

氏名	黒田 順士		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 10670 号		
学位授与年月	令和 5 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	膵がん細胞表面糖鎖を標的とした治療法の開発－ レクチンを用いた光線療法－		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	佐藤 豊実
副査	筑波大学教授	博士（医学）	渋谷 和子
副査	筑波大学講師	博士（医学）	長谷川 直之
副査	筑波大学講師	博士（医学）	松井 裕史

論文の内容の要旨

黒田順士氏の博士学位論文は、膵がん細胞表面糖鎖を標的としたレクチンを用いた光線療法による治療法の開発を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

（目的）著者は、難治性がんの一つとして知られ予後不良である膵がんに対する新規治療標的の開発が急務であり、分子標的治療薬の開発が試みられているが、これまで有効な治療成績が得られていないのが現状を鑑み、本研究を行ったものである。著者が所属する研究室では、細胞表面糖鎖が有望ながん治療の標的になり得るとして、糖鎖に結合活性を有するレクチンに着目した経緯があり、rBC2LCN レクチンが膵がんの特異的結合性を有することを示し、薬剤担体としての有効性を証明していた。一方で、このレクチンの治療応用に向けては非標的毒性の最小限化が課題であり、著者は、光免疫療法

（photoimmunotherapy; PIT）のコンセプトを応用することが有力な戦略になり得るとの着想をえた。これは、IRDye700（IR700）という光感受性物質を結合させた IR700 複合体が細胞膜に結合した時のみ近赤外光により活性化され、細胞毒性を発揮するというものである。

著者は、rBC2LCN レクチン－IR700 複合体（rBC2-IR700）を合成し、これを用いた光線療法（lectin-based phototherapy: Lec-PT）の有効性を検討することを目的とした。

（対象と方法）著者はまず、ヒト膵がん細胞株 Capan-1（H type 3 糖鎖陽性）、SUIT-2（H type 3 糖鎖陰性）に対して、蛍光顕微鏡観察およびフローサイトメトリーを行い、*in vitro* での rBC2-IR700 の特異的結合性の確認を行っている。また、*in vitro* での Lec-PT の細胞毒性を、細胞膜の損傷を反映するヨウ化プロピジウム染色後のフローサイトメトリーで評価している。次いで著者は、細胞株由来および患者由来の異種皮下移植モデルマウスに対して尾静脈に rBC2-IR700 を 20 μ g 投与し、蛍光イメージングで標的腫瘍への集積および生体内分布を確認している。その上で著者は同モデルマウスに対して、① 治療なし（Control）；② rBC2-IR700 20 μ g 静脈投与のみ（rBC2-IR700）；③ 近赤外光 100 J/cm² 照射のみ（NIR light）；④ rBC2-IR700 20 μ g 投与後、近赤外光 100 J/cm² 照射（Lec-PT）の群分けを行い、*in vivo* での Lec-PT の抗腫瘍効果を検討した。さらには、GFP－luciferase を発現した Capan-1 細胞株（Capan-1-GFP-luc）を移植した膵がん同所移植モデルに対して Lec-PT を行い、ルシフェラーゼ活

性の定量化により、治療効果の確認を行っている。

(結果) 著者は、著者が合成した rBC2-IR700 が、in vitro においてその特異的結合性を示すことを確認し、Capan-1 細胞に対して、近赤外光の光量依存的に細胞毒性が増加することを明らかにした。また、著者は in vivo においても、皮下移植マウスに対する rBC2-IR700 投与後に、Capan-1 腫瘍および患者由来腫瘍への高い蛍光強度を検出し、特異的結合を明らかにした。その上で、同腫瘍モデルに対して rBC2-IR700 投与後 6 時間で近赤外光を照射 (Lec-PT) ところ、治療 (Lec-PT) 群において、腫瘍の増大を有意に抑制することを確認した。さらに、抑制効果は反復治療 (週 1 回、3 週間) によって、持続することも明らかにした。一方で、著者は rBC2-IR700 の生体内分布において、腎臓と肝臓への高い集積があり、標的外毒性のリスクがあることを確認したが、近赤外光に対して臓器を遮蔽することにより毒性が軽減されることを明らかにした。そこで、著者は膵がん同所移植モデルに対する Lec-PT では、非標的である腹腔内臓器を遮蔽して近赤外光照射を行い、治療 (Lec-PT) 群において、明らかな有害事象なく有意な治療効果があることを明らかにした。

(考察) 著者は、細胞株および患者由来の異種移植モデルを用いて、膵がんを標的とするレクチン-光感受性物質 (IR700) 複合体を開発し、その効果を検討した。その結果、著者は、膵がんマウスモデルにおいて、近赤外光照射後に腫瘍の縮小を認めた上、標的外毒性を示さないことを明らかにした。著者によると抗体を用いた光免疫療法においては、すでに頭頸部がんに対して EGFR を標的としたセツキシマブ-IR700 複合体が臨床応用されているが、膵がんにおける EGFR 発現率は低いとのことである。著者はその点において、膵癌への反応性レクチンを用いた IR700 複合体 (rBC2-IR700) は有力な治療薬候補になり得ると考察している。著者は、膵がんへの本治療法は、局所進行膵がんにおいて有効であると考え、術前治療において顕著な全身毒性を伴わずに腫瘍を減量することで、病理学的完全切除の可能性を高め、生存率の向上に寄与すると可能性を示した。

審査の結果の要旨

(批評)

著者は、膵がん標的レクチンである rBC2LCN の IR700 複合体を用いた光線療法への応用が、膵がんマウスモデルにおいて腫瘍の縮小に有効であることを明らかにした。著者は本研究結果によって、現状の抗体を用いた標的治療では治療困難ながんに対して、レクチンを用いた低毒性な治療が実用的かつ実現可能であることを示し、実臨床での新たな治療法の開発に大きく寄与する研究成果を挙げている。

令和 4 年 12 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。