

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 李 泳薫

本論文は、上皮成長因子受容体 (EGFR) に結合するリガンドであるエピレギュリン (REG: epiregulin) に対するマウスモノクローナル抗体のヒト型化に関する論文である。コンピュータによる三次元構造モデリングを利用した独自のヒト型化手法を考案し、ヒトに対する低免疫原性と REG に対する高い特異性の両方の性質を有する新規抗 REG 抗体を開発することに成功した。

ヒトゲノムプロジェクトの進展により、がんの診断と治療に役立つ、多数の分子標的が新たに明らかとなり、治療困難であった様々ながんに対する新たな治療法の開発が始まった。REG は EGFR に結合するリガンドであり、大腸癌細胞株やヒト大腸癌で主に発現上昇するタンパク質である。そのため、大腸癌の診断と治療のための新たな分子標的として有望視されている。すでに、未来研究所の吉田博士により特異性の高い抗 REG マウスモノクローナル抗体 9E5 が作製され、ヒトの大腸癌細胞株を移植したマウスの個体イメージング実験でも高い検出能力をもつことが確認されている。しかし、ヒトに対して抗原性をもつため、9E5 をヒトで利用することは難しい。この問題を解決するために、論文提出者はコンピュータによる三次元構造モデリングを利用した独自のヒト型化手法を考案して、低免疫原性と高い特異性の両方をもつ新規抗 REG 抗体の開発を行った。

最初に論文提出者は、東京大学先端科学技術研究センター・ゲノムサイエンス部門の作成したマイクロアレイによる網羅的解析結果のデータベースを用いて REG の発現分布を調べた。その結果、REG の発現は正常組織において抑制されているが、大腸癌や膵臓癌などの特定の癌細胞株では増加していることが分かり、REG が分子標的治療の標的として有用性の高いことが確認された。

次に論文提出者は、REG に特異的に結合し、しかもヒトに対して低免疫原性である抗 REG 抗体を作製するために、抗 REG マウスモノクローナル抗体 9E5 の CDR 領域を基にして可変領域をヒト型化すること (CDR-grafting) を行った。また、抗体表面に露出してヒトに対する免疫原性を示す可能性のあるアミノ酸残基を特定し、ヒト抗体との配列のホモロジーを手懸かりに、それらをヒト型アミノ酸残基に置換した (Resurfacing)。これらの改変により得られた新規アミノ酸配列をもとに、新規抗 REG 抗体である HMO を作製した。しかし、HMO は、9E5 のようには高い抗原結合活性を示さなかった。

論文提出者は、HM0 の抗原結合活性を回復させるために、独自のヒト型化手法の考案を行った。一般的には CDR-grafting 法を用いて結合親和性を回復させるためには、数多くの改変体を作製して評価する必要がある。この作業には多大なコストと時間がかかる。そこで、近年急速に予測性能が向上したコンピュータを用いたホモロジーモデリングにより構築した三次元分子構造モデルを利用した新しい手法により抗原結合活性の回復を試みた。9E5 の三次元分子構造モデルを構築して調べた結果、フレームワーク領域 (FR) にある Light chain 49 番目のアミノ酸残基 (VL49) が特異性の獲得に必要とされる CDR L2 ループ構造の維持に重要であることが分かった。VL49 残基の復帰変異 (ヒスチジン→チロシン)を行ったヒト型化抗 EREG 抗体である HM1 を作製して特異性を調べたところ、HM1 がマウスモノクローナル抗体 9E5 と同様の EREG 結合親和性をもつことが分かった。この結果は、抗原特異性に関してこれまであまり考慮されていない FR のアミノ酸残基にも、抗原との結合に重要なものがあることを示唆している。また、ヒト型化において、そのようなアミノ酸残基を特定するために、コンピュータを用いた三次元分子モデリングが有効であることを示している。

HM1 は、マウス由来のアミノ酸配列が 7%以下であり、Humanness score も正の値となっている。これらの数値は臨床で使われているヒト型化抗体と変わらない数値である。また、大腸癌細胞株である DLD-1 細胞と HCT116 細胞を用いた免疫染色と FACS の実験の結果、HM1 は EREG 抗原に対する高い特異性と結合親和性を有することも分かった。さらに、HM1 抗体は、マウスモノクローナル抗体 9E5 にはないヒト免疫系のエフェクター機能である抗体依存性細胞傷害 (ADCC : Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) の機能も有することが分かった。したがって、ヒト型化抗 EREG 抗体 HM1 は、EREG を標的する抗体としてさらなる発展の可能性をもつ抗体であると考えられる。

以上のように、論文提出者はコンピュータによる三次元構造モデリングを利用した独自のヒト型化手法を考案し、ヒトに対する低免疫原性と EREG に対する高い特異性の両方の性質を有する新規抗 EREG 抗を開発することに成功した。この成果は、分子標的を利用したがんの診断と治療に大きく貢献するものである。

なお、本論文の研究は飯島麻里子、門祐示、溝端栄一、井上豪、杉山暁、土居洋文、柴崎芳一、児玉龍彦との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および考察を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、本審査委員会は博士 (学術) の学位を授与するにふさわしいものと認定する。