

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医療分野研究成果展開事業

産学連携医療イノベーション創出プログラム (ACT-MS)

(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer

ACceleration Transformative research for Medical innovation (ACT-MS)

研究開発課題名：(日本語) LSR を標的とした新規作用機序 (脂質代謝制御) を有する画期的抗癌抗体療法による卵巣癌治療法の開発

(英語) Development of LSR targeted innovative anti-tumor antibody therapeutics with unique mechanism (regulation of lipid metabolism)

研究開発担当者 (日本語) 高知大学教育研究部医療学系臨床医学部門 教授 仲 哲治

所属 役職 氏名：(英語) Kochi University, Research and Education Faculty, Medical Sciences Cluster, Clinical Medicine Unit Professor, Tetsuji Naka

実施期間：平成 28 年 10 月 13 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) LSR を標的とした抗体医薬による脂質制御を介した進行期卵巣癌治療法の開発

開発課題名：(英語) Development of LSR targeted innovative anti-tumor antibody therapeutics against advanced ovarian cancer with regulation of lipid metabolism

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者の仲らが同定した卵巣癌抗原である lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR) はリポタンパク質受容体として機能する。LSR を高発現する卵巣癌患者は低発現患者と比較して予後不良であるため、LSR は卵巣癌の病態に関わる可能性が示唆される。すでに研究開発代表者等は LSR に対するモノクローナル抗体の開発に成功している。本研究では、LSR を標的とした脂質代謝を制御することによる新規な作用機序を有する卵巣癌に対する抗癌剤の開発を目的とした。本年度においては、(1) 抗 LSR 抗体が卵巣癌に対して血中の脂質の取り込みを遮断することで抗腫瘍効果を発揮すること、(2) マウスを用いて抗 LSR 抗体の安全性試験を実施すること、(3) LSR の発現が陽性の卵巣癌患者組織を移植した

patient tumor-derived xenograft (PDX) モデルの開発を目的とした。

研究開発代表者が単離した抗 LSR モノクローナル抗体を、セットアップ企業の中外製薬株式会社にて非臨床研究用に改変し、ADCC など抗体のエフェクター作用を欠損させた抗 LSR 抗体クローン 27-6mF18 を提供して頂いた。

【抗 LSR 抗体のリポタンパク質阻害活性試験】

抗 LSR 抗体クローン 27-6mF18 を用いて *in vitro* で LSR 陽性卵巣癌細胞株に VLDL を添加したときの癌細胞内への VLDL 取り込み阻害活性を酸素消費量の測定により確認した。また、低グルコース条件下で VLDL 添加により示された LSR 陽性卵巣癌細胞株に対する増殖促進作用に対して、抗 LSR モノクローナル抗体が細胞増殖阻害作用を示す事も *in vitro* で明らかにした。

【抗 LSR 抗体の安全性試験】

抗 LSR モノクローナル抗体がマウス LSR に交叉反応を示したため、マウスを用いて抗 LSR モノクローナル抗体の安全性試験を実施した。C57BL/6J、8 週齢マウスに抗 LSR モノクローナル抗体およびコントロール抗体を 1mg ずつ腹腔内投与し、7 日後に採血した。血清サンプルを用いて血液生化学的検査を行った結果、いずれの項目の測定結果においても重篤な毒性は認められなかった。

【LSR 陽性卵巣癌 PDX マウスの開発】

研究開発代表者等が同定した卵巣癌抗原 LSR に対する抗 LSR 抗体が卵巣癌に対して血中の脂質の取り込みを遮断することで抗腫瘍効果を発揮することを証明するには、卵巣癌細胞株のゼノグラフトモデルだけでなく、LSR 陽性の卵巣癌組織を超免疫不全マウス (NOG マウス) の皮下に移植した patient tumor-derived xenograft (PDX) モデルも用いて証明する必要がある。平成 28 年度においては、大阪大学医学部産婦人科教室にて手術時に得られた卵巣癌腫瘍組織を NOG マウスの皮下に移植し、卵巣癌 PDX を 3 系統以上樹立することを目的とした。2017 年 3 月時点で、卵巣癌 PDX を独自に 3 系統樹立することに成功した。さらに、卵巣癌 PDX は 3 系統すべてにおいて腫瘍組織に LSR 発現が陽性であることを免疫組織化学染色法にて明らかにした。卵巣癌は組織型が多様であるため、より多数の卵巣癌 PDX の樹立を継続している。樹立した卵巣癌 PDX は平成 29 年度に抗 LSR 抗体が脂質取り込み阻害を介して抗腫瘍効果を発揮する事を証明する研究に用いる。

