京都大学	博士（　　医　　学）	氏　名	楊　麗英
論文題目	Targeting Interleukin-4 Receptor α with Hybrid Peptide for Effective Cancer Therapy （ハイブリッドペプチドを用いたInterleukin-4 Receptor αを標的とした効果的な抗癌療法）		

（論文内容の要旨）

イムノトキシンは、癌細胞表面に発現する癌特異的な抗原や受容体などを標的とする抗体やリガンドに対して、殺細胞作用のある生物毒素（緑膿菌外毒素など）を結合させた組み換えタンパク質製剤であり、癌の分子標的治療法の一つとして 1980 年代から盛んに研究開発がなされてきた。しかしながら、イムノトキシンは主にタンパク質製剤であるため、免疫原性、腫瘍内への低浸透性、肝毒性や腎毒性の誘発、高い製造コスト・薬価などいくつかの欠点を有する。当研究室で見出したハイブリッドペプチドは癌細胞表面の標的結合ペプチドと細胞膜溶解型（lytic）ペプチドからなり、タンパク質製剤に比べ分子量が小さく、全化学合成可能であり、イムノトキシンが抱える問題点を克服でき、次世代の癌分子標的治療薬の一つとして期待される。lytic ペプチドは 15 個 の D および L 体アミノ酸から構成され、正電荷アミノ酸を多く含み、癌細胞膜選択的に膜溶解作用を発揮する。一方、Interleukin-4 Receptor α(IL-4Rα)は近年、膵臓癌、腎癌、頭頚部癌など様々な癌細胞表面に高発現していることが明らかとなっている。

そこで本研究では、IL-4Rα を高発現する癌細胞を標的としたハイブリッドペプチド IL-4Rα-lytic を新たに設計し、in vitro および in vivo における殺細胞効果および抗腫瘍効果の検討を行った。

WST-8 assay を用いて、IL-4Rα-lytic ハイブリッドペプチドと lytic ペプチドのみとの殺細胞効果を in vitro において評価した。IL-4Rα-lytic ペプチドは IC_{50}（細胞増殖阻害 50%に要する薬物濃度）が 3.6μM-18.5μM の濃度において、IL-4Rα 高発現の各種ヒト細胞株である、膵臓癌株 BXPC-3、SU.86.86.、脳腫瘍株 T98G、A172、肺癌株 H322、乳癌株 MDA-MB-231 に対して強い殺細胞効果を示した。一方、IL-4Rα 低発現ヒト正常膵臓上皮細胞株に対する IL-4Rα-lytic ハイブリッドペプチドの細胞毒性は、上述の癌細胞に比べてはるかに低いことが確認された。また、IL-4Rα-lytic は lytic ペプチドのみよりも殺細胞効果が高く、IL-4Rα 結合ペプチドとのハイブリッド化による殺細胞効果の増強度は、使用した各種癌細胞株における IL-4Rα の発現量と良好な相関性を示した。IL-4Rα-lytic の経時的な殺細胞効果を調べた結果、IL-4Rα-lytic は、BXPC-3 細胞に対する 5-10 分の曝露により約 50%の細胞死を誘導したが、lytic ペプチド単独では顕著な変化は見受けられなかった。SubG1 細胞周期解析により、IL-4Rα-lytic は、癌細胞に対して主にネクローシスタイプの細胞死を誘導することが示唆された。BXPC−3 および MDA-MB-231 を皮下移植したマウス担持モデルを用いて、IL-4Rα-lytic を局所腫瘍内および全身静脈投与により、in vivo における抗腫瘍効果を調べた。コントロール群(生理食塩水投与群)と比べ、2, 5mg/kg の IL-4Rα-lytic の投与群において、用量依存的な抗腫瘍効果が確認された。さらに、病理組織学的解析の結果、腎臓および肝臓を含む主な臓器においては、顕著な毒性は見受けられなかった。

以上の結果から、本研究で設計した、IL-4Rα-lytic ハイブリッドペプチドは IL-4Rα を高発現する癌細胞株に対して選択的にかつ短時間で殺細胞効果を発揮し、効果的な抗腫瘍効果を有することが明らかとなった。IL-4Rα-lytic ハイブリッドペプチドは、IL-4Rα を高発現する癌細胞に対する、新たな癌分子標的治療法の一つになりうる可能性が示された。

（論文審査の結果の要旨）

申請者は、Interleukin-4 Receptor alpha (IL-4Ra)を高発現する癌細胞に対する、新たな癌分子標的治療薬の候補である IL-4Ra-lytic ハイブリッドペプチドに関する研究を実施した。

本研究において、IL-4Ra-lytic を新たに設計し、IL-4Ra-lytic の評価を、（１）*in vitro* での癌細胞と正常細胞の選択的な殺細胞効果の評価、（２）細胞死のメカニズムの解明、（３）i*n vivo* での抗腫瘍効果の評価、という３つの項目に対して実施した。実験結果から、IL-4Ra-lytic は本研究で使用した IL-4Ra を高発現している癌細胞を選択的に殺傷し、本研究で設計された IL-4Ra 結合ペプチドと膜溶解性 lytic ペプチドとのハイブリッド化による殺細胞効果の増強度が、IL-4Ra の発現量と正の相関を有することを確認した。さらに、IL-4Ra-lytic は、癌細胞に対して主にネクローシス様の迅速な細胞死を誘導することを明らかにした。また、BXPC−３および MDA-MB-231 を皮下移植したマウス担癌モデルにおいて、IL-4Rα-lytic を局所腫瘍内および全身静脈投与により、顕著な毒性は確認されず、用量依存的な抗腫瘍効果を示した。以上の結果から、IL-4Rα-lytic ハイブリッドペプチドは IL-4Rα を高発現する癌細胞株に対する、新たな癌分子標的治療法の一つとして期待できるという結論を提示している。

以上の研究は IL-4Rα-lytic ハイブリッドペプチドの薬効プロファイルの解明に貢献し IL-4Rα を高発現する癌細胞に対する、新たな癌分子標的治療法に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（　医学　）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成　26　年　2　月　10　日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降