオン共輸送型中性アミノ酸トランスポーターであり、がん細胞でグルタミン取り込みを担う。ASCT2 は、様々ながん種で高発現しがんの悪性度と相関することが報告されていることから、がん治療の標的分子として近年注目されている。胃がんはがん死亡原因の第三位を占める。胃がんは、複数の治療薬が開発されているものの現時点で完全治癒は困難であることから、依然アンメットメディカルニーズの高い疾患である。KM8094 はヒト ASCT2 に特異的に結合するヒト化抗ヒト ASCT2 抗体である。また、KM8094 の重鎖定常領域は IgG1 型であり、Fc 部分に結合するアスパラギン結合型糖鎖が脱フコース化されていることで高い抗体依存性細胞傷害活性 (ADCC) を有するポテリジェント抗体でもある。以上の背景から、本研究では KM8094 が胃がん治療薬として臨床に応用可能であるかを検証するため、胃がん検体やヒト胃がん細胞株を用いて KM8094 の薬効と作用機序を検討した。

第二章では、ヒト胃がん細胞における ASCT2 の機能解析を行った。ASCT2 はヒト胃がん組織の腫瘍部位やヒト胃がん細胞で高発現していることが確認された。ヒト胃がん細胞株で ASCT2 をノックダウンしたところ、細胞内へのグルタミンの取り込みとグルタミン依存的な細胞増殖が抑制された。これらのことから、ASCT2 はグルタミンの取り込みに働くことで胃がん細胞の増殖に寄与することが示唆された。

第三章では、ヒト胃がん細胞における KM8094 の in vitro 作用機序を調べた。ヒト胃がん細胞株を KM8094 で処理した結果、SNU-16 細胞を含む複数株において細胞増殖が抑制された。そこで、SNU-16 細胞を用いて KM8094 の作用機序を解析した。細胞周期およびアポトーシス解析では、KM8094 により G1 期での細胞周期停止やアポトーシスの誘導がみられた。また、安定同位体 ¹³C₅ で標識したグルタミンを用いた代謝解析では、KM8094 により細胞内へのグルタミン取り込みおよびグルタミン酸と GSH の生成が抑制された。KM8094 の酸化ストレスに対する影響を検討した結果、KM8094 により細胞内の活性酸素種 (ROS) 産生が亢進し、それは N-アセチルシステイン (NAC) 処理によりキャンセルされた。さらに、KM8094 による細胞増殖抑制効果も NAC 処理によりキャンセルされた。これらのことから、KM8094 の細胞増殖抑制機序として、ASCT2 の機能阻害によりグルタミン取り込みと GSH 生成を抑制し酸化ストレスを亢進させることで、G1 期での細胞周期停止やアポトーシスを誘導することが推察された。また、KM8094 は SNU-16 細胞に対して ADCC 活性を示した。以上より、KM8094 は、ASCT2 の機

能阻害活性と ADCC 活性により胃がん細胞に対して抗腫瘍効果を示すことが示唆された。

第四章では、ヒト胃がん細胞ゼノグラフトマウスにおける KM8094 の in vivo 抗腫瘍効果を調べた。ヒト胃がん細胞株をマウスの皮下に移植したゼノグラフトマウスに KM8094 を投与した結果、SNU-16 細胞を含む複数株のゼノグラフトマウスで in vivo 腫瘍増殖が抑制された。また、SNU-16 ゼノグラフトマウスで胃がん標準治療薬の一つであるドセタキセルと KM8094 の併用療法を検討したところ、併用療法は単剤に比して強い in vivo 抗腫瘍効果を示した。

第五章では、胃がん患者腫瘍移植 (PDX) マウスにおける KM8094 の in vivo 抗腫瘍効果を調べた。PDX マウスは、がん患者の腫瘍組織の多様性を維持した腫瘍を形成するため、臨床外挿性の高いがんモデルである。そこで、KM8094 の臨床応用への可能性を検証するため、胃がん PDX マウスに KM8094 を投与した。その結果、KM8094 は一部の胃がん PDX マウスにおいて in vivo 腫瘍増殖を抑制した。

第六章では、PDX マウスを用いた KM8094 の効果予測マーカーの探索を行った。KM8094 の in vivo 抗腫瘍効果が認められた PDX マウス群と認められなかった PDX マウス群間で、腫瘍組織中の遺伝子発現および代謝物プロファイルを比較解析した。その結果、両群間ではいくつかの遺伝子と代謝物について発現量や物質質量に違いがみられた。このことから、これらの因子は KM8094 の薬効を予測するバイオマーカー候補となる可能性が示唆された。

第二章から第六章の結果より、KM8094 は ASCT2 の機能阻害活性と ADCC 活性を作用機序とする有望な胃がん治療薬候補品であると考えられた。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース：	生命理工学	系
Department of, Graduate major in	生命理工学	コース
学生氏名：	長内 綾	
Student's Name		

申請学位(専攻分野)：	博士	(工学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員(主)：	中村 聡	
Academic Supervisor(main)		
指導教員(副)：		
Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Glutamine is a major nutrient for cancer cells during rapid proliferation. Alanine-serine-cysteine (ASC) amino acid transporter 2 (ASCT2; SLC1A5) is a Na⁺-coupled neutral amino acid transporter and known as a major glutamine transporter in cancer cells. Indeed, the expression level of ASCT2 is up-regulated in a variety of cancerous tissues including gastric cancer. Gastric cancer is the third leading cause of global cancer mortalities. Since gastric cancer patients diagnosed at advanced stages of the disease have limited treatment options, finding of more beneficial therapeutic strategies against gastric cancer is urgently required. In this study, I evaluated the efficacy of a novel anti-ASCT2 humanized monoclonal antibody, KM8094, which binds to an extracellular domain of ASCT2, as a therapeutic agent against gastric cancer and investigated the molecular mechanism underlying the effect of KM8094. First, ASCT2 was found to be highly expressed in cancer tissues derived from gastric cancer patients. Next, I performed in vitro studies using multiple gastric cancer cell lines and observed that several gastric cancer cells expressing ASCT2 showed glutamine-dependent cell growth, which was repressed by KM8094. I found that KM8094 inhibited the glutamine uptake, leading to the reduction of glutathione level and the elevation of oxidative stress. KM8094 suppressed the cell cycle progression and increased the apoptosis. Furthermore, KM8094 exerted antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC) against human gastric cancer cells in vitro. Finally, in vivo studies revealed that KM8094 suppressed tumor growth in both gastric cancer xenografts and patient-derived xenograft (PDX) mouse models. This effect was enhanced by docetaxel, one of the agents commonly used in gastric cancer therapy. I also explored predictive biomarker candidates of KM8094 via multi-omics analysis on the PDX models and a few candidates were selected by genomic and metabolomic analyses. Thus, my findings suggest that KM8094 is a potential new therapeutic agent for gastric cancer, which blocks the ASCT2 mediated glutamine metabolism and possesses ADCC activity.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).