京都大学	博士（医学）	氏　名	西田　道夫
論文題目	Novel humanized anti-CD20 monoclonal antibodies with unique germline VH and VL gene recruitment and potent effector functions (H 鎖可変領域および L 鎖可変領域にユニークな生殖細胞系遺伝子を使用したものであって強いエフェクター機能を有するヒト化された新規な抗 CD20 モノクローナル抗体)		

（論文内容の要旨）

抗 CD20 モノクローナル抗体である rituximab（日本名：リツキサン）は B 細胞腫瘍治療に最も広く使用されているキメラ抗体医薬である。しかしながら、この治療に応答するのは非ホジキンリンパ腫患者の半分足らずである。細胞膜 CD20 を標的として、異なる機能特性若しくはさらに強化された細胞障害性活性を有するヒト化抗体が新規に開発されれば、難治性や再発性患者の治療に広く貢献できるはずである。

数多くのマウス抗 CD20 抗体の中で 1K1791 は、B 細胞系腫瘍細胞の in vitro 増殖に対してアポトーシス誘導を含む顕著な阻害活性を有する。これをキメラ化したものを他のキメラ化抗体や rituximab と比較したところ、より優れた抗体依存性細胞障害性（ADCC）及び補体依存性細胞障害性（CDC）が認められた。1K1791 を由来として、異なるヒト化設計技術を応用して 16 種類のヒト化モノクローナル抗体が作製され、それらの生物学的機能特性や物理学的性質の違いが比較された。これらのヒト化抗体の中には、rituximab や ofatumumab（クローン名：2F2、欧米で臨床第Ⅲ相試験中のヒト抗 CD20 モノクローナル抗体）との比較においても著しく高い ADCC, CDC, 細胞生育阻害活性及びカスパーゼ非依存性のアポトーシス誘導能を示すものが見出された。また、1K1791 可変領域の CDR（相補性決定領域）のアミノ酸残基の置換は小幅なものであったにもかかわらず、異なった方法によりヒト化された抗体の間には機能特性の違いが幅広く観察された。

親抗体であるマウス抗体 1K1791 及びそのキメラ抗体で示された優れた活性が VH（H 鎖可変領域）及び Vκ（Lκ鎖可変領域）遺伝子のリアレンジメントによって生じたものかを調べるために、数多くの抗 CD20 モノクローナル抗体の H 鎖及び L 鎖可変領域のジャームライン遺伝子が解析された。結果、CD20 を標的とするモノクローナル抗体の VH 及び Vκのジャームライン遺伝子の使われ方には驚くべき保全が認められた。すなわち、VH の解析において 23 種類のマウス抗 CD20 モノクローナル抗体のうち 18 種類に同一のジャームライン遺伝子“J558.42”が使用されており、さらに 4 種類には同じ“J558”グループに属する非常によく似た遺伝子が使用されていた。これにより、23 種類のうち 22 種類が VH1 ファミリーに属するものであったことが判明した。唯一の例外が 1K1791 であり、VH9.12 ジャームライン遺伝子（VH9 ファミリー）を使用としていた。1K1791 は Vκ鎖ジャームライン遺伝子の使用においても独特であり、ほとんどの抗体（23 種類の抗体のうち 21 種類）に Vκ4/5 ファミリーに属する遺伝子が使用されていたのに対し、それとは全く異なる Vk19/28 ファミリー遺伝子が使用されていた。

ジャームライン遺伝子の採用と抗体の有する機能特性の間の相関関係についてはまだ解っていない。しかしながら、臨床的効果が報告されている既知の rituximab や ofatumumab とは全く異なる由来の可変領域遺伝子を有するもので、且つより優れた機能的特性を有するヒト化抗 CD20 モノクローナル抗体が本研究において同定された。ここに報告する in vitro の試験結果は、今後の in vivo 動物モデル試験、引き続いてのヒトに対する臨床試験を強く支援するものである。

（論文審査の結果の要旨）

抗CD20モノクローナル抗体であるリツキシマブはＢ細胞腫瘍治療に最も広く使用されているキメラ抗体医薬であるが、この治療に反応するのは非ホジキンリンパ腫の半分足らずであり、さらに優れた新規抗体が求められている。今回作製された約20種類のマウス抗 CD20抗体のうち「1K1791」は、H鎖、L鎖ともに、多くの抗 CD20抗体とは異なるファミリーのユニークな配列を有し、そのマウス−ヒトキメラ化抗体は他のキメラ化抗体と較べて顕著な抗体依存性細胞障害性（ADCC）及び補体依存性細胞傷害性（CDC活性）を誘導した。そこで、これをもとに16種類のヒト化抗体を様々な方法で作製した。これらの抗体はリツキシマブやオファツムマブ（臨床開発中のヒト抗体）との比較で有意に高い細胞傷害性活性を示し、リツキシマブ耐性の細胞に対しても顕著な効果を示した。このうち特に2つのヒト化抗体はクロスリンク抗体非存在下でも明らかなアポトーシス能があることが示されたが、その他のヒト化抗体、リツキシマブやオファツムマブではクロスリンク抗体無しでの誘導は認められなかった。従って、当該ヒト化抗体には、より優れたADCC及びCDCがあるばかりでなく、他の治療用抗CD20抗体とは区別し得る細胞死誘導シグナルの誘導があると推定された。これらのデータは今後の臨床開発を強く支援するものである。

以上の研究はヒトB細胞膜上CD20分子を介したエフェクター機能及びアポトーシスなどの細胞障害性効果の解明に貢献し、且つ既存の治療薬では効果の乏しい難治性や再発性患者の治療法開発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のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成20年7月28日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、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