

氏名 宇野 友 康  
学位 博士 (医学)  
学位記番号 新大院博(医)第150号  
学位授与の日付 平成19年 3月22日  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
博士論文名 Eradication of established tumors in mice by a combination  
antibody-based therapy  
(抗体併用療法によるマウスでの確立した腫瘍の根絶について)

論文審査委員 主査 教授 安 保 徹  
副査 教授 下 條 文 武  
副査 教授 内 藤 眞

#### 博士論文の要旨

申請者は、以前に TNF 関連アポトーシス誘導リガンド (TNF-related apoptosis-inducing ligand: TRAIL) の細胞死(アポトーシス)を誘導するレセプターである DR5 に対するアゴニスティック抗体を作製し、その投与により腫瘍拒絶を誘導することを報告した。この抗体は自然免疫系に属する細胞上の Fc レセプターに結合し、腫瘍細胞に選択的にアポトーシスを誘導すると同時に、活性化 Fc レセプターを介して抗原提示細胞を活性化することで腫瘍抗原の T 細胞への提示を促進し、腫瘍特異的な細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T cell: CTL) を誘導することが示され、最終的には TRAIL 耐性の変異株に対しても抗腫瘍効果を発揮することを確認した。従って、この抗腫瘍抗体療法は、自然免疫と獲得免疫を同時に活性化する新たな抗腫瘍抗体療法として非常に有望であると考えられた。

しかしながら固形腫瘍が完全に生着 (確立) した段階で抗体投与を開始した場合には、増殖抑制効果はみられたものの腫瘍根絶を誘導することは困難であった。

最近の報告では CD40、CD137 アゴニスト作用をもつモノクローナル抗体は、いずれも単独である種の癌に対して抗腫瘍効果をもつ共 (補助) 刺激分子であることが示されているが、これらの抗体療法においても単独療法では、確立した腫瘍の根絶は困難であることが現状である。

そこで本論文では、DR5 に対してアゴニスト作用をもつモノクローナル抗体を用いた腫瘍細胞へのアポトーシスの誘導とともに、共刺激分子 CD40 および CD137 に対してアゴニスト作用をもつモノクローナル抗体(trimAb)を用いて T 細胞の活性化を同時に行うことで、腫瘍特異的なエフェクター CD8 陽性 T 細胞を強力かつ迅速・効率的に誘導し、確立した固形腫瘍を根絶することを目指し、以下の研究を行った。

まず TRAIL 感受性株を用いた腫瘍モデルで、各抗体単独投与群、2 抗体併用投与群、3 抗体併用投与 (trimAb) 群、コントロール抗体投与群で比較検討を行った。trimAb で有意に腫瘍を根絶しうることならびに免疫学的記憶が得られ、かつ多発転移モデルでも同様の結果が得られた。ex vivo で trimAb では、有意に腫瘍特異的 CTL が数多く誘導し、かつ腫瘍所属リンパ節において IFN- $\gamma$  を産生する腫瘍特異的な CD8 陽性 T 細胞が迅速に誘導された。このことは、腫瘍根絶の過程で CD8 陽性 T 細胞と IFN- $\gamma$  が決定的に重要であることと一致することも示唆された。

次に TRAIL 感受性株にカスパーゼ依存性アポトーシスに耐性の FLICE inhibitory protein : FLIP) 遺伝子を導入した株と mock で trimAb の効果を検討した。FLIP 導入株では、全例腫瘍根絶は誘導されなかったのに対し、mock 株では高率に腫瘍根絶が誘導された。また mock、FLIP 導入株をそれぞれ右側、左側背部皮下に同時に接種し、trimAb の効果を検討した。mock だけでなく FLIP 導入株にも腫瘍根絶が誘導されるとともに、より詳細な検討にて CD4 陽性 T 細胞や NK 細胞ではなく、CD8 陽性 T 細胞の重要性が示唆された。またそれぞれの株を各割合で組み合わせた検討を行った結果、感受性株の割合が少ない条件下でも根絶が得られ、感受性株が存在する場合には腫瘍根絶誘導が可能であることが認められた。

これらの結果をふまえ発癌物質である 3-メチルコラントレン (MCA) により、引き起こされた原発繊維肉腫の腫瘍根絶の可能性が考えられ、trimAb の効果を検討した。DR5 特異的モノクローナル抗体によるアポトーシス誘導に抵抗性を示す原発腫瘍も明らかな毒性や自己免疫の誘導もなく根絶された。

マウスにおける以上の結果から、DR5 を介する腫瘍細胞のアポトーシスを引き起こすと同時に T 細胞を活性化作用を持つ合理的なモノクローナル抗体併用療法が、ヒトにおける癌免疫治療の効果的な戦略となり得る可能性を示した。加えてアポトーシスを誘導する DR5 の代わりに抗悪性腫瘍剤である塩酸ゲムシタピンに変更した検討でも効果が得られ、臨床応用への可能性も示唆された。

#### (論文審査の要旨)

本研究では、DR5 (TNF 関連アポトーシス誘導リガンド (TRAIL) のアポトーシス誘導受容体) に対してアゴニスト作用をもつモノクローナル抗体を用いた腫瘍細胞へのアポトーシスの誘導とともに、共刺激分子 CD40 および CD137 に対してアゴニスト作用をもつモノクローナル抗体を用いた T 細胞の活性化を同時に行うことで、腫瘍特異的なエフェクター CD8<sup>+</sup>T 細胞を強力にかつ迅速に誘導し、確立した固形腫瘍を根絶できるかを検討した。発癌物質 3-メチルコラントレン (MCA) により引き起こされた原発線維肉腫、多臓器への転移、および腫瘍細胞の 90% までもが DR5 特異的モノクローナル抗体によるアポトーシス誘導に抵抗性を示す原発腫瘍もまた、明らかな毒性や自己免疫の誘導もなく拒絶された。この 3 つのモノクローナル抗体 (trimAb) の併用療法は、腫瘍の所属リンパ節においてインターフェロン (IFN)- $\gamma$  を産生する腫瘍特異的な CD8<sup>+</sup>T 細胞を迅速に誘導した。これは、腫瘍拒絶過程で CD8<sup>+</sup>T 細胞と IFN- $\gamma$  が決定的に重要であることを示している。マウスにおけるこれらの結果は、DR5 を介する腫瘍細胞のアポトーシスを引き起こすと同時に T 細胞を活性化作用をもつ合理的なモノクローナル抗体併用療法が、ヒトにおける癌免疫治療の効果的な戦略となる可能性を示している。以上の点に、学位論文としての価値を認める。