

氏名(本籍)	いし ぐろ たか ひろ 石 黒 敬 弘 (神奈川県)			
学位の種類	博 士 (学 術)			
学位記番号	博 甲 第 6119 号			
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 23 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	Studies on the Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity of the Novel Cancer-targeted Monoclonal Antibodies (新規抗腫瘍単クローン抗体の細胞傷害性作用に関する研究)			
主査	筑波大学教授	理学博士	漆 原 秀 子	
副査	筑波大学教授	博士(医学)	千 葉 智 樹	
副査	筑波大学准教授	理学博士	坂 本 和 一	
副査	筑波大学教授	理学博士	中 村 幸 治	

論 文 の 内 容 の 要 旨

がんは日本人における死因の第1位であるが、がんを撲滅するような特效薬はいまだ存在せず、様々なアプローチにより新規治療薬の研究開発が行われている。近年の主流となっている分子標的治療薬の代表的なものとして、抗癌剤で問題となっている正常細胞に対して毒性を示す副作用を軽減できると期待される抗体医薬が挙げられる。本研究では、新規の抗腫瘍単クローン抗体2種類について、抗腫瘍作用の解析を行った。

まず、抗体医薬の有望な標的抗原の一つであるグリピカン3 (GPC3) に対する単クローン抗体 GC33 の抗腫瘍作用を解析した。GPC3 は正常組織と比較してがん組織での発現上昇が報告されており、特に肝臓癌においては高頻度に高発現している。*in vitro* での評価において、GC33 は複数の肝癌細胞株に対してヒト末梢血単核細胞をエフェクター細胞とする抗体依存性細胞傷害 (ADCC) を誘導することが示されたが、エフェクター細胞に依存しない直接的ながん細胞株の増殖抑制効果は認められず、補体依存性細胞傷害活性も非常に弱かった。マウスの皮下異種移植モデル及び同所性異種移植モデルを用いた場合にも GC33 の投与により、腫瘍の増殖の有意な抑制効果が認められた。GC33 の Fc 領域の N 型糖鎖付加部位を変異させて N 型糖鎖を除去した脱糖鎖 GC33 はエフェクター細胞に発現している Fc 受容体に結合することができないため、ADCC を誘導できないことが知られているが、この操作によってマウスモデルにおける抗腫瘍作用がほぼ消失したことから、GC33 の抗腫瘍作用は ADCC によるものであると結論された。また、いずれの場合においても、抗原の発現量が多いほど GC33 の ADCC 活性は強くなる傾向が認められた。

次に、GPC3 と同様に抗体医薬の有望な標的抗原とされている CD317 (多発生骨髄腫特異的に発現) に対する単クローン抗体 (AHM) について検討した。AHM はマウスの同所性異種移植モデルにおいて ADCC による強い抗腫瘍作用を示すことが報告されている一方、ヒトの臨床試験においては十分な抗腫瘍作用が認められていない。その原因として、多発性骨髄腫における CD317 の発現量が少なく、ADCC 活性が十分に発揮されなかった可能性が考えられた。抗体の Fc 領域に付加されているフコースはエフェクター細胞の Fc 受容体との結合活性に阻害的に働くことが立体構造解析から予測されていることから、フコース転移酵素活性の低い YB2/0 細胞を宿主としてフコース含率の低い AHM を産生させたところ、十分な ADCC 活性を誘導す

ることが示された。これらの結果から、AHM からフコースを除去して ADCC 活性を増強した抗体が新規抗体医薬として有用であることが示された。さらに、ゴルジ体におけるフコース付加経路で機能していると考えられている GDP フコーストランスポーター遺伝子をノックアウトした CHO 細胞を樹立し、抗体産生の宿主細胞とすることでフコース修飾のない抗体を産生する新規の方法を開発した。フコース修飾のない抗体の Fc 領域は、高親和性でエフェクター細胞の Fc 受容体に結合することができるため、がん細胞での抗原発現量が少なくても十分な数の抗原-抗体-Fc 受容体の結合状態を維持でき、ADCC を誘導することが可能になる。

本研究から見出された知見は、抗体医薬の作用機序に関する有用な情報を提供しており、将来の個別医療化にも貢献していくことが期待される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、がんの新規治療薬として有望視されている抗体医薬である、2 種類ヒト化単クローン抗体の抗腫瘍効果について解析している。著者はまずがん組織での発現上昇が報告されているグリピカン 3 (GPC3) に対する単クローン抗体 GC33 について、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) を作用機序とすること、GC33 の抗腫瘍効果は GPC3 の発現量に依存することを示した。次に、多発生骨髄腫特異的に発現している CD317 に対する単クローン抗体 (AHM) の抗腫瘍効果について検討した。AHM も実験的には ADCC による抗腫瘍効果のあることが知られているが、CD317 の発現量が十分でないため、ヒトの臨床試験においては抗腫瘍作用が認められていない。著者は ADCC 活性に阻害的に働くことが知られている抗体の Fc 領域に付加されているフコースを除去する方法を工夫し、CD317 の発現量が低い腫瘍に対しても AHM の抗腫瘍効果を増強できることを示した。これらの成果はいずれも国際誌に発表されて高く評価されており、本研究は ADCC 活性を作用機序とする抗体医薬の開発に資するなど、学術的価値が高いと判断できる。

平成 24 年 1 月 27 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 (学術) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。