

2017年12月20日

報道関係各位

消化管間質細胞腫（GIST）の新たな治療戦術の開発
～ゴルジ体におけるイマチニブ耐性型 Kit シグナルに対する
細胞内輸送阻害剤 M-COPA による抑制～

東京理科大学 生命医科学研究所・教授 安部 良
東京理科大学 理学部応用化学科・教授 椎名 勇

研究の要旨

東京理科大学 生命医科学研究所 安部良教授、小幡裕希講師、理学部第一部応用化学科 椎名勇教授、国立がん研究センター西田俊朗中央病院院長は、新規ゴルジ体機能阻害剤 M-COPA(2-メチルコプロフィリンアミド[AMF-26])が、消化管間質細胞腫 (gastrointestinal stromal tumour: GIST) のゴルジ体で起こる Kit のがんシグナルを抑制することを見出しました (図 1)。この阻害戦術は、既存の治療薬である Kit 阻害剤イマチニブに耐性化した GIST に著効を示しました。M-COPA 及びその誘導体は現在、胃がん (MET 陽性)・肺腺がん (EGFR 変異陽性) の治療薬として、研究開発が産学連携で行われていますが、本研究結果により M-COPA 及びその誘導体が GIST に対しても治療薬の候補となることが示されました。

・本研究結果は **Cancer Letters** 誌に 2018 年 2 月 28 日付けで掲載される予定で、
オンライン版は、本年 11 月 28 日に公開されています。

【研究の背景】

GIST は、胃・腸の筋層に発症する肉腫で、日本では 1 年間に 2000 人が発症します。予後不良のがんでしたが、1998 年、85% の GIST で、細胞増殖を司る Kit チロシンキナーゼの活性化変異が発見され、治療の突破口が開かれました。すなわち、Kit の機能を選択的に抑制する経口薬イマチニブ (商品名グリベック、ノバルティスファーマ) が開発され、患者寿命は飛躍的に伸びました。このような原因蛋白質をターゲットとした治療法は、分子標的治療と呼ばれています。このように、GIST はイマチニブで解決されたように思われましたが、以下の新たな課題が生じています。イマチニブを 2~3 年投与すると、突然、効果が無くなり、そのほとんどのケースでイマチニブ抵抗型変異を獲得した Kit の発現が確認され、このイマチニブ耐性型 Kit を抑制するための新たな戦術が求められています。

本学の研究グループは、これまでに、Kit 変異が原因のがんに着目して研究を進めており、マスト細胞白血病や GIST のイマチニブ耐性型 Kit がエンドリソソームやゴルジ体でがんシグナルを発信していることを見出していました (文献 1,2)。さらに、本学の椎名教授が全合成に成功した蛋白質輸送ブロッカー: 2-methylcoprophilinamide (M-COPA) が、Kit のシ

グナルの場への移行阻害を介して、マスト細胞白血病の無限増殖を抑制することを報告しました（文献 3）。そこで、本研究では、M-COPA がイマチニブ耐性 GIST における Kit シグナルをブロックして無限増殖を抑制できるのかについて検討し、新たなタイプの GIST の治療戦術の構築を試みました。

【研究成果の概要】

本研究では、患者から樹立された GIST 細胞株（イマチニブ耐性細胞株）に対して M-COPA を処理し、細胞内イメージングと生化学手法で変異型 Kit の細胞内局在の変化とがんシグナルへの影響を調べました。GIST において、イマチニブ耐性 Kit は、ゴルジ体に集積して、そのみでがんシグナルを起こしますが（文献 2, 図 2A）、M-COPA を処理した細胞におけるイメージングを試みたところ、明らかに Kit のゴルジ局在が減少し、小胞体への停留が認められました（図 3A）。この時の生化学的解析では、Kit による Akt, STAT5, Erk の活性化、すなわちがんシグナルが、顕著に抑制されることを見出しました（図 3B）。これらの結果から、M-COPA は、イマチニブ耐性型 Kit のシグナルの場であるゴルジ体への移行をブロックし、これまで知られていなかった、新たな機序でがんシグナルを抑制することが示されました。また、我々は、M-COPA を用いた解析により、小胞体に Kit 変異体を留めることで、Kit の活性化の指標である自身のリン酸化が減衰していることが明らかにしました。さらに、がん細胞の転移・浸潤の指標である足場非依存性の増殖における M-COPA の影響を調べたところ、M-COPA は、イマチニブ耐性 GIST の増殖を有意に抑制しました（図 3C）。

