

論文内容の要旨及び審査結果の要旨

報告番号

受付番号 医薬保博甲第61号 氏名 佐藤 友美

論文審査担当者 主査 佐藤 博

副査 大井 章史

向田 直史

学位請求論文

題 名 Generation of a monoclonal antibody recognizing the CEACAM glycan structure and inhibiting adhesion using cancer tissue-originated spheroid as an antigen
(がん組織由来スフェロイドを抗原としてCEACAMグリカン構造を認識し細胞接着を阻害す単クローン抗体の産生)

掲載雑誌名 Scientific Report 6:24823 平成28年4月掲載

がん細胞の二次元培養と比較して三次元培養では遺伝子発現、タンパク質発現、薬剤感受性などがより生体内の状況を反映している。同様に初代培養がん細胞は樹立細胞株より実際のがんに近いことから、初代三次元培養がん細胞は最も生体内の状況を反映する実験系であると考えられる。従って腫瘍組織から高効率で初代培養が可能な三次元培養法であるCTOS (Cancer Tissue-Originated Spheroid)法は生体内のがん組織の特徴を反映する腫瘍細胞培養法である。

本研究では、大腸がん由来浮遊培養CTOSを抗原としてCTOS表面分子を認識しコラーゲンへの接着阻害能を持つモノクローナル抗体の作製を試みた。

免疫染色法とコラーゲンへの接着阻害能でスクリーニングを行った結果、浮遊培養CTOS表面のApical膜に集積する分子を認識し、CTOSのコラーゲンへの接着阻害、二次元培養時のmigration阻害、detachment促進効果を示す抗体(クローン5G2)を獲得した。

5G2抗体が認識する抗原を種々の方法により検討した結果、本抗体は浮遊培養CTOS表面に存在するCEACAM5あるいはCEACAM6のN型糖鎖上のLe^a, Le^x構造を主に認識しており、抗体による糖鎖構造のブロックはゲル包埋培養時にインテグリンの移行を遅延させることでCTOSとECMの結合形成を抑制することが明らかとなった。

また本抗体の抗原分子の発現は樹立細胞株ではほとんど消失しており、CTOSを抗原とした抗体作製は細胞株で発現が低下したような生体内の腫瘍に特徴的な分子に対する抗体作製法として有効である。腫瘍における糖鎖構造の変化は腫瘍マーカーとしての応用も期待されるが、糖鎖構造の決定はキャリアタンパクと糖鎖付加酵素の発現レベルのバランス等が大きく影響するため樹立細胞株では再現が難しいと考えられている。しかしながら本研究の結果からCTOSは腫瘍に特徴的な糖鎖構造やタンパク質発現を維持していることが明らかとなり、がん研究における糖鎖解析の研究材料としても有効であることが明らかとなった。

本研究はがん研究におけるCTOS法の有用性を明らかにした労作であり学位に値すると評価された。