

氏名	木下 理恵
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博甲第5157号
学位授与の日付	平成27年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 化学生命工学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Development of REIC/Dkk-3 biologics using a novel gene expression system (新規遺伝子発現システムを用いた REIC/Dkk-3 バイオ医薬品の開発)
論文審査委員	准教授 二見 淳一郎      教授 今村 維克      教授 大槻 高史

### 学位論文内容の要旨

がん治療の奏効率の改善は 21 世紀における最大の医療課題である。既存の外科手術・化学療法・放射線治療には限界があり、完治困難ながんに対する次世代の治療法として、「がん細胞の選択的アポトーシス誘導」と「抗がん免疫の活性化」の 2 つの治療効果を発揮する遺伝子治療・免疫療法への期待が高まっている。

私たちは、上記の 2 つのがん治療に好ましい生理活性を 1 つの遺伝子発現で実現する方法として、がん抑制遺伝子 REIC/Dkk-3 (Reduced expression immortalized cell/Dickkopf-3) を用いたバイオ医薬品の開発を進めている。REIC/Dkk-3 を用いたがんの遺伝子治療では、次の 2 段階の作用機序が示唆されている。最初の作用点として、REIC/Dkk-3 タンパク質をがん細胞内で過剰発現させることで小胞体ストレスを介した高効率な「がん細胞の選択的アポトーシス誘導」がおこる。一方で、正常細胞ではアポトーシスは誘導されず、小胞体ストレス応答として IL-7 の産生が誘導され、NK 細胞が活性化されて抗腫瘍効果を増強する。さらに細胞外に分泌した REIC/Dkk-3 タンパク質には樹状細胞を活性化する作用があり、「抗がん免疫の活性化」を誘導する。私たちは、第一のバイオ医薬品としてアデノウイルスを用いた遺伝子治療製剤を開発し、岡山大学病院において前立腺がんを対象とした局所腫瘍内投与での臨床研究を実施中である。本研究では、抗がん作用を高めた第 2 世代の REIC/Dkk-3 医薬品の開発を目指して実験を進め、治療遺伝子の下流にエンハンサー領域を挿入することで既存のベクターより高効率に遺伝子を発現可能なアデノウイルスベクターを構築した。さらに、REIC/Dkk-3 タンパク質の生産・精製方法を確立し、抗がん免疫活性化を担当するドメインを同定した。本研究により、現在の製剤を進展させた第 2 世代のバイオ医薬品、さらに抗がん免疫活性化剤として実用化が期待される REIC/Dkk-3 タンパク質製剤の基盤となる技術が開発された。

## 論文審査結果の要旨

近年の臨床研究の進展により、がん治療分野においては「がん細胞の部分的破壊」と「腫瘍免疫応答」の相乗効果が実現できる治療法の優位性が極めて高いことが確認されている。多くのがん細胞で発現が抑制されている REIC/Dkk-3 をがん細胞内で強制発現させる遺伝子治療法は上記の2つの活性を同時に誘導することが確認されており、バイオ医薬品として有望な候補分子である。本論文では、REIC/Dkk-3 を遺伝子治療薬およびタンパク質製剤として実用化を目指す研究の過程で、以下の3点の成果について報告されている。1つ目は動物細胞内での組換えタンパク質のベクターに配置するプロモーター・エンハンサー配列の配置を詳細に検討し、大幅な発現効率の上昇に成功しており、様々なタンパク質で汎用的に活用できる有用なタンパク質発現ベクターの開発に成功している。2つ目は実際に、この新開発ベクターを REIC/Dkk-3 を発現させるアデノウイルスベクターに搭載し、より少量の投与量で高い抗腫瘍効果が得られることを実証している。3つ目は、この高発現ベクターを活用して生産した REIC/Dkk-3 タンパク質を用いて、安定性の高い Cys-rich ドメインが抗腫瘍免疫活性の誘導に必須のドメインであることを証明し、REIC/Dkk-3 タンパク質のみで抗腫瘍免疫誘導を伴う抗腫瘍効果が誘導できることを証明した。一連の研究成果は REIC/Dkk-3 をバイオ医薬品として実用化を目指す研究において極めて重要な進捗と評価され、審査委員の全員が本論文を学位にふさわしい論文であると高く評価した。