The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Establishment of a New Interleukin-6(IL-6) Receptor Inhibitor Applicable to the Gene Therapy for IL-6-Dependent Tumor
Author(s)	吉雄, 直子
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49010
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【68】

氏　　名	吉　雄　直　子（よし お なお こ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２１６５３　号
学位授与年月日	平成 20 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学　位　論　文　名	Establishment of a New Interleukin-6 (IL-6) Receptor Inhibitor Applicable to the Gene Therapy for IL-6-Dependent Tumor （IL-6 依存性腫瘍に対する遺伝子治療に応用可能な新規 IL-6 受容体阻害剤の樹立）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　川瀬　一郎 （副査） 教　授　金倉　　譲　　教　授　青笹　克之

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

IL-6 は多発性骨髄腫、関節リウマチ、キャッスルマン病、クローン病などの疾患の病態形成に関わっている。これらの疾患に対して IL-6 を阻害する分子標的治療の有効性が明らかとなった。トシリズマブは IL-6 とその受容体との結合を阻害するヒト化抗 IL-6 受容体モノクローナル抗体であり、すでにキャッスルマン病の治療薬として承認を受け、臨床の場で使用されている。関節リウマチや若年性特発性関節炎に対しても有効性が証明され、現在承認申請中である。しかし、このような生物学的製剤は製造設備や生産コストの問題がある。また効果を最大に発揮させるためには薬剤の血中濃度を維持する必要があり、定期的に投与し続けねばならず、ドラッグデリバリーシステムを含め、新たな阻害剤の開発が望まれる。

そこでアデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の可能性を探るべく研究を行った。トシリズマブ遺伝子は、H 鎖と L 鎖がそれぞれ別々の遺伝子にコードされ、異なったプロモーターに制御されているため、そのまま生体内に遺伝子導入すると、発現のかたよりが見られ、トシリズマブの産生効率が低下する。そこで、遺伝子導入により効率よく発現させるために、単一遺伝子にコードされ、しかもその作用がトシリズマブと同等な新規 IL-6 受容体阻害剤の作製を試みた。

〔　方法ならびに成績　〕

トシリズマブ遺伝子の H 鎖と L 鎖の可変領域をリンカーでつなぎ、single chain fragment format を作製後、ヒト免疫グロブリン Fc 部分を結合させ、単一遺伝子でコードされる新規 IL-6 受容体阻害剤、NRI を作製した。NRI は Fc 部分を解して二量体となり、IL-6 受容体に対する結合活性が上昇するとともに、遺伝子を導入したホスト細胞より効率よく分泌された。

リコンビナント NRI の IL-6 受容体への特異結合能を ELISA 法を用いて測定したところ、濃度依存的に上昇し、結合能ならびに IL-6 活性の阻害能はトシリズマブとほぼ同等であった。

IL-6 依存性ヒト骨髄腫細胞株 S6B45 および IL-6 依存性ヒトリンパ腫細胞株 KT-3 に対するリコンビナント NRI の増殖抑制効果を in vitro で検討したところ、濃度依存的に増殖抑制効果を認め、その効果はトシリズマブに匹敵し

た。

次に、アデノウイルスベクターを用いた NRI 遺伝子導入による治療効果を、S6B45 細胞を皮下に移植して作製したヒト骨髄腫モデルマウスを用いて検討した。NRI 遺伝子を導入したマウスでは、血中に約 100 nM の NRI が少なくとも２ケ月以上認められ、皮下に形成された形質細胞腫の増殖はコントロールベクターを投与した群に比べ有意に抑制された。

〔 総　　括 〕

NRI はヒト IL-6 受容体抗体、トシリズマブと同等の IL-6 受容体に対する親和性をもち、その in vitro における IL-6 阻害活性もトシリズマブと同等であった、また、in vivo において、アデノウイルスベクターを用いた NRI 遺伝子導入により、血中に効率よく分泌され、しかも、IL-6 依存性腫瘍の増殖を抑制したことから、遺伝子導入治療に応用可能であることが示された。

これらの結果から、NRI 遺伝子治療は、IL-6 が病態形成に関わる疾患の治療に、医療経済的にも有益な手段として期待される。

論文審査の結果の要旨

本論文は、IL-6 の作用を阻害する新規 IL-6 受容体阻害剤（NRI）の作製と遺伝子治療への応用の可能性を明らかにしたものである。

NRI はヒト化抗 IL-6 受容体抗体遺伝子の H 鎖と L 鎖の可変領域をリンカーでつなぎ、ヒト免疫グロブリン Fc 部分を融合させて作製したもので、単一遺伝子でコードされることから遺伝子治療に適している。著者は NRI の IL-6 受容体に対する結合能、IL-6 阻害能を *in vitro* で証明するとともに、NRI 遺伝子をアデノウイルスベクターを用いて IL-6 依存性ヒト骨髄腫細胞を移植して作製したモデルマウスに導入し、この分子を用いた遺伝子治療の可能性を *in vivo* で証明した。NRI 遺伝子治療は IL-6 が病態形成に関わる疾患の新しい治療法として大いに期待される。

本論文は米国癌学会においても高く評価されており、学位の授与に値すると考えられる。