〔原 著〕

新しいモノクローナル抗体による細胞間接着分子 ICAM-1 の検出とその腫瘍病態における意義

今井 浩三・谷内 昭

SUMMARY

Monoclonal antibody (MoAb) HA 58 (IgG1) was established by immunizing interferon (IFN)- γ treated human colonic cancer BM 314 cells, to BALB/c mouse. Western blotting revealed that the MoAb HA58 recognizes a 85 kD molecule which is recognized by MoAb CL 207 to intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1). Immunodepletion experiment showed that each antibody reacts with the different epitope on the same ICAM-1 molecule. The level of cell surface ICAM-1 expression in cell lines of hematopoietic diseases was high in B-cell lines and especially high in myeloma cell lines. On the other hand, the level was low in T-cell lines and myeloid cell lines, except for ATL cell lines, which showed high level expression. In the investigation of ICAM-1 mRNA expression, the level was parallel to that of cell surface antigen.

We established ELISA system for detecting the ICAM-1 antigen by using two MoAbs, CL 207 and biotinylated HA 58. The incidence of positivity for ICAM-1 antigen in malignant diseases was higher than that in benign diseases or in healthy controls. The concentration of ICAM-1 antigen in sera of patients suffering from hematopoietic diseases was high in B-cell leukemia. In cases of B-cell type malignant lymphoma, the concentration was high in cases of advanced stage and/or in cases with leukemic change. As to T-cell malignancies, the concentration of serum ICAM-1 was high in cases of T-CLL, and ATL. The clinical features associated with high level serum ICAM-1 antigen were hepatosplenomegaly, invasion of tumor cells into organs, tumor formation and poor prognosis.

Key words: ICAM-1, monoclonal antibody, ELISA, malignancy.

はじめに

T細胞, B細胞, マクロファージ, 顆粒球等, 免疫系を構成する細胞群は, 相互に, あるいは血管内皮細胞や血管外組織の細胞と接着することにより, 免疫反応や炎症反応にかかわっている。この際, 細胞表面の接着に

関与する分子群が重要な役割をはたしており, レセプター・リガンドの相互作用を介してこれらの反応を調節している。

Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1/CD 54)¹⁾ は lymphocyte function-associated molecule-1 (LFA-1/CD11a)²⁾ のリガンドのひとつ³⁾ であり, LFA-1 と結

Detection of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) with novel monoclonal antibodies and its significance of malignant diseases.

Kohzoh Imai, Akira Yachi; 札幌医科大学第1内科

Correspondence address: Kohzoh Imai, Dept. Internal Medicine, Sapporo Medical College, S-1, W-16, Chuo-ku, Sapporo 060, Japan.

(受付 1991年6月6日, 受理 1991年6月17日)

本稿は故 児玉桂三先生生誕百年記念号に向けて執筆したものである。

合することにより、細胞障害性T細胞 (CTL) や natural killer (NK) 細胞の細胞障害活性の発現、T細胞の活性化等の免疫反応の調節にかかわっている。ICAM-1 はまた、種々の癌細胞表面にも発現しており、腫瘍免疫に重要な役割をはたしていると考えられている。

本研究では、われわれが新たに確立した、ICAM-1 分子と反応する MoAb HA 58 および RT-PCR 法により作製した ICAM-1 の cDNA プローブを用いて、造血器腫瘍・固型腫瘍における ICAM-1 の発現を細胞表面抗原および mRNA について検討した。またわれわれの確立した遊離 ICAM-1 抗原の測定系により、腫瘍患者血清中の遊離 ICAM-1 抗原濃度を測定し、ICAM-1 の発現と病態との関連について興味ある成績が得られたので報告する。

方 法

1. モノクローナル抗体

ICAM-1 に対するモノクローナル抗体として HA 58 および CL 207 を用いた。HA 58 (IgG 1) はインターフェロン・ガンマ (IFN- γ , 東レ株式会社より供与された) 200 U/ml で 24 時間培養したヒト大腸癌細胞株 BM 314 を BALB/c マウスに免疫し、脾細胞とマウスミエローマ細胞 X 63-Ag 8.653 を細胞融合させ、作製された。一方、CL 207 (IgG 1) は IFN- γ 処理ヒトメラノーマ細胞 Colo 38 を免疫原として Matsui et al.⁴⁾ の方法により作製された。抗体のビオチン化は Guesdon et al.⁵⁾ の方法に従った。

2. ウェスタン・ブロット法

IFN- γ 処理 BM 314 の cell lysate 200 μ g を粗抗原として sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel 電気泳動 (SDS-PAGE) で 7.5% ゲルに展開後、Ban et al.⁶⁾ の方法に従ってゲルよりニトロセルロース膜へ転写し、各抗体を用いて、酵素抗体間接法にて抗原を検出した。

