

氏名（本籍）	橋本 あゆみ		
学位の種類	博 士 （生物科学）		
学位記番号	博 甲 第	7369	号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	ヒト化抗ヒト death receptor 5 抗体 CS-1008 の抗腫瘍効果と抗腫瘍メカニズムに関する研究		
主査	筑波大学教授	理学博士	中村 幸治
副査	筑波大学教授	工学博士	王 碧昭
副査	筑波大学教授	博士（学術）	中島 敏明
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	菊池 彰

## 論 文 の 要 旨

Tumor necrosis factor レセプタースーパーファミリーに属する death receptor 5 (DR5) は細胞にアポトーシスシグナルを伝達することが知られている。癌細胞株や臨床腫瘍検体において、DR5 発現は、高頻度で認められており、抗腫瘍薬の標的分子として注目されていた。

アゴニスト活性を有する新規ヒト化抗ヒト DR5 抗体である CS-1008 の抗腫瘍効果と作用メカニズムの解析を目的として、大きく分けて 2 つの研究を行なった。

第一に、CS-1008 が癌細胞および正常細胞に与える影響についての検証を行なった。マウス抗ヒト DR5 抗体である TRA-8 が白血病細胞株に対してアポトーシスを誘導し、抗腫瘍効果を発揮するという先行研究が報告されていた。しかし、これはマウス型の抗体で実施された研究であり、臨床応用可能なヒト化抗体における検証ではなかった。そこで、相補性決定領域移植法にて作製したヒト化抗体 CS-1008 を用いて、抗腫瘍効果を評価し、メカニズムの解明を進めた。

第二に、DR5 はアポトーシスシグナルを伝達するために多量体化を必要とするため、細胞傷害活性を評価することは難しいと考えた。そこで CS-1008 を抗 hIgG 抗体で架橋することを試み、ヒト癌細胞に対する細胞傷害活性を評価することに成功した。その結果、DR5 を発現していない癌細胞株に対して、CS-1008 は細胞傷害活性を示さず、DR5 を発現している癌細胞株に対してのみ細胞傷害活性を示し、その作用メカニズムはアポトーシスであることを実験的に立証した。一方、DR5 を発現している CS-1008 耐性の癌細胞株が存在することも判明し、アポトーシス耐性機序の存在が示唆された。DR5 の内在性リガンドである TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) がヒト初代肝細胞に対して細胞傷害活性を示すのに対し、CS-1008 はクロスリンク条件下でも初代肝細胞に対して細胞傷害活性を示さなかった。これらの結果から、CS-1008 が腫瘍選択的に作用することが示唆された。

CS-1008 と癌化学療法剤との併用療法について検討を行なった。DR5 を介したアポトーシスはいくつかの癌化学療法剤によって増強されるという先行研究が報告されていたが、CS-1008 と癌化学療法剤との併用についてはこれまで検証されていなかった。そこで、CS-1008 と癌化学療法剤との併用療法を検証し、その作用メカニズムについて解析を進めた。ヒト肺癌およびヒト膵臓癌、ヒト大腸癌のヌードマウス移植モデルを用いて、それぞれの標準治療で用いられている化学療法剤と CS-1008 との併用実験を行なった結果、併用に

よる増強効果が認められた。さらに、ヒト大腸癌株を用いて CS-1008 とカンプトテシンまたは 5-FU との併用メカニズムを解析した結果、化学療法剤の p53 活性化がアポトーシス促進因子の発現を増加させ、同時に DR5 発現も増加させることにより、内因性および外因性のアポトーシスシグナル誘導を増強させていることが明らかとなった。すなわち、CS-1008 とイリノテカンまたは 5-FU との併用療法は作用機序に基づいた併用であり、臨床での効果が期待できることが示唆された。

以上の研究成果により、CS-1008 が腫瘍特異的にアポトーシスを誘導し、癌化学療法剤と併用効果を示すことを明らかにすることができた。また、化学療法剤による p53 活性化と DR5 の発現増加、アポトーシス促進因子の発現増加が同じ細胞内での連続的変化として確認できたことは、アポトーシスシグナル経路の深い理解とアポトーシスシグナル経路における DR5 の役割の理解に重要な示唆を与えた。また、このような作用機序に基づいた併用療法の研究成果を臨床にトランスレートすることによって、death receptor やアポトーシスを標的とした創薬研究および臨床開発が可能になると考えられる。

## 審 査 の 要 旨

本学位論文において、橋本あゆみ氏は、新規抗ヒト DR5 抗体 CS-1008 の抗腫瘍評価とその作用メカニズムを解明した。これは、これまで研究されてきた抗 DR5 抗体とは異なり腫瘍特異的に作用する抗体であり、癌治療への応用が可能性を示した。さらに、化学療法剤との併用治療とその作用メカニズムについても検討を加えており、p53 活性化を中心とした作用機序に基づいた併用療法を示したという点で価値が高い研究を行なったと言える。

平成 27 年 1 月 15 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に論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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