

氏名	橋爪 敏浩
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3653号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科機能分子化学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Studies on molecular targeting of ErbB2 with an artificial ligand (人工リガンドによるErbB2の分子標的の研究)
論文審査委員	教授 妹尾 昌治 教授 山田 秀徳 教授 宍戸 昌彦 教授 尾坂 明義

学位論文内容の要旨

本論文では近年、盛んに研究されている分子標的治療に焦点をあて、日本で最も罹患率が上昇している乳癌で高発現するErbB2の分子標的について研究した成果をまとめた。ErbB2は上皮細胞成長因子受容体(EGFR)ファミリーの1つであり、他にEGFR/ErbB1、ErbB3、ErbB4の3種類がある。このファミリーはチロシンキナーゼ型受容体であり、細胞外ドメインにリガンドである上皮細胞成長因子ファミリーが結合する事で受容体の二量体化が起こり、細胞内のシグナル伝達が惹起される。特にErbB1やErbB2の過剰発現や変異は様々な細胞の癌化に大きく関与している。ErbB1は胃癌等の上皮癌、ErbB2は乳癌、大腸癌、卵巣癌等幅広い腫瘍の症例において遺伝子増幅や転写レベルでの発現増強が認められているためErbB1やErbB2を標的とする癌治療は有効であると考えられている。しかし、ErbB2は未だリガンドが同定されていないオーファン受容体であり、これに対するリガンドが利用できればその分子標的の効率も上げられると考えられる。

第1章ではErbB2に特異的に結合すると報告されているEC-1ペプチドのErbB2標的能について評価するため、ヒトErbB1、2、3、4をコードする遺伝子をクローニングし、細胞外ドメインを可溶性受容体として発現する系を構築した。そして、可溶性ErbB1、3、4はリガンドとの結合親和性を示し、これらの分子構築の妥当性を確認した。

第2章では現在ErbB2過剰発現細胞を標的するために分子標的治療として抗体や低分子チロシンキナーゼ阻害剤が開発されている。これらによる治療効果にはErbB2の細胞内移行および細胞内代謝が重要であると考えられる。しかし、これまでErbB2過剰発現細胞におけるErbB2の細胞内移行は十分に特徴付けられていない。従って、一般に分子標的効果において差が認められる2つのErbB2過剰発現細胞株SKBR3細胞とSKOV3細胞においてErbB2の細胞内移行の評価を行い、これらが異なる挙動を示す事を明らかにした。

第3章ではさらにこれらErbB2過剰発現細胞へ特異的に薬剤を送達するシステムを作成し評価した。ヒトB型肝炎ウイルスが肝細胞を特異的に認識する事を利用した外被タンパク質と脂質のみで構成されるドラッグデリバリーベクターに対し、ヒト肝臓細胞認識部位の代わりにEC-1ペプチドを用いてErbB2過剰発現細胞の標的を行い、SKBR3細胞とSKOV3細胞に対し同様の細胞内移行を認め、細胞に依存しない有効性が示唆された。

論文審査結果の要旨

上皮成長因子受容体 (ErbB) ファミリーを構成するタンパク質のひとつErbB2はこのファミリーの中では唯一リガンドが同定されていないI型のチロシンキナーゼ受容体である。ErbB2遺伝子は乳癌の約30%で過剰な発現が認められ、これらの癌は転移性に富み予後が悪いとされている。したがって、ErbB2は重要な癌のマーカーであり、これを分子標的する治療薬の研究には大きな意義がある。本論文ではまず、ErbB2に特異的に結合するリガンドのスクリーニングと結合特異性の解析を行うために4種類存在するすべてのヒトErbB1,2,3,4の細胞外領域からなる可溶性受容体 (可溶性ErbB) を遺伝子組換えタンパク質として調整した。可溶性ErbB1,3,4は二量体を形成して既知のリガンドを特異的に結合できたため、可溶性ErbB2もまたこれらと同様の構造をとると考えた。そこで、ErbB2に特異的に結合する人工ペプチドEC-1をクラゲ緑色蛍光タンパク質 (GFP) に融合したEC-GFPを調整し、可溶性ErbB2を利用してその結合特異性を評価した。ErbB2過剰発現細胞として知られる乳癌由来SKBr3細胞および卵巣癌由来SKOv3細胞においてもEC-GFPの結合性を評価して、これらの細胞を標的することができることを確認した。さらに、EC-GFPが結合するとSKOv3細胞ではErbB2が細胞内へ移行するのに対して、SKBr3細胞では細胞表面に留まり、細胞内へ移行しないことを明らかにした。このように細胞によりErbB2の挙動に差があることはまったく新しい知見である。ErbB2の分子標的医薬にも細胞により効果に差が認められる場合があり、ErbB2の細胞内移行の効率が薬効と関連している可能性が考えられた。そこでこのEC-1を一価から多価でErbB2に結合させることがさらに有効な分子標的医薬の形になると考えて、ウイルスタンパク質から成る中空ナノ粒子の表面にEC-1を提示してErbB2への結合を検討した。その結果、SKBr3細胞でも細胞内移行が可能であることを示した。本方法が、薬剤を細胞内へ送達する有効なDDSベクターのデザインとして今後有望であることを認め、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評価した。