

頭頸部癌に高発現する Ly6d に対するヒト抗体を用いた

治療法の開発

愛知県がんセンター中央病院 放射線治療部
レジデント 吉田舞子
愛知県がんセンター研究所 分子腫瘍学部
副所長 関戸 好孝
愛知県がんセンター中央病院 放射線治療部
部長 古平 毅
藤田保健衛生大学 研究支援推進センター
教授 黒澤 良和

<研究背景と目的>

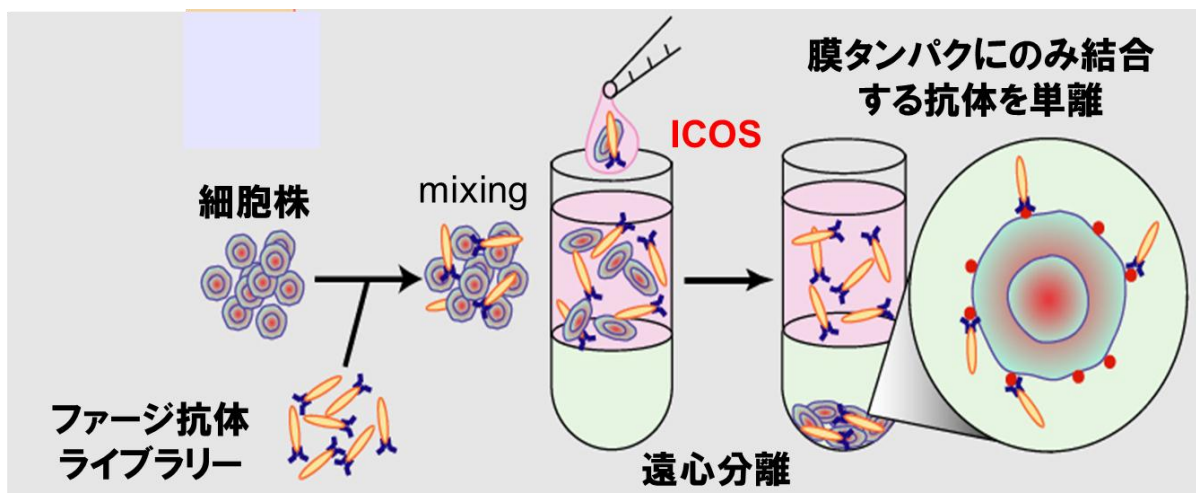
頭頸部癌は放射線治療とシスプラチンの併用療法が標準治療であり比較的治療に良く反応する。しかし一部は治療抵抗性を示し転移再発する。近年、新たな治療法として分子標的薬であるセツキシマブと放射線治療の併用も一般的になりつつあるが、重篤な間質性肺炎といった副作用を起こすことがあり更なる治療法の開発が待たれている。頭頸部癌で高発現し癌特異抗原として同定されている Ly6d タンパク質は、Ly6 遺伝子ファミリーに属する GPI アンカー型膜タンパク質であり、薬剤抵抗性や易転移性に関与することが示唆されている。しかし正常組織ではあまり発現が認められておらず、その機能は多くが未だ不明である。申請者はこれまでの研究で、正常細胞（乳腺上皮細胞）では X 線照射による DNA 損傷で ATM-CHK2-p53 経路によって転写が調節され、細胞膜上に Ly6d 膜タンパク質が発現してくることを発見した（1）。なぜ頭頸部癌において高発現し薬剤抵抗性や易転移性に関与するかを解明し、頭頸部癌だけでなく他の癌種での Ly6d の挙動についても解析を行うことで臨床応用の可能性について模索することを本研究の目的としている。

<研究成果と展望>

1. Ly6 d タンパク質を高発現している頭頸部癌細胞（FaDu）と、1000 億種類のバリエーション

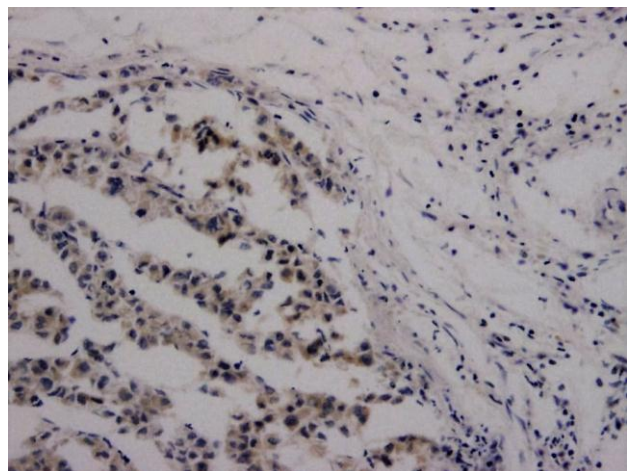
オンをもつヒト抗体ライブラリーと有機溶媒を用いた独自で開発した抗体単離法

(Isolation of Ag-Ab Complexes through Organic Solvent 法・図1) を用いてスクリーニングを行い、パニング法を組み合わせることで複数種類の抗 Ly6d ヒトモノクローン抗体を単離するため Ly6d タンパク質を作成し精製した。2 価の抗 LY6D 抗体が LY6D のリガンドとして働き GDP-フコース合成酵素 (FX) を活性化させることが知られており、得られた複数の抗体群を用いて GDP-フコース合成酵素の活性化の程度を観察し、シグナル伝達経路が活性化される抗体を選別し解析することでシグナルを受け取るエピトープを同定することを今後予定している。



【図1：ICOS法を用いたスクリーニング方法】

2. 9種類の癌腫由来の細胞株における Ly6d の発現を FACS で確認したところ、発現が確認できたのは頭頸部癌 (FaDu) の細胞株のみであった。しかし術前化学療法・放射線治療を行っていない膀胱癌患者の検体を試験的に染色したところ、癌特異的な染色像を呈している検体が13症例中9症例で確認された(図2)。細胞株と実際の検体とでは、Ly6d の発現に差があることが示された。今後頭頸部癌や



【図2 膀胱癌検体を抗 Ly6d 抗体で染色】

膀胱癌患者での Ly6d の発現が予後因子としてどのように作用しているかを臨床情報と照らし合わせながら解析していく予定である。

<考察>

これまでに Ly6d は頭頸部癌での発現のみが注目されてきたが、本研究で膀胱癌の臨床検体での発現も確認された。Ly6d の発現機序からしても、実際には様々な癌腫で発現している可能性が高い。しかし細胞株と臨床検体とではタンパク質発現レベルに乖離があり、これまで Ly6d の発現が他の癌腫では過小評価されてきた可能性が今回示唆された。今後他の癌腫での臨床検体における発現を調べ、予後因子との関連を明らかにしていく予定である。

<参考文献>

1. Kurosawa, M., A. D. Jeyasekharan, E. M. Surmann, N. Hashimoto, V. Venkatraman, G. Kurosawa, K. Furukawa, A. R. Venkitaraman and Y. Kurosawa. "Expression of LY6D is induced at the surface of MCF10A cells by X-ray irradiation." Febs J **279**(24): 4479-4491 (2012).