

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	岡 崎 章 悟
主 論 文 題 名 Development of an ErbB4 monoclonal antibody that blocks neuregulin-1-induced ErbB4 activation in cancer cells (癌細胞におけるneuregulin-1誘導性ErbB4活性化を阻害するErbB4モノクローナル抗体の作製)				
(内容の要旨) がん治療におけるモノクローナル抗体 (monoclonal antibody: mAb) の使用は最も重要な治療戦略の一つとなっている。上皮増殖因子受容体 (Epidermal growth factor receptor: EGFR) ファミリーはErbB1 (EGFR/HER1)、ErbB2 (HER2/c-Neu)、ErbB3 (HER3)、ErbB4 (HER4) の4種類からなるチロシンキナーゼ受容体であり、癌細胞の増殖、生存、遊走を制御し、抗体療法における主要な標的分子となっている。ErbB4はリガンドが結合する細胞外領域を持ち、neuregulin-1-4 (NRG-1-4)、heparin-binding EGF-like growth factor、betacellulin、epiregulinなどのリガンドの結合によりホモ、またはヘテロ2量体を形成することで活性化される。ErbB1、ErbB2に対する抗体はすでに臨床応用されている一方で、ErbB4に対する治療用mAbは未だ承認されておらず、ErbB4が癌抗体療法における有用なターゲットであるかについても明らかとなっていない。 本研究において、私はErbB4に対する新規mAb を作製し、その性状解析を行った。はじめに、免疫原としてGFP融合ErbB4遺伝子をラット肝癌細胞株RH7777にトランスフェクトし、薬剤選択、セルソーティングにより安定発現細胞株を樹立した。ErbB4発現RH7777細胞をF344/Nラットに頻回免疫し、血清中の抗体価の上昇を確認した後、免疫ラットより脾臓を採取、細胞融合法により抗体分泌ハイブリドーマを樹立した。ELISA法およびフローサイトメトリー解析によりスクリーニングを行ったところ、4種類の新規抗ErbB4 mAbを得た。 得られた抗体の抗原特異性を解析したところ、作製した抗ErbB4 mAbは他のErbB familyタンパク質にはほとんど反応せず、ErbB4特異的に反応することが示された。また、細胞株におけるErbB4発現解析を行ったところ、過去の報告にある通り、エストロゲン受容体陽性乳癌細胞株MCF7とT47Dに加え、食道癌細胞株TE-1や膀胱癌細胞株KU-1における発現が認められた。NRG-1によるErbB4の活性化が、抗ErbB4 mAbにより抑制されるか検討を行ったところ、クローンP6-1によるリン酸化の抑制が認められた。さらに、P6-1が細胞増殖に及ぼす影響を検討するため、乳癌細胞株MCF7を用いて、マトリゲルにおけるコロニーフォーメーションに対する影響を解析したところ、P6-1はNRG-1依存的なコロニーフォーメーションを有意に抑制した。 以上の結果より、本研究で樹立した新規抗ErbB4 mAb P6-1はErbB4を機能的に阻害する抗体であり、ErbB4を標的とした治療用抗体として有用であることが示された。				