

Title	A novel apoptosis-inducing monoclonal antibody (anti-LHK) against a cell surface antigen on colon cancer cells
Sub Title	大腸癌細胞表面抗原に対する新しいアポトーシス誘導抗体(抗LHK抗体)
Author	松川, 英彦
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.45-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0045

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

A novel apoptosis-inducing monoclonal antibody (anti-LHK) against a cell surface antigen on colon cancer cells

(大腸癌細胞表面抗原に対する新しいアポトーシス誘導抗体 (抗LHK抗体))

松川 英彦

内容の要旨

大腸癌細胞はFasの発現低下や、周囲に浸潤する細胞障害性T細胞に対するFasシステムを介した攻撃からアポトーシスに抵抗性である。加えて抗Fas抗体の全身投与による致死的作用からFasシステムは大腸癌治療には適さないと考えられているが、アポトーシスを介した大腸癌治療の臨床応用は魅力的である。我々はFas抵抗性の大腸癌細胞株colo205に対し細胞障害活性を有する抗LHK抗体を作製しその解析を行った。

colo205で免疫したBALB/cマウスの脾細胞とマウス骨髓腫細胞株Sp2/0からハイブリドーマを作製、colo205に対し細胞障害活性を有するクローンを選別、BALB/cマウスに腹腔内注射し得られた腹水より抗体を精製し抗LHK抗体と命名した。抗LHK抗体のアイソタイプはIgMであった。 [³⁵S]-メチオニンで標識したcolo205から細胞抽出液を作製し、免疫沈降法によりLHK抗原の分子量は70kDaであった。位相差顕微鏡による形態学的観察では、抗LHK抗体がcolo205に細胞死を誘導する過程でbuddingを認めた。Hoechst33258染色で、核の断片化・濃縮を認め、抗LHK抗体添加後のcolo205より抽出したDNAにおいて、DNAラダー形成を認めた。アネキシンV/PI二重染色では、細胞死が誘導される前にアネキシンVの染色性を認めた。以上よりこの細胞死はアポトーシスと考えられた。colo205および白血病細胞株Jurkatに対する細胞障害活性は抗LHK抗体、抗Fas抗体、TNF-αと異なるパターンを示した。colo205における各抗原のIFN-γに対する反応、各種細胞株での各抗原の発現も異なっていたこと、さらに分子量が70kDaであることよりLHK抗原は、Fas、TNF-R、TRAIL-Rとは異なる分子であると考えられた。LHK抗原はヒト大腸癌組織のみならず大腸をはじめとする正常組織でも発現していることが、免疫組織染色およびフローサイトメトリーで示された。LHK抗原の発現頻度は、大腸癌組織の分化度が低下するに従い低下した。これにより大腸癌細胞がLHK抗原を介したアポトーシスから逃れている可能性が示唆された。抗LHK抗体はマウス腹腔播種モデルで著明な抗腫瘍効果を示し、明らかな致死的作用を認めず、その臨床応用が期待される。

以上の事から消化管上皮細胞や皮膚に特異的に発現するLHK抗原は、ヒト大腸癌細胞の増殖・浸潤などに関与した新しい細胞死受容体である可能性が示唆された。

論文審査の要旨

大腸癌のFas抵抗性という特性および抗Fas抗体投与の致死的作用から、Fasを介したアポトーシス機構を大腸癌治療に応用することは困難と考えられている。本研究ではFas抵抗性の大腸癌細胞株 Colo205に対し細胞障害活性を有する新規抗体、抗LHK抗体を作製し、その活性機序がアポトーシスであること、さらに、LHK抗原はFas、TNF-R、TRAIL-Rとは異なる新しいデスレセプターである可能性を提示した。また、LHK抗原発現と大腸癌の分化度との関連性から本抗原の腫瘍マーカーとしての可能性、さらに、マウス腹腔播種モデルでの抗LHK抗体による治療効果から本抗原の治療応用としての可能性が示唆された。

審査ではまず、抗LHK抗体作製の免疫源としてColo205細胞を選別した理由が質問され、浮遊細胞であるColo205の接着因子に関する研究の中で抗体作製を行ったところ、細胞死を誘導する抗体が得られたことから本研究がスタートしたと回答された。次にLHK抗原は他の細胞株や正常大腸上皮にも発現を認めることから、抗LHK抗体がそれらに対してもアポトーシスを誘導するかという質問がなされた。それに対しては、現在までに解析を終了した10種の細胞株（大腸癌4種を含む）においてはアポトーシス誘導は見られなかったと回答された。浮遊細胞数種を含めた更なる検討の余地が残されていること、抗LHK抗体抵抗性細胞株におけるシグナルの解析から新たなアポトーシス抑制機構が見出される可能性があることは、今後の研究課題として期待された。また、正常大腸上皮についてはそのプライマリーカルチャーが困難であるため、単離細胞を用いた系での追求を行っていることが述べられた。LHK抗原の同定手段に関する質疑がなされ、今回行われた免疫沈降法に加えて、今後二次元電気泳動を検討しているとの回答がなされた。この点に関して、DNAクローニングも検討すべきであるとの助言がなされた。次にマウス腹腔播種モデルでの検討に関して、治療効果と考えるべきか、予防効果と考えるべきかとの質問がなされた。癌細胞の腹腔内注射と抗LHK抗体の腹腔内注射の時間間隔を考慮すると後者と考えるべきであるが、抗LHK抗体の治療応用のためにマウスモデルでの投与間隔の再検討および上述の正常大腸上皮におけるアポトーシス誘導の追及を行っているとの回答された。腫瘍マーカーとしての臨床応用の可能性に関連して、大腸癌の分化度とLHK抗原の発現レベルとの相関に関する質問がなされた。LHK抗原は低分化型腺癌に多く発現している傾向があるものの、更なる検討が必要であると回答された。さらに肝転移症例での追求を深めることにより腫瘍マーカーとしての有用性を見出せるのではないかと助言がなされた。

以上のように、本研究は今後検討すべき課題が残されているものの、LHK抗原はFas抵抗性の大腸癌細胞株にアポトーシスを誘導する新しい分子である可能性が示唆され、腫瘍マーカーとして、また大腸癌治療への臨床応用が期待される点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 日比 紀文
外科学 北島 政樹 先端医科学 河上 裕
病理学 坂元 亨宇
学力確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 北島 政樹

試問日: 平成18年12月19日