以上より、本年度の実施内容を達成した。平成 29 年度には抗 LSR 抗体による脂質代謝制御による抗腫瘍効果について *in vivo* で検証を行う。

Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR), which identified as a novel ovarian cancer antigen by the principal investigator (PI) Naka, is known to be lipoprotein receptor. Because patients with ovarian cancer expressing high levels of LSR associated with poor prognosis compared to LSR low expressing patients, expression of LSR has a potential to be involved in the progression of ovarian cancer. PI Naka has already successfully developed anti-LSR monoclonal antibodies. In this study, we aimed to develop novel anti-cancer drug targeting LSR *via* regulating lipid metabolism. In this fiscal year, we aimed to perform following issues. (1) To demonstrate anti-tumor effect of anti-LSR antibody by blocking uptake of blood lipid against ovarian cancer. (2) To evaluate safety of anti-LSR antibody against mice. (3) To develop LSR positive patient-derived tumor

xenografts (PDX) of ovarian cancer. To perform this study, anti-LSR antibody clone 27-6 mF18 without ADCC activity was provided by Chugai Pharmaceutical Company Ltd, a set-up company of this project, modifying anti-LSR antibody clone 27-6 originally developed by PI Naka.

[Inhibition of lipoprotein uptake by anti-LSR antibody]

We demonstrated that anti-LSR antibody clone 27-6 mF18 inhibited the uptake of VLDL into the LSR positive ovarian cancer cell line by monitoring oxygen consumption. In addition, we also demonstrated VLDL increased growth of LSR positive ovarian cancer in low glucose containing medium and anti-LSR antibody clone 27-6 mF18 inhibited the growth induced by VLDL *in vitro*.

[Safety evaluation of anti-LSR antibody]

We found that anti-LSR antibody cross-reacted with mouse LSR. Therefore, we evaluated the safety of anti-LSR antibody clone 27-6 mF18 against mice. One milligram of anti-LSR antibody clone 27-6 mF18 or control IgG was intraperitoneally injected to C57BL/6 mice and blood were collected on day 7. By serum chemistry studies, serious toxicities were not observed in measured inspection items.

[Development of LSR positive ovarian cancer PDX models]

To demonstrate the anti-tumor effect of anti-LSR antibody against LSR positive ovarian cancer by blocking uptake of blood lipid, it is necessary to demonstrate using not only LSR positive ovarian cancer xenograft models but also using LSR positive ovarian cancer PDX models implanting dissected ovarian cancer at surgery into the super immune-deficient (NOG) mice. In 2016, we aimed to develop ovarian cancer PDX models more than three strains. We successfully developed three strains of ovarian cancer PDX and all of these PDX models were confirmed LSR positive by immunohistochemistry. Because ovarian cancer has various histological types, we are continuing development of novel ovarian cancer PDX. In 2017 these PDX models were used to evaluate the drug efficacy of anti-LSR antibody clone 27-6 mF18 by blocking lipid uptake.

In this fiscal year, we achieved the milestone of our project. In 2017 we assess the antitumor effect of anti-LSR antibody by regulating anti-tumor effect *in vivo*.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 0件）

該当無し

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

関連案件

1. LSR confers a protective role in ovarian cancer under hypoxic condition in the absence of glucose. 口頭, Takahashi Y, Serada S, Nakagawa S, Matsuzaki S, Hiramatsu K, Fujimoto M, Yoshino K, Ueda Y, Kimura T, **Naka T.** 第 75 回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜 2016/10/7, 国内.
2. Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR) can be a new therapeutic target for ovarian cancer. 口頭, Matsuzaki S, Hiramatsu K, Serada S, Nakagawa S, Matsuzaki S, Fujimoto M, Ueda Y, Yoshino K, Enomoto T, Kimura T, **Naka T.** 第 75 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜, 2016/10/7, 国内.
3. LSR suppresses glucose deprivation-mediated apoptosis in ovarian cancer cells via activating AMPK signaling. ポスター, Takahashi Y, Serada S, Fujimoto M, **Naka T.** 第 39 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 2016/12/1

