

論文審査の結果の要旨

氏名 生内 寿文

本論文は二章からなり、第一章は抗不溶性フィブリン抗体の低分子化と適切な膵がんモデルマウスの選定について、第二章は抗不溶性フィブリン Fab を基本骨格としたがん分子イメージングプローブの生体内分布、腫瘍集積性および血液凝固・線溶系に対する毒性試験について述べられている。

第一章ではまず抗不溶性フィブリン抗体 (102-10 IgG) の低分子化を目的とした、同抗体からの一本鎖抗体 (scFv) の作製および Fab 化について述べられている。作製した 102-10 scFv は結合活性を有していたが、親和性と収量の問題からそれ以降の研究応用をいったん断念している。一方、作製した 102-10 Fab は結合特異性、親和性および収量の観点においてがん分子イメージング応用が可能なレベルとし、第二章でのがん分子イメージングプローブの基本骨格へと用いられており、課題解決のために適切な対応と判断がされている。続いて開発した分子イメージングプローブを評価するための担がんモデルマウスの選定について述べられている。複数の膵がんモデルマウスにおいて組織学的手法による比較検討を行い、膵がんを自然発症する遺伝子改変モデル (LSL-Kras^{G12D}; LSL-Trp53^{R172H}; Ptf1a-Cre) マウスでのみヒト膵がんと組織学的に類似する豊富ながん間質形成および不溶性フィブリンの強い沈着を筆者は認めている。したがって、このモデルマウスを用いた実験による実証はトランスレーショナルリサーチを念頭に置いた本研究において適切であったと考えられる。

第二章では第一章で予備検討を行った 102-10 Fab プローブによる LSL-Kras^{G12D}; LSL-Trp53^{R172H}; Ptf1a-Cre マウスのがん分子イメージングについて、さらなる解析を実施している。102-10 Fab の結合活性は第一章においても ELISA により測定していたが、エピトープペプチドをリガンドにすることで表面プラズモン共鳴 (SPR) 解析によっても測定可能とする実験系の構築に成功したことを報告し、結合活性について多角的な解析がなされている。102-10 Fab プローブは、生体投与後 3 時間で統計的有意差 ($p < 0.05$) を持って腫瘍へ集積し、投与後 24 時間でその大部分が主に尿による排泄経路で体外へ排泄されることが確認されており、イメージングプローブ投与当日の検査実施を可能とする、研究当初の目的に応じたプローブであったことが実証されている。さらに 102-10 Fab プローブの投与後 3 時間で示された腫瘍集積性は、確かにがん間質の不溶性フィブリン

沈着に由来するものであることが、腫瘍組織の蛍光多重染色により論理的に証明されている。また 102-10 Fab の毒性試験についても実施している。筆者は 102-10 Fab プローブの臨床応用を最終目的としており、血液凝固関連因子を標的とした抗体医薬の臨床試験において凝固阻害を示した過去の報告もあることから毒性試験の実施は臨床開発上極めて重要な試験の一つであり、それを開発初期に行った意義は大きい。102-10 Fab は *in vitro* でフィブリンゲル形成および分解反応への影響はないことが述べられており、また *in vivo* で血小板の活性化および血小板数、内因系凝固機能、外因系凝固機能、フィブリノーゲンレベルに対する影響もないことが確かめられている。

論文提出者は、がん間質中に存在する不溶性フィブリンはがん分子イメージングの標的として有望であり、その評価にはヒト膵がんに類似する特性のがん組織を自然発症する LSL-Kras^{G12D} ; LSL-Trp53^{R172H} ; Ptf1a-Cre マウスが適切であり、102-10 Fab がそのイメージングプローブの基本骨格として腫瘍集積性およびイメージング時間において優れた特性を持っている、この三点を再現および発見している。また研究目的に応じた適切な実験系から結果を取得し、それに対し論理的考察がなされている。加えて SPR 解析により 102-10 IgG のエピトープペプチドを用いることで不溶性フィブリンそのものに対する解離定数ではないもののその測定法の確立、不溶性フィブリンの免疫組織化学染色法の確立、抗不溶性フィブリン抗体の血液凝固・線溶性に対する毒性試験の三点については論文提出者が新規に行ったことであり、今後の抗不溶性フィブリン抗体の抗体医薬品開発におけるその意義は大きいと考えられる。

なお、本論文は第一章、第二章ともに国立がん研究センターの淵上弥史氏、古屋文昭氏および安永正浩博士、東京大学大学院修士課程の高塚直幸氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1991 字