

氏名	馬場 悠史		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 6 4 号		
学位授与年月日	令和2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	Studies on the Pharmacological Effects of Panitumumab (パニツムマブの薬理作用に関する研究)		
主査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	千葉 親文
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	稲垣 祐司
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	桑山 秀一

## 論 文 の 要 旨

本論文は、大腸がん細胞株を用いて薬剤の併用や使用する薬剤の順番による生理・薬理作用の違いを知るために、上皮細胞増殖因子受容体(EGFR)の抗体薬 Panitumumab と DNA の機能障害を引き起こす FTD を主成分とする TAS-102 の併用効果を解析し、また Panitumumab と Bevacizumab の薬剤投与の順番による抗腫瘍効果の違いを解析し、その成果について論述している。

大腸がんは、がん関連死の5番目の主要原因であり、2013年の実績と2035年の予測を比較すると、人口の増加と高齢化により、大腸がんの死亡者数は60%増加すると予想されている。国内では13個の大腸がん治療薬が使われているが、3つの化学療法薬(5-fluorouracil, Irinotecan, Oxaliplatin)、2つの抗上皮成長因子受容体(EGFR)抗体(Panitumumab と Cetuximab) および抗血管内皮増殖因子(VEGF)抗体(Bevacizumab)が、主要な薬剤として使われている。Panitumumab は、がんの悪性化に関与しているEGFRに選択的に結合することでリガンドのEGFRへの結合を阻害し、がん悪性化シグナル伝達経路を遮断することでがんの増殖を抑制する。特に大腸がんではEGFRが高発現し、ヒトでの薬効も確認されたことから米国を始め多くの国で承認されている。しかし、大腸がんを標的とした他の薬剤との組み合わせや、薬剤処理の順番による影響を評価した報告は少ない。本論文は、大腸がん細胞を用いて薬剤の組み合わせや使用する薬剤の順番による抗腫瘍効果や薬理作用の違いを評価することでPanitumumabの新しい薬理作用を明らかにすることを目的としている。

本論文の第一章で著者は、抗EGFR抗体であるPanitumumabとDNAの機能障害を引き起こすFTDを主成分とするTAS-102との併用効果の詳細を明らかにしたと述べている。まず著者は、PanitumumabとTAS-102を同時に投与することによる抗腫瘍効果を評価し、ヒトの大腸がん細胞を移植したマウスモデルにおいて両剤を併用することにより単剤よりも強い抗腫瘍効果を示すことを見出した。著者は、薬剤を投与していないマウスでは腫瘍が大きくなるにつれて体重が減少したが、PanitumumabとTAS-102の併用による顕著な毒性はないことを明らかにした。著者は、EGFRのリン酸化の変化と下流のシグナル経路を評価し、FTDがEGFRのセリン/スレオニンのリン酸化とEGFR下流のERK/Akt/STAT3の活性化が誘導

されること、これらの変化が Panitumumab によりキャンセルされることを明らかにした。以上のことから、第一章で著者は、TAS-102 によって活性化されるがん悪性化シグナルを Panitumumab が抑制する事象を見出し、既存薬との組み合わせに関する Panitumumab の新しい薬理作用を発見したと述べている。

第二章で著者は、Panitumumab と抗 VEGF 抗体である Bevacizumab を投薬する順番に関する新しい知見を見出したと述べている。まず著者は、ヒトの大腸がん細胞を移植したマウスモデルで抗腫瘍効果を評価し、Panitumumab に次いで Bevacizumab を投与した群 (PB 群) は、Bevacizumab に次いで Panitumumab を投与した群 (BP 群) や Bevacizumab のみを投与した群 (BB 群) よりも強い抗腫瘍効果を示すことを発見した。そこで著者は、これらのサンプルを用いてリン酸化したタンパク質の発現量の変化を解析し、EGFR の下流でがん悪性化に関わる EPHA2 のリン酸化が PB 群の順番の場合のみ、コントロール群よりも有意に減少することを明らかにした。次に著者は、ゲノミクス解析の結果を用いてパスウェイ解析を行った結果、BB 群の順番の場合のみ、脂質関連のパスウェイが顕著に変化することを明らかにした。また著者は、Bevacizumab は血管新生を抑制して血液によって運ばれてくる酸素を少なくすることで、がん細胞を低酸素状態 (ハイポキシア) にすることが考えられると述べている。著者は、Panitumumab を Bevacizumab の前に投与することで、Bevacizumab によって引き起こされる脂質関連遺伝子やハイポキシア関連遺伝子の誘導という二つの作用を抑制することが期待されると述べている。著者は、脂質関連遺伝子とハイポキシア関連遺伝子の mRNA の発現変化を解析し、PB 群はがん悪性化シグナルである脂質生成やハイポキシアにより誘導される遺伝子の発現が有意に減少することを明らかにした。第二章で著者は、PB 群や BP 群、BB 群のゲノミクス解析やプロテオミクス解析を行い、がん悪性化との関連が報告されている脂質生成やハイポキシアに関連する遺伝子の発現や EPHA2 のリン酸化が PB 群では有意に減少することを明らかにし、薬剤投与の順番に関する Panitumumab の新しい薬理作用を見出したと述べている。

本論文で著者は、Panitumumab と TAS-102 を組み合わせることにより、TAS-102 で誘導されるがん悪性化シグナル ERK/Akt/STAT3 の活性化を Panitumumab が有意に抑制することを明らかにした。また著者は、初めに Panitumumab 次いで Bevacizumab の順番に投与することにより、がん悪性化シグナルである EPHA2 のリン酸化、脂質生成やハイポキシアに関連する遺伝子が有意に減少することを明らかにした。本論文で著者は、複数の薬剤の組み合わせとそれらの薬剤投与の順番により、大腸がんの抗がん作用が大きく異なることを明らかに出来たと述べている。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、大腸がん細胞を用いて複数の薬剤の組み合わせや使用する薬剤の順番による生理・薬理作用の違いに着目し、(1) ヒト大腸がん細胞株を移植したマウスモデルにおいて、Panitumumab と TAS-102 の同時投与により抗腫瘍効果が顕著に増加すること、さらに(2) 投与する薬剤の順番を変えたところ、Panitumumab に次いで Bevacizumab を投与した群は、その逆順投与の群よりも抗腫瘍活性が強いことを明らかにしたものである。これらの研究成果は、がん治療に用いる複数の薬剤の組み合わせと順番により、薬理作用および抗がん作用に違いがあることを明らかにしたもので、学術的にも大きな意義があるばかりでなく、より効果的な薬剤治療法の開発や過剰な薬剤投与の防止さらに医療費の削減への道を拓くもので、その功績は大きい。

令和2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 (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。