本研究成果は、イマチニブ耐性 GIST の新たな治療戦術を示唆するものです（図 1）。また、これまで、変異チロシンキナーゼに対する阻害方法は、イマチニブのようなチロシンキナーゼ阻害剤や、抗体医薬品が主なものでしたが、本研究は、第三の阻害方法として、「細胞内輸送のコントロール」を提案するものとなりました。

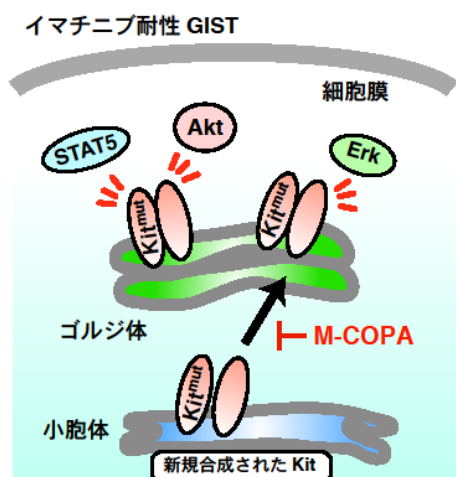


図 1. GIST のイマチニブ耐性 Kit のゴルジシグナルに対する M-COPA の作用。GIST において、Kit はゴルジ体のみで Akt, STAT5, Erk を活性化する。M-COPA は、Kit の小胞体からゴルジ体への輸送をブロックするので、Kit のシグナルの場への移行が起こらず、GIST の増殖を抑制する。

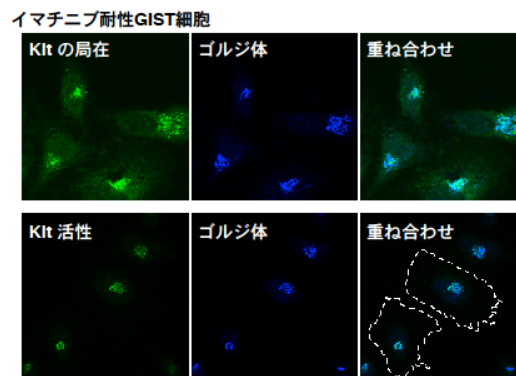


図 2. GIST におけるイマチニブ抵抗型 Kit の局在。(上段) Kit (緑), ゴルジ体 (青) を抗体で染色し、共焦点レーザー顕微鏡によってイメージングをおこなった。Kit の局在は、ゴルジ体の分布とよく一致する。(下段) Kit の活性のイメージング。イマチニブ耐性型 Kit の活性は、ゴルジ体のみに認められる。