3. 免疫沈降法⁷⁾

MoAb HA 58 および MoAb AI 206 (腫瘍抗原 YH 206 に対する抗イディオタイプ抗体, IgG 1), 各 10 mg を CNBr-activated Sepharose 4 B 2 ml にそれぞれ固相化し、それを 1 ml ずつ二つに分けた。これに IFN- γ 処理 BM 314 抽出抗原 1 mg をそれぞれのビーズ 1 ml と 4°C, 1 夜反応させ、1 回吸収後、再度残りの固相化したビーズ 1 ml と 4°C, 1 夜反応させ、吸収後の抽出抗原をそれぞれ HA 58 吸収抗原および AI 206 吸収抗原とした。それぞれの吸収抗原 200 μ g を用いて

ウェスタン・ブロット法を施行し、MoAb CL 207 との反応を確認し、MoAb CL 207 と MoAb HA 58 との対応抗原の異同を検索した。

4. フローサイトメトリー

MoAb HA 58 の各種細胞表面での反応を EPICS (Coulter Electronics, U.S.A.) を用いて検索した。IFN- γ 処理および非処理細胞 (5×10^5) に HA 58 10 μ g/ml を 1 次抗体として 4°C, 30 分反応させ、PBS で 3 回洗浄後、2 次抗体として FITC 標識ウサギ抗マウス免疫グロブリン (DAKO, Denmark) と 4°C, 30 分反応させた。洗浄後約 1 ml の冷 PBS に懸濁させて、検索試料とした。抗体の各細胞表面抗原との反応は、横軸に蛍光強度、縦軸に細胞数として表現した。陽性率は、抗体未使用のコントロール試料の陽性率を 1% 未満に設定し、蛍光強度がこの条件を越える細胞の量を%として表した。

5. ノーザンブロット法

ICAM-1 の cDNA プローブは, Staunton et al.⁸⁾ によって決定された cDNA の塩基配列より, RT-PCR 法⁹⁾ にて作製した。増幅された cDNA を回収した後、複数の制限酵素による切断パターンの解析により、この cDNA の塩基配列が Staunton et al.⁸⁾ により決定されたものと同一であることを確認し、ICAM-1 の cDNA プローブとした。一方、ノーザンブロット法のコントロールのプローブとして PGK (phosphoglycerate kinase) プローブ (リサーチ・リソースバンクより供与) を用いた。PCK はヒト X 染色体にコードされており、mRNA は 1.9 kb とされている¹⁰⁾。次に、プローブをニックトランスレーション法¹¹⁾により標識し、ノーザンブロットに用いた。なお、specific activity は $5 \sim 8 \times 10^8$ cpm/ μ g であった。また、培養細胞の total RNA は Chirgwin et al.¹²⁾ の方法に従い、guanidium thiocyanate 法により抽出した。

ノーザンブロット法は Goldberg¹³⁾ の方法に準じて行った。

6. 遊離 ICAM-1 抗原濃度の ELISA による測定

対象として細胞培養上清、およびヒト血清として健康成人、固形癌患者および造血器腫瘍患者から得られたサンプルを使用した。

ELISA は, Hinoda et al. の方法¹⁴⁾によった。すなわち、固相化 CL-207-ビオチン化 HA 58 の測定系が遊離 ICAM-1 抗原を特異的に検出することを確認した後、この測定系により、ヒト脾癌細胞株 Panc-1 の培養上清を段階希釈し、492 nm の波長で吸光度 (OD 値) を測定し

て検量曲線を求めると OD 値は 0.01 より 1.50 の間において直線性を示した。そこで、標準液 (OD 値 1.68) を 1000 ELISA units として、比較する試料の OD 値より ELISA units の値を決定した。試料として培養上清は原液のまま、患者血清は 200 倍希釈して用いた。なお、培養上清をヒト血清により段階希釈した試料の OD 値曲線は検量曲線と平行性を示した。

成 績

1. フローサイトメトリーによる MoAb HA 58 および CL 207 の反応性の比較

大腸癌細胞 BM 314 および肝癌細胞 c-Hc-4 について IFN- γ 非処理および IFN- γ 処理後の MoAb HA 58 および MoAb CL 207 との反応性を Fig. 1 に示した。MoAb HA 58 と同様に MoAb CL 207 においても、IFN- γ 処理によりその反応性は明瞭な増強を認め、しかも、MoAb HA 58 と MoAb CL 207 とは、その反応パターンがきわめて類似していた。この傾向は、他の培養細胞においても同様であった。この成績は MoAb HA 58 と MoAb CL 207 とが、同一の対応抗原を認識している可能性を示唆する。

