

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )	氏名	秋 田 慎
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目			
<p>MT95-4, a fully humanized antibody raised against aminopeptidase N, reduces tumor progression in a mouse model.</p> <p>(完全ヒト型抗アミノペプチダーゼ N 抗体である MT95-4 は、マウスモデルにおいて腫瘍の進展を抑制する)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教授	杉山 一彦	印
審査委員	教授	安井 弥	
審査委員	講師	檜井 孝夫	
〔論文審査の要旨〕			
<p>Aminopeptidase N (APN) は、亜鉛依存性のエキソペプチダーゼを有する膜蛋白であり、小腸上皮ではペプチドを分解し消化の最終段階に関与していることや、神経終末ではニューロペプチドの分解に関与することが知られている。一方、APN は一部の腫瘍細胞にも発現しており、細胞外基質を分解し腫瘍細胞の浸潤に影響を及ぼしたり、腫瘍血管新生に関与し、腫瘍の進展に関わっていることが報告されている。臨床的にも APN 高発現の大腸癌、膵癌、肺癌患者では、腫瘍内の血管新生が亢進しており、有意に予後不良であるとされている。このような点から APN は癌治療のターゲットと考えられており、APN 阻害薬であるベスタチンを用いた研究では、マウスモデルにおいて腫瘍の進展に対する抑制効果が示されている。また、ベスタチンを肺扁平上皮癌の術後アジュバントとして使用した臨床試験では、5 年生存率を改善したと報告されている。<i>In vitro</i> では、APN に対するマウスモノクローナル抗体が腫瘍細胞の浸潤を抑制し、また血管内皮細胞の管腔形成を抑制することが明らかとなっている。</p> <p>以上を踏まえて、今回著者らは APN 活性を中和する完全ヒト型抗 APN 抗体を樹立し、抗体療法を行うことにより、腫瘍細胞の浸潤、腫瘍血管新生を抑制し、腫瘍の進展を抑えることができるのではないかと考え本研究を遂行した。</p>			

まず、ヒト抗体遺伝子を有するトランスジェニックマウスである KM マウスに対し、APN を高発現している HT1080 細胞を免疫し、KM マウスの脾細胞と SP2/O ミエローマ細胞を融合することにより、完全ヒト型抗 APN 抗体 (MT95-4) を分泌するハイブリドーマを樹立した。この抗体は *in vitro* において濃度依存性に腫瘍細胞の APN 活性を抑制しており、腫瘍細胞の浸潤能も濃度依存性に抑制していることが確認された。

次に、腫瘍細胞における APN の発現と腫瘍進展との関与を検証する目的で、マウスメラノーマ (B16) 細胞に APN を恒常的に発現させ、APN 発現量の異なる 2 種類の B16 細胞、APN-B16 細胞 (APN 高発現)、Control-B16 細胞 (APN 低発現) を作製した。これらの発現量の異なる 2 種類の B16 細胞は、*in vitro* での細胞増殖能に差はみられなかった。これら 2 種類の細胞を用いて、ヌードマウスに対して血行転移モデルと皮下腫瘍モデルを作製したところ、APN-B16 細胞を用いたモデルで肺転移、皮下腫瘍径、腫瘍内血管新生が増強しており、腫瘍細胞の APN が腫瘍の進展、血管新生に関与していることが明らかとなった。

さらに、APN-B16 細胞を用いたマウス血行転移モデルと皮下腫瘍モデルを同様に作製し、マウスの腹腔内に MT95-4 の投与を投与することにより、MT95-4 の抗腫瘍効果の検討を行った。MT95-4 投与群では、コントロール抗体投与群と比較し有意に腫瘍の進展、血管新生を抑制しており、MT95-4 投与により強制発現させた腫瘍細胞の APN を抑制することで、抗腫瘍効果が得られる可能性が示された。

次に、ヒト肺癌細胞株を用いたマウス腫瘍モデルでの MT95-4 の抗腫瘍効果を検討するため、まずヒト肺癌細胞株の APN 発現をリアルタイム PCR、フローサイトメトリーを用いて確認した。その結果、H1299 細胞、PC14 細胞では APN を高発現しており、A549 細胞では APN をほとんど発現していないことが判明した。H1299 細胞、PC14 細胞を APN 高発現株、A549 細胞を APN 低発現株として用い、NOD-SCID マウスに対してそれぞれの細胞による皮下腫瘍モデルを作製し、このマウス皮下腫瘍モデルに対して MT95-4 を投与したところ、APN 高発現株 (H1299 細胞、PC14 細胞) では皮下腫瘍体積およびその血管新生は有意に抑制されていたが、APN 低発現株 (A549 細胞) では抗腫瘍効果はみられなかった。以上より、MT95-4 は、腫瘍細胞の APN 活性を中和することにより、APN 高発現腫瘍の進展、血管新生を抑制することが示された。

以上の結果から、本論文は完全ヒト型抗 APN 抗体による抗体療法が、APN 高発現腫瘍に対する新規治療薬となりうることを示唆する優れた論文であると考えられる。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。