



Title	CD70 antibody-drug conjugate as a potential therapeutic agent for uterine leiomyosarcoma
Author(s)	中江, 瑠璃子
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/81905
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	中江 瑠璃子
論文題名 Title	CD70 antibody-drug conjugate as a potential therapeutic agent for uterine leiomyosarcoma (抗CD70抗体薬物複合体は子宮平滑筋肉腫の新規治療薬となりうる)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 子宮平滑筋肉腫（以下LMS）は頻度は低いものの、最も予後の悪い疾患のひとつであり、I期ですら5年生存率が約56%、II期以上の5年生存率は約7%であり、他の婦人科癌に比べその予後は極めて悪い。再発・進行LMSに対する放射線療法や既存の抗癌剤の効果は限定的であるため、予後改善に向けた新たな治療戦略が求められている。本研究ではLMSに高発現する膜蛋白を同定し、その蛋白を標的とした治療薬の開発を目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 iTRAQ (Isobaric Tags for Relative and Absolute Quantitation) 法を用いて3種のLMS細胞株 (SK-LMS-1、SKN、SK-UT-1細胞) と正常子宮平滑筋細胞株 (UTSMC細胞) における細胞膜蛋白の網羅的な蛋白発現解析を行い、LMS細胞で高発現している膜蛋白質としてCD70を同定した。Western Blotting法およびフローサイトメトリー法にて、LMS細胞株、特にSK-LMS-1においてCD70がUTSMC細胞と比較し高発現していることを確認した。LMS臨床検体に対して、免疫組織化学染色を用いCD70の発現を評価したところ21例中19例 (90.5%) においてCD70の発現を認めた。正常組織アレイを用い、正常組織におけるCD70を評価したが、いずれの組織においてもCD70の強発現は認めなかった。抗CD70ヒトモノクローナル抗体を作成し、CD70陽性であるSK-LMS-1細胞における細胞傷害効果を検討したが、有意な傷害効果を認めなかった ($P=0.27$)。そのため抗CD70ヒトモノクローナル抗体に微小管阻害薬であるMonomethyl auristatin F (MMAF) を結合させたAntibody-drug conjugate (CD70-ADC) を作成した。同様に抗ヒトIgGモノクローナル抗体にMMAFを結合させたControl-ADCを作成した。Control-ADCはSK-LMS-1細胞に対して細胞傷害効果を認めなかったが、CD70-ADCはSK-LMS-1細胞に対して著明な細胞傷害効果を認め、50%阻害濃度の値は0.120 nMであった。つづいて、SK-LMS-1細胞を重症複合免疫不全マウスに皮下移植を行い、LMSのXenograftマウスモデルを樹立した。腫瘍体積が90 mm ³ に達した後、2群にわけCD70-ADC投与群と、Control-ADC投与群を作成した。それぞれの薬剤を1日、4日、8日、11日目の計4回尾静脈投与を行った。薬剤投与開始後24日目の腫瘍体積はControl-ADC群で285.5 mm ³ であったのに対し、CD70-ADC投与群で129.8 mm ³ と有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた ($P<0.001$)。Patient-derived xenograft (PDX) マウスモデルにおけるCD70-ADCの抗腫瘍効果を確認するため、LMS患者の手術検体を用い、CD70の発現が確認できた腫瘍を高度免疫不全マウスに皮下移植し、PDXマウスモデルを樹立した。Xenograftマウスモデルと同様の方法でPDXマウスにおけるCD70-ADCの抗腫瘍効果を検討したところ、薬剤投与開始後24日目の腫瘍体積がControl-ADC投与群で837.7 mm ³ であったのに対し、CD70-ADC投与群で128.1 mm ³ と有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた ($P<0.01$)。CD70-ADCが腫瘍内の細胞に薬効を示しているかを検討するため、CD70-ADCを投与後24時間後にPDXマウスの腫瘍を摘出し、G2/M期の細胞を標識するPhospho-Histone H3で免疫組織化学染色を行った。Control-ADC投与群では2.8%の細胞が染色されていたが、CD70-ADC群では5.3%の細胞が染色されており有意に染色される細胞数が増加していた ($P<0.01$)。この結果はG2/M期細胞周期で増殖が停止している細胞が増加していることを示唆しており、CD70-ADCにconjugateされているMMAFによる作用と考えられた。いずれのマウスモデルにおいてもCD70-ADC投与群とControl-ADC群でマウスの体重に有意差は認めなかった。	
〔総括(Conclusion)〕 本研究はCD70がLMSにおいて高い割合で発現している治療標的であることを示した。CD70は正常細胞での発現はほとんど認めないため、治療標的として適していると考えられたためCD70-ADCを作成した。CD70-ADCはLMSのXenograftマウスモデルだけでなくPDXマウスモデルにおいても抗腫瘍効果を認めており、臨床応用へ向けた今後の研究が期待される。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		中江 瑠璃子	
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	木下 正
	副 査	大阪大学教授	土岐 裕一郎
	副 査	大阪大学教授	高野 真一
論文審査の結果の要旨			
<p>本研究ではiTRAQ法という細胞膜蛋白の網羅的な蛋白発現解析手法を用い、LMS細胞で高発現している膜蛋白質としてCD70を同定し、LMS臨床検体でも高頻度でCD70が発現していることを確認した。抗CD70抗体を作成し、CD70陽性LMS細胞における細胞傷害効果を検討したが、有意な傷害効果を認めなかった。そのため抗CD70抗体に微小管阻害薬であるモノメチルアウリスタチンF を結合させた抗体薬物複合体であるCD70-ADCを作成した。CD70-ADCはCD70陽性LMS細胞に対して著明な細胞傷害効果を認めた。またLMS細胞およびLMS患者腫瘍検体を皮下移植したマウスモデルにおいて腫瘍体積がCD70-ADC投与群で有意に抑制されることを示し、CD70-ADCのLMSに対する抗腫瘍効果を示した。本論文はCD70-ADCがLMSに対する新たな治療選択となることを示しており、学位の授与に値すると考えられる。</p>			