2. 対応抗原の免疫化学的検索

次に、MoAb HA 58 および MoAb CL 207 の対応抗原を検索するためウェスタン・ブロット法を施行した。IFN- γ 処理 BM 314 抽出物を抗原としたが、Fig. 2A に示すように HA 58 と CL 207 とは 85 kD の同

一分子量の抗原を認識することが判明した。

さらに HA 58, CL 207 の対応抗原の異同を検索するため、IFN- γ 処理 BM 314 抽出物を固相化 HA 58 で免疫沈降反応により吸収し、その残りの抗原を用い、ウェスタン・ブロット法にて MoAb CL 207 との反応を試みた。Fig. 2B に示すごとく免疫吸収した抗原では CL 207 との反応が消失した。一方、同様の抽出物を対照 MoAb AI 206 で吸収した場合には、MoAb CL 207 は吸収前と同様に反応性を示した。以上の成績は MoAb HA 58 と MoAb CL 207 とが同一の対応抗原 (ICAM-1) を認識していることを強く示唆している。

次に MoAb HA 58, CL 207 それぞれが認識する対応抗原のエピトープの検索を行った。 ^{125}I -標識 HA 58 の BM 314 への結合は HA 58 以外の cold antibody (MHC class I および class II に対する MoAb) では抑制されず、かつ、MoAb CL 207 でも抑制されなかったが、HA 58 で著明な抑制を認めた。一方、 ^{125}I -標識 CL 207 の結合も上記の各種抗体および HA 58 では抑制されず、MoAb CL 207 でのみ明らかな抑制を認めた。これらのことより、HA 58 と CL 207 とはそれぞれ異なるエピトープを認識していることが判明した。

3. 造血器腫瘍細胞表面抗原の発現のフローサイトメトリーによる検討

MoAb HA 58 を用いたフローサイトメトリーにより、各種造血器腫瘍細胞表面 ICAM-1 抗原の発現および IFN- γ 処理によるその変化を検討した。Fig. 3A に

Fig. 1. Increase in the cell surface antigen of the colonic cancer BM 314 cells and hepatoma c-Hc-4 cells induced by IFN- γ .

Flow cytometry was used for detection of the antigen by MoAb HA 58 and CL 207. The peaks in the left side denote cells before IFN- γ treatment.

Fig. 2. Western blotting analysis of the corresponding antigen detected by MoAb HA 58.

A. The extract from IFN- γ treated colonic cancer BM314 cells was used as an antigen under reducing conditions. Reactivity of the antigen with MoAb HA 58 (lane 1), MoAb CL 207 (lane 2) and MoAb AI 206 (lane 3) was assessed by Western blotting (7.5% gel).

B. Immunodepletion experiment. The extract from IFN- γ treated colonic cancer BM314 cells had been immunodepleted by either MoAb AI206 (IgG1) (lane 1) or MoAb HA58 (IgG1) (lane 2) before the remaining extract was analyzed by Western blotting under reducing conditions using MoAb CL207 to ICAM-1 molecule (7.5% gel).

示すように、一般にB細胞株では強い発現がみられ、とくに骨髓腫細胞株の一部 (Karpas 707, RPM 18226) にさらに強い発現がみられた。これに対して Fig. 3B に示すように、T細胞株では一般に発現は弱い、成人T細胞白血病 (ATL) 細胞株 (ILT-Mor, TL-Su) では強い発現がみられ、また、myeloid 細胞株ではT細胞株と同様、一般に発現は弱かった。

4. 造血器腫瘍細胞株における ICAM-1 mRNA の発現

cDNA プローブを用いたノーザンブロット法により各種造血器腫瘍細胞株における ICAM-1 mRNA の発現を検討した。Fig. 4(A) に骨髓腫細胞株を含むB細胞株、(B)にT細胞株、(C)に myeloid 細胞株における mRNA の発現を示す。結果はフローサイトメトリーによる細胞表面抗原の発現の検討結果と並行する所見であった。すなわち、B細胞系で発現が強く、T細胞系では発現は弱い、ATL 細胞株 (ILT-Mor, TL-Su) で強く、myeloid 細胞株では全体に弱い、一部にやや強い発現を示すものがあった。

5. ICAM-1 抗原の測定

以上の結果から、MoAb HA 58 と MoAb CL 207 と

は対応抗原が 85 kD の同一抗原分子 (ICAM-1) で、それぞれ異なるエピトープを認識することが判明したので、この二つの MoAb HA 58, CL 207 を用いて抗原の測定を試みた。

