

氏名	加島 健史		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 7744 号		
学位授与年月日	平成 28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	The Pharmacological Effect of Two Antibody Drugs for the Treatment of Tumor Metastasis (癌転移抑制剤としての新規抗体医薬の薬理作用に関する研究)		
主査	筑波大学准教授	博士 (理学)	桑山 秀一
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	中田 和人
副査	筑波大学教授	医学博士	中谷 敬
副査	筑波大学教授	博士 (医学)	千葉 智樹

論 文 の 要 旨

「癌」は自己の正常細胞が遺伝子異常等により異常な細胞増殖活性を獲得し、また、周囲の組織への浸潤や遠隔臓器にまで転移をする特徴を持つ疾患である。転移がある患者の死亡率は、転移していない患者と比較して非常に高いので、癌転移を抑制する事が出来れば、癌による死亡率軽減に大きく寄与できると期待されているが、癌転移を効果的に抑制できる抗癌剤は創製されていない。その 1 つの要因として、癌細胞の増殖抑制を標的とする場合と比べ、癌細胞の転移には、脈管や転移臓器など、癌細胞レベルに留まらず、よりマクロな視点も考慮する必要があるからであることが挙げられる。本博士論文では、未だに達成する事が出来ていない、癌の転移阻害薬の創製を目的とし、異なる転移ステップを標的とした 2 つの癌抗転移抗体の研究を報告する。

第一章では、原発巣からの離脱に関わる「脈管」特にリンパ管に着目した抗転移抗体の研究を報告する。リンパ節は全ての癌において最初に転移をする臓器であり、そのリンパ節に直接結合する脈管はリンパ管である。本研究では、著者は VEGF-D という可溶性因子に着目した。なぜならば、VEGF-D はリンパ管内皮細胞に dominant に発現する VEGFR-3 受容体に結合しリンパ管新生を誘導するため、VEGF-D シグナルを阻害する事により VEGF-D 高発現の癌患者の転移阻害が出来る可能性が考えられたからである。まず、精製 VEGF-D 蛋白質をマウスに免疫し、ハイブリドーマ法によりモノクローナル抗体 cVE199 を取得した。続いて、VEGF-D を高発現している癌細胞をスクリーニング (173 細胞, 14 癌腫) した。次に、神経膠芽腫細胞株である SK-N-DZ が VEGF-D を高発現していたため、*in vivo* マウス xenograft 試験を実施し、cVE199 投与によりリンパ節転移をした細胞数は有意に減少したことを確認した。加えて、原発巣におけるリンパ管内皮細胞数は、cVE199 投与によって顕著に減少している事も確認された。以上の事から、SK-N-DZ モデルにおいて、cVE199 抗体投与は、腫瘍体積には影響を与えないが、リンパ管内皮細胞を減少させ、結果としてリンパ節転移を阻害する事が示された。この結果は cVE199 抗体が神経膠芽腫に対する抗転移薬となり得る可能性も示唆していた。以上の結果は、癌転移に関わる脈管に着目した抗体医薬候補である cVE199 がリンパ節転移を阻害する活性を有する事、および、神経膠芽腫という癌腫が治療対象になり得る可能性を初めて明らかにするものであった。

第二章では、癌細胞の「遊走活性」に注目した、抗転移抗体の研究を報告する。癌細胞の遊走活性には、ケモカインとケモカインレセプターが関わっていることが知られている。その中で CXCR4 は、様々な癌細胞の遊走活性を促進する事により、癌転移を促進するケモカインレセプターである事が報告されている。CXCR4 を発現している癌細胞株は様々な存在するが、リガンドである SDF1 による細胞遊走活性を顕著に示す細胞株として、まず横紋

筋肉腫細胞株である SJCRH30 を同定した。また、横紋筋肉腫の臨床サンプルを用いた解析で、CXCR4 の高発現と高い転移率が相関するという報告もあったため、横紋筋肉腫という癌腫に着目し研究を実施した。CXCR4 を発現した transfectant をマウスに免疫をする細胞免疫法とハイブリドーマ法により、モノクローナル抗体 CF172 を取得した。CF172 はヒト CXCR4 に特異的に結合し、SDF1 と CXCR4 の結合阻害活性を有していることが確認された。加えて、SDF1 による SJCRH30 の *in vitro* 細胞遊走活性が CF172 添加により阻害できる事も明らかとなった。SJCRH30 細胞を用いた *in vivo* マウス xenograft 試験をした結果、CF172 投与により、腫瘍体積の変化は認められなかったが、リンパ節転移をした細胞数は有意に減少した。また、別の転移モデルである SJCHR30 細胞の腹膜播種モデルにおける転移抑制効果も検証した結果、リンパ節転移モデルと同様に CF172 投与による有意な転移抑制効果が確認された。以上の結果は、癌細胞の遊走活性に着目した抗体医薬候補である CF172 が確かに転移阻害活性を有する事、および、横紋筋肉腫という癌腫が治療対象になり得る可能性を初めて明らかにするものであった。

審 査 の 要 旨

本学位論文において加島健史氏は、2つの抗体医薬候補に癌転移阻害効果があることを明らかにした。それぞれの治療対象になり得る神経膠芽腫および横紋筋肉腫は、未だに分子標的薬の治療がなされていない癌腫であり、抗転移薬というだけではなく、新規の分子標的薬としての治療可能性も提唱するものである。また cVE199 と CF172 は転移の異なるステップを標的としているが、いずれも有意な阻害効果を示した。さらに、cVE199 および CF172 は非常に特異性が高いことから、生命現象における VEGF-D、CXCR4 の役割を明らかにできるツール抗体としての利用価値も高く、医薬品の開発だけでなく、生物学的な観点においても非常に意義のあるものになることも期待された。以上より本論文における研究成果は、学術的にも応用的にも非常に価値の高いものであると判断された。

平成 28 年 2 月 1 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質を有するものとして認める。