

抗がん剤耐性の進行性膵管癌に対する新規抗体医薬の開発

佐野 誠¹⁾

Development of novel antibody drug to chemoresistant and advanced pancreatic ductal adenocarcinoma

Makoto SANO¹⁾

要旨

浸潤性膵管癌は難治性悪性腫瘍であり、新たな治療薬の開発が望まれている。本研究においては、抗がん剤耐性の進行性膵管癌に対する新規抗体医薬の開発を目的とし、抗がん剤耐性のヒト膵管癌培養細胞株を抗原としてマウス・モノクローナル抗体を作製した。その結果、正常膵管上皮には反応性を示さないが、間質浸潤の強い中分化型から低分化型腺癌に反応性を示すハイブリドーマ (2G12/E7抗体) の作製に成功した。また、同抗体は脈管浸襲や術後再発といった悪性度との相関を示し、術後の生存曲線においても予後不良マーカーになることが判明した。現在、エピトープや抗腫瘍効果の解析を継続しており、抗体医薬としての実用化に期待している。

1. はじめに

浸潤性膵管癌は膵癌全体の90%以上を占め、未だに早期診断・治療が困難な悪性腫瘍である。膵癌登録報告2007¹⁾によれば、通常型膵癌の切除症例における5年生存率は10%強で、非切除症例においては1%未満と極めて予後不良である。一方、術後再発例を含む切除不能膵癌に対しては、化学療法の延命効果が証明され、ゲムシタピン (GEM) を中心とした化学療法が行われてきた。しかしながら、上野らの報告²⁾によれば、ゲムシタピン単独、あるいはその他の抗がん剤との併用療法においても2年生存率は10%前後と非常に低いことが分かる。そこで、本研究においては、抗がん剤耐性の進行性膵管癌に対する新規抗体医薬の開発を目指し、まず初めに膵管癌特異的なマウス・モノクローナル抗体の作製を試みた。

2. 対象および方法

ゲムシタピン処理した膵管癌細胞株を6週令

BALB/cマウスに免疫 (ip) し、感作脾細胞とマウス・ミエロマ細胞をポリエチレン・グリコール法により融合した (図)。作製したハイブリドーマのスクリーニングには、ティッシュ・アレイ法 (①免疫に用いた膵管癌細胞株, ②ゲムシタピン耐性膵管癌組織, ③非腫瘍性膵組織からなる免疫組織化学法) ならびにウェスタン・ブロット法を用いた。さらに、有望なハイブリドーマに関しては、膵管癌症例における発現動態を免疫組織化学的手法により詳細に解析した。また同時に、抗原となる分子量や構造を類推するために、膵管癌培養細胞株のライセートを酵素や試薬で処理した後、抗原性の状態をウェスタン・ブロット法により解析した。さらに、抗原の一部に糖鎖構造が含まれている可能性が示唆されたため、各種特徴的な糖鎖が固相化された糖鎖アレイを行った。

3. 結果ならびに考察

512クローンのハイブリドーマから、正常膵管上

1) 日本大学医学部病態病理学系病理学分野
佐野 誠 : sano.makoto@nihon-u.ac.jp

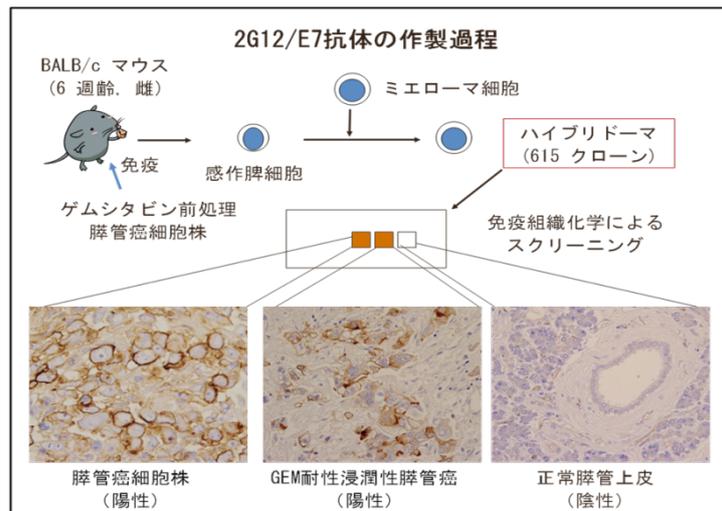


図 マウスモノクローナル抗体 (2G12/E7) の作製過程

皮細胞には反応性を示さず、膵管癌細胞に強い反応性を示すモノクローナル抗体 (2G12/E7) を得ることができた (図)。また、2G12/E7抗体は、浸潤性膵管癌のなかでも間質浸潤の強い中分化型から低分化型腺癌に反応性を示し、脈管浸襲や術後再発といった悪性度との相関が明らかとなった。さらに、Kaplan-Meier法による生存曲線においても、同抗体陽性の膵管癌患者群は陰性群に比べて、術後の予後が不良であることが判明した (Log-rank test; $p < 0.01$)。したがって、同抗体の抗腫瘍効果が確認できれば、抗体医薬としての実用化に向けて期待できるものと思われる。

一方、酵素や試薬処理による抗原性を解析した結果、2G12/E7抗体はO-結合型糖鎖を含む分子量約160 kDaの糖蛋白を認識している可能性が示唆された。しかしながら、各種糖鎖を固相化させた糖鎖アレイに対しては、2G12/E7抗体は結合性を全く示さなかった。このことは、すなわち、2G12/E7抗体が

糖ペプチドとして (糖鎖とペプチドにまたがって) 抗原を認識していることが強く示唆される。糖鎖やペプチド単独だけを認識する抗体は数多く市販されているが、病的意義を有し、糖鎖とペプチドの両者を認識する抗体は数少なく、貴重なシーズと思われる。引き続き、MS解析によるエピトープの同定ならびに抗腫瘍効果の解析を行うとともに、抗体医薬としての可能性のみならず、病理診断や腫瘍マーカーとしての有用性、さらに、がんワクチンや生体内イメージング (画像診断) への応用も検討予定している。

引用文献

- 1) 江川新一, 当間宏樹, 大東弘明, 他. 膵癌登録報告2007ダイジェスト. 膵臓, 2008; 23:105-123.
- 2) Ueno H, Ioka T, Ikeda M, et al. Randomized phase III study of gemcitabine plus S-1, S-1 alone, or gemcitabine alone in patients with locally advanced and metastatic pancreatic cancer in Japan and Taiwan: GEST study. J Clin Oncol. 2013; 31(13): 1640-1648.