

論文審査の結果の要旨

氏名 佐藤 隆太

本論文は、全六章から成り、第一章は背景及び目的、第二章は実験方法、第三章は、実験結果として抗組織因子(TF)一本鎖抗体(scFv)の作製と *in vitro* での特性解析について述べている。さらに抗 TF scFv の生体内分布と腫瘍集積性について IgG と比較検討しながら解析を行っている。第四章の考察、五章の今後の展望へ続き、六章で結語を述べている。

第一章では、がんと血液凝固の関連性を紹介し、また血液凝固カスケードを概説しながら、本研究の対象分子である TF について、重要な外因系の開始因子であることを説明している。さらに、多くのがん種が高頻度で TF 陽性であり、特に脳腫瘍・胃がん・膵臓がんなどの難治性がんでは、がんの悪性度とも相関していることを述べている。また、近年の抗体研究の進歩を紹介し、診断や治療への応用展開について言及している。本章の最後に、①当該研究室で樹立した抗 TF 抗体 IgG から scFv の作製、②抗 TF 抗体 scFv 及び同 IgG の *in vitro* における特性の評価、③ *in vivo* における抗 TF scFv 及び 同 IgG の生体内分布と腫瘍集積性の違いを比較検討して、抗 TF scFv のがん診断への応用性を明らかにすることを研究目的とする旨を述べている。

第二章では、各実験の方法について述べられている。

第三章の前半では、当該研究室で得られた複数の抗 TF 抗体 IgG 産生ハイブリドーマ細胞株の性質について言及している。いずれの抗体も ELISA やフローサイトメトリーの解析結果から、マウス TF に特異的に結合していることが示されている。これらの抗体のうち、高親和性高産生性ハイブリドーマ細胞株の No.1157 クローンを選択して、RNA 抽出後に cDNA の合成を行い、scFv の作製を行ったことと、同 scFv が、実験に用いるのに十分な純度・活性を有していたことを報告している。

第三章後半では、通常フローサイトメトリーに加え抗原であるリコンビナント TF を用いた阻害実験を行い抗 TF scFv の特異性を検証している。また、SPR 解析を用いて抗 TF scFv と同 IgG のリコンビナント TF 抗原に対するかい離速度及び結合速度を測定し、IgG を scFv 化することによってかい離速度が顕著に増加することを見出している。そのため、親和性が低下したものと記載している。In vivo の検討では、化学発癌モデルマウスの腫瘍組織における TF の発現について報告し、このモデルマウスに対する抗 TF scFv の生体内分布と腫瘍集積性について同 IgG との比較検討を行っている。抗 TF scFv は投与後数時間で、腫瘍選択的に集積して高い

腫瘍/正常部比が得られることと、肝臓より腎臓への集積が顕著でクリアランスも早く、迅速な腎排出性が示されたことを述べている。一方、IgG は 24 時間以上生体内に留まり、腫瘍への選択的集積性と共に肝臓集積性も顕著であったことより、比較的長期の肝代謝を受けることを述べている。これらの結果より、投与後早期での高い腫瘍集積性と迅速な腎クリアランスという抗 TF scFv の特徴を明らかにすることができたものと思われる。また同時に、抗 TF scFv のがん診断・分子イメージングへの応用性が高いことが示されたことになる。

第四章では考察について述べられている。抗 TF 抗体の抗凝固性への影響は、抗 TF 抗体のエピトープが血液凝固因子 Xa との結合部の近傍にあるものと予想し、さらなる解析の必要性を述べている。腫瘍イメージングに関しては、抗 TF scFv に対して今回用いた蛍光標識ではなく PET/SPECT 用核種や MRI 造影剤を付加させた製剤が実臨床への応用には必要であると述べている。

第五章では今後の展望について記載されている。抗 TF scFv 抗体を臨床応用する際の有害事象についても言及し、抗血液凝固活性の存在が生体に与える影響や抗体自体の抗原性がアレルギー源として過剰な免疫反応を惹起してしまう可能性についても述べられている。

第六章では結語として、TF ががん診断の標的分子として有望であることと、その場合、分子イメージング用のプローブとして抗 TF scFv の有用性が高いことを述べており、さらに臨床応用への期待についても言及している。

本研究は TF に対して高い特異性と親和性で結合できる scFv の作製と TF を標的としたがん診断・分子イメージングへの応用性を明らかにするという生命科学と医学の両面において優れた成果を示している。

なお、本論文において、国立がん研究センター東病院の安永正浩博士、古賀宣勝博士、東京大学医科学研究所の津本浩平博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって抗体の作製及び解析、検証を行ったもので、論文提出者による寄与が十分であると判断する。

したがって博士（生命科学）の学位を授与できるものと認める。

以上 1988 字