

Therapeutic anti-NK lymphoma monoclonal antibodies that directly induces cell death via large pore formation

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2021-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 武内, 詩織 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002613

論文内容の要約

順天堂大学	博士 (医学)	氏名	武内 詩織
論文題名	Therapeutic anti-NK lymphoma monoclonal antibody that directly induces cell death via large pore formation		
	NKリンパ腫に対する新規治療抗体の樹立		

論文内容の要約 (1,000字~1,500字)

【目的】 NK細胞リンパ腫は、日本を含む東アジアで発症頻度が高いが、希少病型で、悪性度が高く予後不良である。通常のリンパ腫の化学療法 (CHOP療法) は効果が乏しく、SMILE療法により予後は多少改善したものの、進行期や治療抵抗性NKリンパ腫では依然として極めて予後が不良な現状であり、有効な治療法の開発が急務である。

【方法】 BALB/cマウスに2種類のNKリンパ腫細胞株 (HANK-1, NKYS) を2週間毎に免疫した。3か月後に免疫したマウスの脾臓細胞とP3U1の細胞融合を行い、ハイブリドーマライブラリーを作成した。免疫した細胞株とは異なるNKリンパ腫細胞株 (NKL) にハイブリドーマのカルチャーサップとトライパンブルーを添加し、光学顕微鏡で観察し、形態学的変化を基準としてスクリーニングを行った。NKLに殺細胞効果を示すモノクローナル抗体を樹立した。

【結果】 本抗体の細胞障害活性は濃度依存性であり、また時間依存性であった。本抗体はNK細胞リンパ腫だけでなく、T細胞リンパ腫・白血病やB細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫細胞株に対しても細胞死を誘導した。一方、本抗体は、正常顆粒球とは結合せず、正常リンパ球とは結合はするが細胞死は誘導しなかった。本抗体の導く細胞死は、補体、ADCCやカスパーゼ非依存性であり、細胞骨格依存性であった。また、本抗体は添加後20分以内に標的リンパ腫細胞表面に大きな穴をあけており、その直径は補体やパーフォリンの開ける穴の長径の約100倍に達していた。アポトーシスとは異なる機序で起こる本細胞死を我々は “Anapocosis” と名付けている。

【考察】 光学顕微鏡で観察すると本抗体により、標的細胞は数分から数十分でトライパンブルーで染まり、その後早期に細胞の形態は消失する。また、顕微鏡的には細胞死が確認されるにも関わらず、細胞毒性測定キットでLDHは全く検出されない。カテプシンインヒビターの添加で細胞死がある程度は減弱することと考え合わせると、カテプシンがLDHも含めたタンパク質を融解することが細胞死の機序に関わっていることが示唆された。またアフニティークロマトグラフィー後のウェスタンブロット、質量解析の結果、本抗体のリガンドの候補としてITGA4が示唆されており、現在リガンドの同定と細胞死の機序のさらなる解明を行っている。本抗体は正常細胞に対して傷害活性を持っていないことから、分子標的薬として開発される可能性が認められる。今後、担癌マウスを用いてin vivoでの治療効果を判定する。またアカゲザル由来のリンパ腫細胞とも結合することから、アカゲザルを用いての安全性試験を考えている。