

じめ calcein-AM (0.2 μM) で染色した MKN 45 (5x10⁶細胞) と LAK 細胞 (5x10⁷細胞、E/T 比 = 10 : 1) を 37 °C で 4 時間インキュベーションし、さらに PI (1 μg/ml) にて死細胞を染色した。フローサイトメトリーにて MKN 45 の生細胞数と死細胞数を測定し、ヒト抗体の ADCC 活性を検討した。その結果、いずれの抗 CEA 抗体においても抗体濃度依存的に MKN 45 を傷害したが、その活性は C2 45 (cIgG1) > C2 74 (IgG1) > C2 45 (IgG4) の順であった (図 1 B)。

5. まとめ

これらの結果は、今回作製した C2 45 (cIgG1) が、CEA 陽性腫瘍細胞に特異的に結合し、CDC /ADCC による細胞傷害活性を現すことを示している。また、C2 45 (cIgG1) が元の抗体の高い抗原結合能を維持することで、C2 74 (IgG1) に比べ、より強い細胞傷害活性を持つことが示された。

おわりに

今回、腫瘍に対する細胞傷害活性を増強する目的でヒト抗 CEA 抗体 C2 45 のサブクラスを IgG4 から IgG1 へと変換した。この新規ヒト抗体 C2 45 (cIgG1) において、高い抗原結合能を維持しつつ腫瘍細胞傷害活性を増強させることに成功した³⁾。したがって、免疫原性の問題にならない C2 45 (cIgG1) は、CEA を発現したがんの抗体療法に効果が期待できると思われる。

文 献

- 1 Imakiire T, Kuroki M, Shibaguchi H, Abe H, Yamauchi Y, Ueno A, Hirose Y, Yamada H, Yamashita Y, Shirakusa T, Ishida I, Kuroki M. Generation, immunologic characterization and antitumor effects of human monoclonal antibodies for carcinoembryonic antigen. *Int. J. Cancer* 108 (4):564-570, 2004.
- 2 Shibaguchi H, Kuroki M, Kuroki M, Badran A, Hachimine K, Kinugasa T. Cloning and sequenc-

ing of variable region cDNAs of a novel human monoclonal antibody to carcinoembryonic antigen, and generation of a single chain variable fragmented antibody. *Anticancer Res.* 24 (5):3355-3360, 2004.

- 3 Huang J, Shibaguchi H, Zhao J, Luo N, Kuroki M, Kinugasa T, Hirose Y, Yamada H, Kuroki M. IgG isotype conversion of a novel human anticarcinoembryonic antigen antibody to increase its biological activity. *Anticancer Res.* 26 (2):1057-1063, 2006.

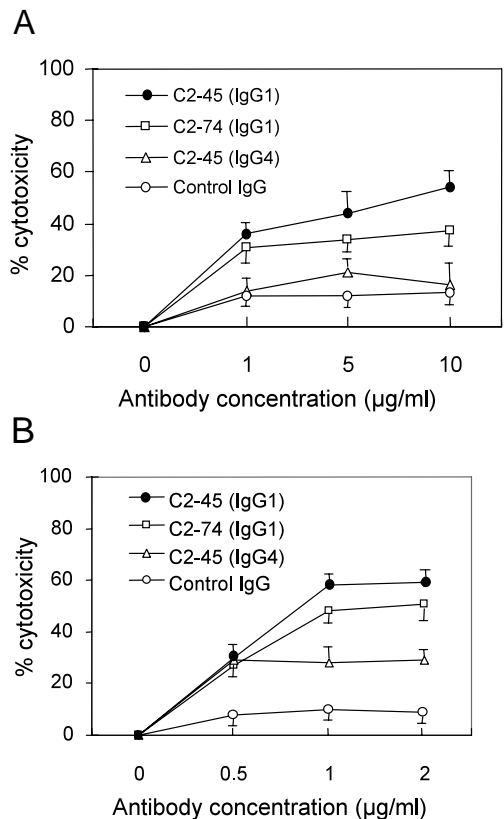


図1 C2 45 (cIgG1) の CEA 発現胃癌細胞 MKN 45 に対する抗腫瘍活性。A、CDC 活性および B、ADCC 活性。ヒト抗体 C2 45 (cIgG1) 、C2 45 (IgG4) および C2 74 (IgG1) をそれぞれの濃度で、20% の新鮮なヒト血清存在下 2 時間 (A) 、あるいはヒト LAK 細胞と E/T 比 10 : 1 にて 4 時間 (B) インキュベーションした結果を示す。非特異的なヒト IgG 抗体を対照群とした。