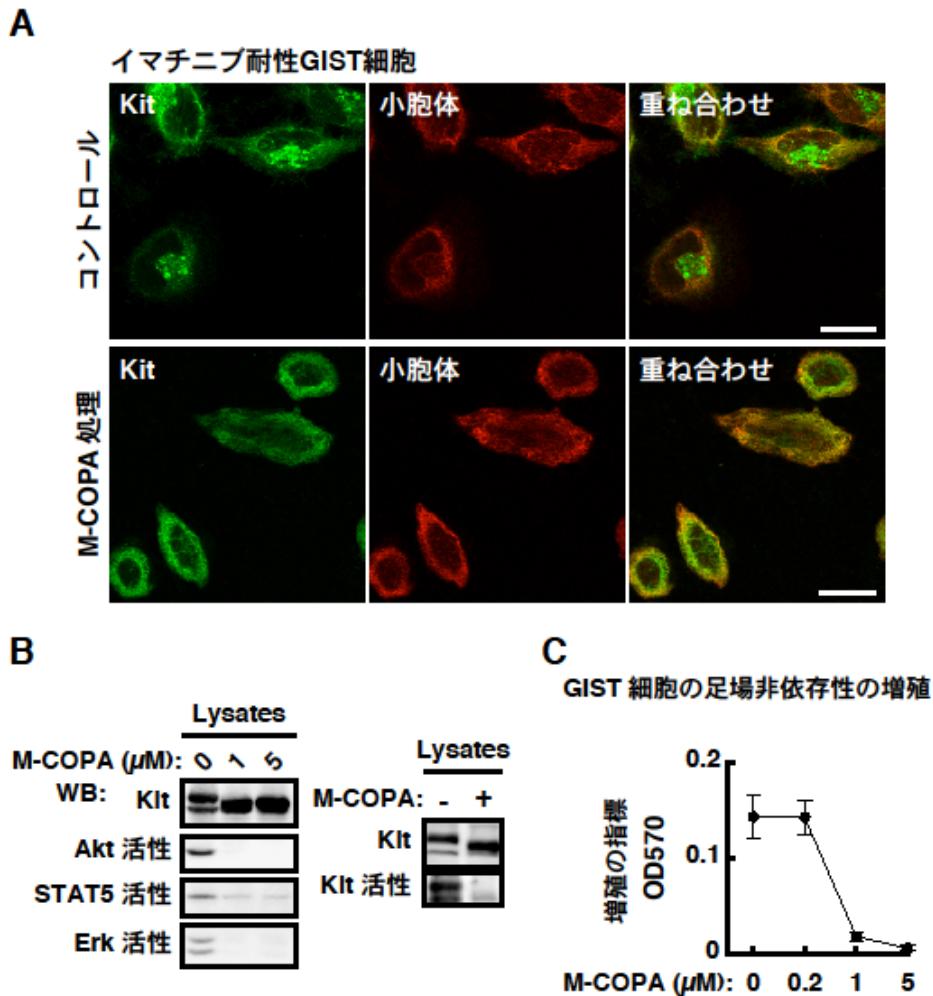


図 3. GIST のイマチニブ抵抗型 Kit の局在およびがんシグナルにおける M-COPA の影響。(A) M-COPA は、Kit を小胞体に停留させ、ゴルジ局在を有意に減少させる。(B) M-COPA により、Kit 下流の Ak, Erk, STAT5 の活性化が抑制される。(C) イマチニブ耐性 GIST の無限増殖は、M-COPA の量依存的に抑制される。

【今後の展望】

今後は、GIST を接種したマウスにおける M-COPA の治療効果を調べる予定です。また、生物学的安定性や阻害効果を改良した M-COPA 類縁体についても、GIST の増殖への影響を調べます。さらに、分子標的薬への耐性化は、急性骨髄性白血病などの GIST 以外のがんにおけるチロシンキナーゼ変異体についても認められるため、それらのがんの増殖における M-COPA およびその類縁体の阻害効果の検討を計画しています。

【論文タイトル】

Oncogenic Kit signalling on the Golgi is suppressed by blocking secretory trafficking with M-COPA in gastrointestinal stromal tumours.

Obata, Y., Horikawa, K., Shiina, I., Takahashi, T., Murata, T., Tasaki, Y., Suzuki, K., Yonekura, K., Esumi, H., Nishida, T. & Abe, R.

Cancer Letters, 415, 1-10 (2018)

【引用文献】

1. Oncogenic Kit signals on endolysosomes and endoplasmic reticulum are essential for neoplastic mast cell proliferation.

Obata, Y., Toyoshima, S., Wakamatsu, E., Suzuki, S., Ogawa, S., Esumi, H. & Abe, R.
Nature Communications. 5, 5715 (2014)

2. Oncogenic signaling by Kit tyrosine kinase occurs selectively on the Golgi apparatus in gastrointestinal stromal tumors.

Obata, Y., Horikawa, K., Takahashi, T., Akieda, Y., Tsujimoto, M., Fletcher, J.A., Esumi, H., Nishida, T. & Abe, R.

Oncogene. 36, 3661-3672 (2017)

3. M-COPA suppresses endolysosomal Kit-Akt oncogenic signalling through inhibiting the secretory pathway in neoplastic mast cells.

Hara, Y., Obata, Y., Horikawa, K., Tasaki, Y., Suzuki, K., Murata, T., Shiina, I. & Abe, R.

PLOS ONE, 12, e0175514. (2017)

【本研究内容に関するお問合せ先】

■東京理科大学 生命医科学研究所・教授 安部 良

Tel : 0471-21-4052

e-mail : rabe@rs.noda.tus.ac.jp

東京理科大学 理学部応用化学科・教授 椎名 勇

Tel : 03-5228-8263

e-mail : shiina@rs.kagu.tus.ac.jp

*本資料中の図等のデータはご用意しております。上記研究者までご連絡頂ければ幸いです。