

低酸素状態で放出されるエクソソームの成分変化と 抗体医薬品のADCC活性に与える影響

広崎 春佳, 山中 秀徳, 屋形 直明, 武吉 正博
(一般財団法人 化学物質評価研究機構)

【目的】

固形癌内部は、低酸素状態にさらされており、転写因子 (hypoxia inducible factor-1; HIF-1 等) を介して、血管新生・解糖系活性化・造血促進・アポトーシス抑制など、低酸素への適応応答反応が誘導されているとともに、抗体医薬の治療を阻害することが懸念されているエクソソームの放出量が増加することが報告されている¹⁾。今回、通常の培養条件と低酸素状態で癌細胞から放出されるエクソソーム中のタンパク質成分を比較するとともに、抗体医薬としてハーセプチンを使用した場合に抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性に与える影響を調べた。

【方法】

ハーセプチンの抗原である Her2 発現度の異なる 2 種類の乳癌細胞株 SKBR-3、MCF-7 を 10% FBS 含有 RPMI 培地中で通常の酸素濃度又は低酸素濃度で培養し、各培養上清を回収した。回収した各培養上清を用いて SKBR-3、MCF-7 に対するハーセプチンの ADCC 活性を測定した。

また、エクソソーム中のタンパク質成分の分析には、各細胞をエクソソーム除去培地中で通常の酸素濃度又は低酸素濃度で培養し、各培養上清からエクソソームを精製後、nanoLC-ESI-MS/MS を用いたショットガンプロテオミクス解析を実施した。エクソソームの精製方法としては、抗 CD9 抗体を用いる方法、市販のキットを使用する方法の他、独自に開発した簡便な方法についても比較検討した。

【結果】

各細胞から放出されるエクソソーム中の成分の相違について、培養時の酸素濃度及びエクソソームの精製方法を変化させ、nanoLC-ESI-MS/MS を用いたショットガンプロテオミクス解析を実施した結果を元に報告する。また、エクソソーム中の成分の相違とエクソソームが細胞傷害活性に与える影響との相関についても考察する。

1) King et al. BMC Cancer 2012, 12:421