

KM Mouseを用いたアポトーシス誘導ヒト抗体による新規癌分子標的治療の開発

株式会社 ラボ

背景・目的

研究協力機関である札幌医科大学内科学第一講座では、これまで、多くの消化器癌において過剰発現しているレセプター型チロシンキナーゼであるErbB-2に対するモノクローナル抗体を全く独自に確立し、この抗体が抗体単独で、世界で初めて強力にアポトーシスを誘導すること、そして、その効果はこれまでに類をみない強力な抗癌作用であることを明らかにしてきた。本研究では、このアポトーシスを誘導する抗体のエピトープを用い、ヒト抗体を産生するKM Mouseにより、アポトーシス誘導抗ErbB-2ヒト抗体を作製し、副作用の完全でない、強力な癌治療薬の開発を目指すことを目的としている。

内容・方法

平成15年度から開始しているKM Mouseを用いたヒト抗体作成の前段階として、平成14年度は、このアポトーシス誘導抗ErbB-2抗体E401をマウス・ヒトキメラ化を行なったCH401によるアポトーシス誘導の機序解析を中心に進めた。この機序を詳細に明らかにすることは、現在作成を進めているヒト抗体を投与する際に強力な理論的背景となるばかりでなく、今後の製品化に向けて、本抗体治療に付加価値を与える可能性が高いと考えられる。このことから以下の研究を行なった。

細胞のアポトーシスに関連して、近年、MAPK経路、PI3K-Akt経路、caspase経路などの細胞内情報伝達系の役割が注目されている。本研究では、CH401投与に伴うこれらの活性の変化について、ウェスタンブロット法および*in vitro*キナーゼアッセイ法を用いて検討した。さらに、CH401にMAPK阻害剤を併用した場合の抗癌効果の増強について、*in vitro*および*in vivo*で検討を加えた。

結果・成果

抗体CH401がMAPKのうちのERKおよびPI3K-AktのAktの活性を抑制すること、さらに、JNKおよびp38 MAPK経路に強い活性化をも誘導することを見出した。従って、CH401はERKやAktなどの生存シグナルを抑制するだけでなく、アポトーシス促進に機能するJNKおよびp38経路を活性化することによって、ErbB-2過剰発現癌細胞にアポトーシスを誘導することが明らかになった。

さらに、CH401投与が、直接的なアポトーシス実行機構であるcaspase経路 (caspase-3, 8, 9) に与える影響についても解析を行った。その結果、CH401投与8時間後からエフェクターcaspaseであるcaspase-3の有意な活性化を検出し得た。さらに、

代表的な2つのイニシエーターcaspase (caspase-8および9) の活性を検討したところ、CH401投与により、主にcaspase-8が活性化されることを見出した。従って、CH401による癌細胞のアポトーシス誘導には、caspase-8、caspase-3の経路が重要であると考えられた。

MEK阻害剤であるU0126を用いて、ERK経路の活性をさらに積極的に抑制することで、CH401のアポトーシス誘導効果をさらに促進することが可能であるか否かを検討した。CH401にU0126を併用した群では、投与2時間後、32 %の細胞でアポトーシスが誘導されていた。一方、CH401単独投与群では、抗体投与2時間後のアポトーシス誘導細胞の比率は8 %であり、CH401にU0126を併用することで、より強いアポトーシス誘導効果が得られることが認められた。さらに、*in vivo*においても、CH401にU0126を併用することによって、抗腫瘍効果が増強されるかを検討した。ErbB-2過剰発現胃癌細胞株JRSTを移植し、腫瘍を形成したSCIDマウスを用いて検討した。コントロール群では腫瘍が次第に増大し、25日目には $33490 \pm 2564 \text{ mm}^3$ に達していたが、CH401単独投与群、これにU0126を併用した群では、それぞれ $6367 \pm 452 \text{ mm}^3$ 、 $4186 \pm 325 \text{ mm}^3$ と腫瘍の増殖の著明な抑制が認められた。すなわち、抗体単独でも強力な抗癌作用が認められ、U0126併用群では、さらに、効果の増強が認められた。

以上のことより、CH401のアポトーシス誘導効果は、MAPキナーゼ、PI3K-Akt経路を介しているものであり、最終的には、caspase8、caspase3を経ていることが明らかになった。この機序解析の結果から、さらに、MAPK阻害剤を併用したところ、*in vivo*および*in vitro*の両者において、アポトーシスの増強が認められた。このことは、現在行なわれている抗癌剤に抗体を併用し、その副作用を減じるという方法とは全く異なり、抗体単独で十分な治療効果が期待でき、さらに、その作用増強を目指した場合に、従来の抗癌剤ではなく、生物物質であるMAPK阻害剤を併用するという、理想的な癌治療を指向するもので、現在作成しているヒト抗体を用いることに大きな優位性を付加するものであると考えられた。

今後の展望

現在、KM Mouseを用いた抗ErbB-2ヒト抗体の作成にとりかかっているが、今後はまず、作成した抗体の強力な抗癌作用の検証を行うとともに、その抗体のヒト投与における安全性を確認する。次に、道立試験研究機関などと協力し、その薬物動態を明らかにする。また、DNAアレイ技術を用い、患者ごとの本抗体治療の効果予測を可能にしたい。このことは、本抗体治療の最適な条件を明らかにすることとなり、このシステムを確立することは、本抗体にテラーメイド治療としての価値を付与するものであると考えられる。そして、本抗体の作成と、これらのシステムの確立は北海道を抗体医薬産業のメッカとならしめるに足るものであると考えられる。