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当無し

(4) 特許出願

該当無し

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医療分野研究成果展開事業

産学連携医療イノベーション創出プログラム (ACT-MS)

(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer

ACceleration Transformative research for Medical innovation (ACT-MS)

研究開発課題名：(日本語) LSR を標的とした新規作用機序 (脂質代謝制御) を有する画期的抗腫抗体療法による卵巣癌治療法の開発

(英語) Development of LSR targeted innovative anti-tumor antibody therapeutics with unique mechanism (regulation of lipid metabolism)

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 医薬基盤研究所
客員研究員 世良田 聡

所属 役職 氏名：(英語) National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition,
Invited Researcher, Satoshi Serada

実施期間：平成 28 年 10 月 13 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) LSR による卵巣癌の増殖機序の解明

開発課題名：(英語) Elucidation of growth promotive mechanisms by LSR in ovarian cancer.

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：高知大学教育研究部医療学系臨床医学部門・教授・仲哲治 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 0 件)

該当無し

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

関連案件

1. LSR confers a protective role in ovarian cancer under hypoxic condition in the absence of glucose. 口頭, Takahashi Y, **Serada S**, Nakagawa S, Matsuzaki S, Hiramatsu K, Fujimoto M, Yoshino K, Ueda Y, Kimura T, Naka T. 第 75 回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜 2016/10/7, 国内.
2. Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR) can be a new therapeutic target for ovarian cancer. 口頭, Matsuzaki S, Hiramatsu K, **Serada S**, Nakagawa S, Matsuzaki S, Fujimoto M, Ueda Y, Yoshino K, Enomoto T, Kimura T, Naka T. 第 75 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜, 2016/10/7, 国内.
3. LSR suppresses glucose deprivation-mediated apoptosis in ovarian cancer cells via activating AMPK signaling. ポスター, Takahashi Y, **Serada S**, Fujimoto M, Naka T. 第 39 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 2016/12/1

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当無し

(4) 特許出願

該当無し

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医療分野研究成果展開事業

産学連携医療イノベーション創出プログラム (ACT-MS)

(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer

ACceleration Transformative research for Medical innovation (ACT-MS)

研究開発課題名：(日本語) LSR を標的とした新規作用機序 (脂質代謝制御) を有する画期的抗癌抗体療法による卵巣癌治療法の開発

(英語) Development of LSR targeted innovative anti-tumor antibody therapeutics with unique mechanism (regulation of lipid metabolism)

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科
教授 木村 正

所属 役職 氏名：(英語) Osaka university graduate school of medicine
Professor, Tadashi Kimura

実施期間：平成 28 年 10 月 13 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 卵巣癌 PDX モデルの開発

開発課題名：(英語) Development of patient-derived xenografts of ovarian cancer.

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者 (課題リーダー)：高知大学教育研究部医療学系臨床医学部門・教授・仲哲治 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 0 件)

該当無し

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

関連案件

1. LSR confers a protective role in ovarian cancer under hypoxic condition in the absence

of glucose. 口頭, Takahashi Y, Serada S, Nakagawa S, Matsuzaki S, Hiramatsu K, Fujimoto M, Yoshino K, Ueda Y, **Kimura T**, Naka T. 第 75 回日本癌学会学術総会 パシフィコ横浜 2016/10/7, 国内.

2. Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR) can be a new therapeutic target for ovarian cancer. 口頭, Matsuzaki S, Hiramatsu K, Serada S, Nakagawa S, Matsuzaki S, Fujimoto M, Ueda Y, Yoshino K, Enomoto T, **Kimura T**, Naka T. 第 75 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜, 2016/10/7, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当無し

(4) 特許出願

該当無し