

9-3(28)

HLA Class I を認識する single-chain Fv diabody(2D7-DB)による骨髄腫細胞死の検討

関本悦子¹、尾崎修治¹、田中洋一¹、大島隆志¹、柴田泰伸¹、橋本年弘¹、安倍正博¹、後藤哲也²、小阪昌明³、木村直紀⁴、土屋政幸⁴、松本俊夫¹

徳島大学大学院生体情報内科学¹、徳島赤十字病院血液科²、徳島県立海部病院内科³、中外製薬⁴

【目的】HLA Class I は生体内のほとんどの細胞に発現しているが、リンパ球系腫瘍細胞や活性化リンパ球においては同分子をクロスリンクすることにより細胞死が誘導されることが報告されている。我々は HLA class I を認識する新規 single-chain Fv diabody(2D7-DB) を作製し、骨髄腫細胞の HLA class I の発現と 2D7-DB の抗腫瘍活性及び、その細胞死の機序について検討した。【方法】患者骨髄腫細胞及び骨髄腫細胞株の細胞表面の HLA class I の発現をフローサイトメトリーにて測定した。骨髄腫細胞を 2D7-DB 存在下に 48 時間培養し、生細胞数を色素排除法で計測した。Annexin V/propidium iodide 2 重染色法を用いて apoptosis 細胞を検出した。caspase の活性化の有無は Western blotting にて検討した。細胞内の actin 変化については共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。細胞死の機序を明らかにするため、mitochondria 膜電位低下阻害薬、autophagy 阻害薬、actin 重合阻害薬の影響についても検討した。【結果】骨髄腫細胞は正常骨髄腫細胞やリンパ球と比較し HLA class I を高発現していた。骨髄腫細胞では 2D7-DB による細胞障害が認められたが、正常リンパ球や HUVEC に対する細胞障害は認められなかった。2D7-DB の添加により骨髄腫細胞の空胞化や細胞凝集、Annexin V 陽性細胞の増加を認められたが、caspase の活性化や DNA の断片化は認めなかった。また、actin 染色では細胞内の actin の凝集がみられ、Cytocharasin D, Latrunculin A 等の actin 重合阻害薬により 2D7-DB の細胞障害活性はほぼ抑制され、細胞凝集などの形態変化もみられなかった。【結論】2D7-DB により誘導される細胞死は従来の apoptosis とは異なる機序の細胞死であり、actin 重合を介した形態変化がその細胞死に関与している可能性が考えられた。