

学 位 論 文 題 名

ヒト型化抗インターロイキン-6受容体抗体のサル類を
用いた有効性および安全性に関する研究

学位論文内容の要旨

hPM-1 はヒト IL-6 受容体 (IL-6R) に対するマウスモノクローナル抗体をもとに、相補性決定領域移植法 (CDR-grafting) により作製されたヒト型化抗体 (遺伝子組換え体) であり、多発性骨髄腫などの IL-6 関連疾患に対する治療薬として期待されている。

hPM-1 の有効性および安全性を明らかにするため、まず最初に hPM-1 に対し交差反応性を有する動物種の選定を行った。サル類の末梢血リンパ球を用いて、hPM-1 の結合性をフローサイトメトリーにより検討したところ、hPM-1 はカニクイザルのリンパ球に結合することが確認された。さらに PCR 法によりカニクイザルの IL-6R をクローニングし、ヒト IL-6R との相同性を調べた結果、N 末端側 14 アミノ酸を除く細胞外領域のヒトとの相同性は約 97% と非常に高いことが明らかとなった。また hPM-1 は T リンパ球の増殖を抑制し、hPM-1 はカニクイザル IL-6R に結合するとともに、IL-6 の作用を阻害することが確認された。

次にカニクイザルを用いて *in vivo* での hPM-1 の IL-6 阻害作用を検討した。5 μ g/kg の IL-6 の 7 日間連続投与により、血小板数は投与前に比べ 2 倍に増加するとともに、C 反応性蛋白は 0.15～0.17mg/ml のレベルまで上昇した。一方、これらの変化は 5 mg/kg の hPM-1 の単回前処置により、完全に抑制された。また同時に測定

した hPM-1 の血中半減期 ($\beta t_{1/2}$) は 6.3~10.5 日であり、血中に長く存在することが明らかとなった。

最後にカニクイザルに 4 mg/kg および 40 mg/kg の hPM-1 を、週 1 回の頻度で 13 週間反復投与し、その毒性学的影響について検討した。これと併せて反復投与時の hPM-1 の血中動態を測定するとともに、骨髓腫細胞の増殖の場である骨髓への移行性についても検討した。また抗 hPM-1 抗体の発現の有無についても検討した。その結果、一般状態、体重、血液検査、血清生化学検査、尿検査、体温、心電図検査、病理学的検査のいずれにおいても、hPM-1 投与によると思われる変化は全く認められなかった。また hPM-1 の血中濃度は 4 mg/kg と 40 mg/kg との間で線形性が認められるとともに、いずれも IL-6 の作用を十分阻害すると考えられる濃度で実験期間中維持されていたことが確認された。骨髓液中の hPM-1 の濃度は血中のそれとほぼ一致し、骨髓への良好な移行性が確認された。抗 hPM-1 抗体は 4 例中 1 例においてのみ検出されたが、これはヒト型化によって抗原性が低減した結果と考えられた。

以上、本研究により、霊長類における IL-6R の相同性と hPM-1 に対する交差反応性が明らかになるとともに、hPM-1 は IL-6 関連疾患に対する治療薬として有用である可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 中 里 幸 和

副 査 教 授 齊 藤 昌 之

副 査 教 授 藤 田 正 一

副 査 教 授 藤 永 徹

学 位 論 文 題 名

ヒト型化抗インターロイキン-6受容体抗体のサル類を用いた有効性および安全性に関する研究

hPM-1 はヒトインターロイキン (IL) -6 受容体 (IL-6R) に対するマウスモノクローナル抗体をもとに、相補性決定領域移植法により作製されたヒト型化抗体 (遺伝子組換え体) であり、多発性骨髄腫などの IL-6 関連疾患に対する治療薬として期待されている。本論文は、hPM-1 の有効性および安全性を明らかにするため行ったものである。

まず最初に hPM-1 に対し交差反応性を有するサル類の選定を行うために、末梢血リンパ球に対する hPM-1 の結合性をフローサイトメトリーにより検討した。その結果、hPM-1 はアカゲザルおよびカニクイザルのリンパ球には結合したが、マーモセットのそれには結合しなかった。さらに PCR 法によりカニクイザルの IL-6R をクローニングし、ヒト IL-6R との相同性を調べた結果、N 末端 14 アミノ酸を除く細胞外領域の相同性は高く約 97% であった。また hPM-1 は IL-6 によるカニクイザル B リンパ球の抗体産生および T リンパ球の増殖を抑制し、hPM-1 はカニクイザル IL-6R に結合するとともに、IL-6 の作用を阻害することが確認された。

次にカニクイザルを用いて hPM-1 の IL-6 阻害作用を検討した。5 $\mu\text{g/kg}$ の IL-6 の 7 日間連続投与により、血小板数は投与前に比べ 2 倍に増加するとともに、C 反応性蛋白は 0.15~0.17mg/ml のレベルまで上昇した。これらの変化は 5 mg/kg の hPM-1 の単回前処置で完全に抑制された。また同時に測定した hPM-1 の血中半減期 ($\beta t_{1/2}$) は長く、6.3~10.5 日であった。

最後にカニクイザルに 4 mg/kg および 40 mg/kg の hPM-1 を、週 1 回の頻度で 13 週間反復投与し、その毒性学的影響について検討した。併せて反復投与時の hPM-1 の血中動態を測定するとともに、骨髄腫細胞の増殖の場である骨髄への移行性および抗 hPM-1 抗体の発現の有無についても検討した。その結果、一般状態、体重、血液学的検査、血清生化学的検査、尿検査、体温、心電図学的検査、病理学的検査のいずれにおいても、全く変化は認められなかった。hPM-1 の血中濃度は 4 mg/kg と 40 mg/kg との間で線形性が認められ、実験期間中 IL-6 の作用を阻害す

ると考えられる濃度と骨髄への良好な移行が確認された。抗 hPM-1 抗体は 4 例中 1 例のみで検出された。

以上、本研究は霊長類における IL-6R の相同性と hPM-1 に対する交差反応性を明らかにするとともに、hPM-1 は IL-6 関連疾患に対する治療薬としての可能性を示したもので、創薬研究上高く評価される。よって、審査委員一同は、新倉博文氏が博士（獣医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。