

Title	Anti-glypican-1 antibody-drug conjugate exhibits potent preclinical antitumor activity against glypican-1 positive uterine cervical cancer
Author(s)	松崎, 聖子
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72182
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 松崎 聖子	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 木村 正
	副 査 大阪大学教授 野村 祝夫
副 査 大阪大学教授 野口 直三郎	
論文審査の結果の要旨	
<p>子宮頸癌は近年、診断及び治療の改善により死亡率が減少しているが、進行期や再発に対する有効な治療法が少なく、新規治療法の開発が望まれている。</p> <p>Glypican-1 (以下GPC1) はGPIアンカー型膜蛋白であり、癌における機能は十分にはわかっていない。GPC1に対する新規抗体治療薬を開発し、抗体薬物複合体 (antibody-drug conjugate ; ADC) が子宮頸癌の新規治療法となりうるかを検討した。</p> <p>子宮頸癌にGPC1が高発現していることを臨床検体の免疫組織化学染色および子宮頸癌細胞株のフローサイトメトリーにて確認した。GPC1のモノクローナル抗体を複数クローン作成し、細胞内へのinternalization活性の高いクローンを選択した上でGPC1-ADCを作成した。これを用いてin vitroおよびin vivoでの子宮頸癌細胞株に対する抗腫瘍効果を確認した。またマウスを用いた安全性試験で血液検査および摘出臓器の病理組織的検査を行い、治療用量での副作用は無いことを確認した。GPC1-ADCが子宮頸癌の新規治療法となることを示した一連の業績は学位の授与に値すると思われる。</p>	

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	松崎 聖子
論文題名 Title	Anti-glypican-1 antibody-drug conjugate exhibits potent preclinical antitumor activity against glypican-1 positive uterine cervical cancer (Glypican-1抗体-薬物複合体はglypican-1陽性子宮頸癌に対し抗腫瘍効果を示す)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>近年、診断および治療の改善により子宮頸癌の死亡率が低下しているにも関わらず、進行期および再発子宮頸癌は依然予後不良であり、新規治療法の開発が望まれている。これまで我々のグループは、子宮内膜癌や卵巣癌に高発現する膜蛋白を網羅的な膜蛋白質解析から同定し、中和抗体を用いた新規抗体治療薬の開発を行ってきた。また、先行研究では膜蛋白質の網羅的解析により食道扁平上皮癌に高発現するGlypican-1（以下GPC1）を同定し、疾患の進行度との関連を報告している。今回、扁平上皮癌が代表的な組織型である子宮頸癌の新規治療法として、GPC1を標的とする新規抗体医薬品が治療標的となりうるかを検討した。また、抗体医薬品では①固形癌では抗体が内部まで到達できないので効果が限定的である②抗原に抗体が結合しても必ずしも細胞傷害性を発揮するわけではないことが問題となっていたが、これらを克服するために新しいdrug delivery systemであるantibody-drug conjugate（抗体-薬物複合体、以下ADC）を用いた治療薬の開発を行った。</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>免疫組織化学染色を用い、110例の原発子宮頸癌臨床検体および1例の化学放射線療法後再発腫瘍検体においてGPC1の発現を検討したところ、110例中59例(53.6%)の原発腫瘍および1例(100%)の再発腫瘍においてGPC1の高発現が確認された。また、フローサイトメトリーでは子宮頸癌細胞株であるHeLaおよびME180細胞でGPC1の高発現を認めたが、卵巣明細胞癌細胞株であるRMG-1細胞では弱発現であった。GPC1は子宮頸癌において新規治療標的になりえると考え、抗GPC1モノクローナル抗体を開発し、樹立した複数クローンの中でinternalize活性の高い抗体としてクローン01a033を選択した。しかし、抗GPC1モノクローナル抗体はHeLaおよびME180細胞に対する抗腫瘍効果が<i>in vitro</i>では認められなかった。そのため、ADCを作成することとし、抗GPC1モノクローナル抗体にconjugateする薬剤はモノメチルアウリスタチンF (MMAF) を選択した。作成したGPC1-ADCは、<i>in vitro</i>でGPC1陽性細胞株 (HeLa、ME180細胞) にinternalizeされ、著明な抗腫瘍効果を有することを確認した (IC₅₀値はHeLa細胞:0.042 nM, ME180:0.093nM)。また、皮下腫瘍マウスモデルにおいても、HeLaおよびME180細胞移植マウスでは、GPC1-ADC投与群 (10mg/kg/body) ではコントロールADC投与群 (10mg/kg/body) と比較し、著明な抗腫瘍効果を認めた (HeLa細胞:98.2%, p<0.01, ME180:72.6%, p<0.01)。また、GPC1-ADCを投与した後の腫瘍を摘出しphospho-Histone H3で免疫組織化学染色を行うと、GPC1-ADC投与群の腫瘍ではコントロールADC群の腫瘍と比較し有意に染色される細胞数が増加しており、G2/M期細胞周期で増殖が停止している細胞が増加したためと考えられた。この結果より、<i>in vivo</i>での抗腫瘍効果がMMAFによる作用であると推察された。GPC1-ADCが子宮頸癌に対する有望な新規治療薬となりうる事が示されたため、作成したGPC1-ADCの安全性試験をマウスを用い、行った。マウスに対し、GPC1-ADC (50mg/kg/body) を投与後7日目に行った血液検査及び摘出臓器の組織学的検査を行ったが、いずれも重度な副作用は認められなかった。</p>	
<p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>GPC1-ADCはGPC1陽性子宮頸癌の新規治療薬となりえると考えられる。また、GPC1は原発腫瘍だけでなく、化学放射線治療後の再発腫瘍でも高発現しており、GPC1-ADCはこのような進行・再発腫瘍に対しての治療の選択肢となりうる可能性がある。また、今回のADC作成については安全性を重視したためバースタンダー効果の少ないMMAFを選択したが、今後薬剤の種類を変更することでさらなる抗腫瘍効果が期待される。</p>	