IFN- γ 処理 BM 314 抽出物を粗抗原として、ELISA により抗原を測定した。その結果、CL 207-ビオチン化 CL 207, HA 58-ビオチン化 HA 58 を用いた測定系では、ほとんど抗原の検出はできなかったのに対し、HA 58-ビオチン化 CL 207 ならびに CL 207-ビオチン化 HA 58 を組み合わせた系で抗原の測定が可能であった。また後者の系が最も感度がよいと判断されたので、以下の抗原測定には CL 207 ビオチン化 HA 58 の測定系を用いた。

さらに、ヒト膀胱癌細胞 Panc-1 の培養上清を段階希釈して抗原の測定を試みたところ、培養上清中の可溶性抗原も測定可能であることが示された。この場合、HA 58 以外の他のビオチン化抗体では抗原が検出できないことからこの測定系は ICAM-1 抗原を特異的に検出していると考えられた。

Fig. 3. Flow cytometric histograms showing the expression of cell surface ICAM-1 antigen in different types of cell lines of hematopoietic diseases and the effect of IFN- γ on the expression.

A: T-cell lines and myeloid cell lines, B: B-cell lines and myeloma cell lines.

6. 癌および造血管患者血清中の ICAM-1 抗原濃度と病態との関連性

各種固型癌および造血管腫瘍患者血清中の ICAM-1 抗原濃度を ELISA により測定した結果を Fig. 5 に示す。健康人 25 名の平均値+2×標準偏差値より、75 ELISA units を正常上限とし、各疾患において高値を示した症例の比率を上段に示した。固型癌については、

肺癌、胆のう癌、胃癌で高値例が多く見られ、かつその陽性頻度は 50% 以上を示した。とくに肺癌では 93% と高かった。一方、肺炎、胆石症等では 15% 以下にすぎなかった。さらに、Fig. 5 に示すように、明らかな肝転移を示した症例で、ICAM-1 値が高い傾向にあった。

B 細胞白血病患者血清では 6 例中 4 例 (67%) で高値

Fig. 4. Northern hybridization of total RNA from cell lines of hematopoietic diseases.

(a) : ICAM-1 cDNA probe, (b) : PGK cDNA probe as a control probe.

(A) : B-cell lines including myeloma cell lines. Lane 1: BALL-1, lane 2: Daudi, lane 3: RPMI 1788, lane 4: Raji and lane 5: BOH-1 are B-cell lines. Lane 6: Karpas 707, lane 7: RPMI 8226, lane 8: UC-7296 and lane 9: KR-12 are myeloma cell lines.

(B) : T-cell lines including ATL cell lines. Lane 1: BALL-1 is a control. Lane 2: Molt 4, lane 3: TALL-1, lane 4: Jurkat, lane 5: PEER and lane 6: CEM are T-cell lines. Lane 7: MT-1, lane 8: ILT-Mor and lane 9: TL-Su are ATL cell lines.

(C) : Myeloid cell lines. Lane 1, BALL-1 is a control. Lane 2: KG-1, lane 3: THP-1, lane 4: HL 60, lane 5: K 562 and lane 6: U 937 are myeloid cell lines.

Fig. 5. Measurement of circulating ICAM-1 antigen in the sera of patients with malignant and non-malignant diseases (cut-off value, 75U).

Patients' sera with metastasis (○) and without metastasis (●).

であり、このうち最も高値を示した症例（B細胞型慢性リンパ性白血病，B-CLL）では、表在リンパ節腫脹、肝脾腫が著明で、腹部大動脈周囲リンパ節の腫大を認めた。また2番目に高値を示した症例（B細胞型急性リンパ性白血病，B-ALL）では、肝脾腫が著明で、剖検時、

肝臓、脾臓をはじめ全身の臓器に腫瘍細胞の広範な浸潤を認めた。高値を示した4例のうち3例で肝脾腫を認めたのに対し、正常値を示した2例には肝脾腫を認めなかった。B細胞リンパ腫では19例中6例（32%）で高値を示したが、これらの症例はいずれも病期分類の Stage

Ⅲないし Stage Ⅳであり、うち3例で肝脾腫を、また4例で白血化を認めた。また、19例中10例は扁桃原発の症例であり、うち9例は正常範囲内の値を示した。

T細胞系腫瘍では、T-CLLの2例はいずれも軽度高値を示した。ATL患者血清中では5例中2例(40%)で高値を示した。このうち最も高い値を示した症例では著明な肝脾腫がみられ、剖検時、肝臓、脾臓の他、腎臓、消化管、肺門リンパ節等に広範な腫瘍細胞浸潤を認めた。高値を示した他の1例にも肝脾腫、表在リンパ節腫脹がみられた。一方、ICAM-1抗原量正常域を示したATL症例には肝脾腫はみられなかった。また、高値を示した症例はいずれも病型は急性型であったが、正常値を示した3例の中では一例のみが急性型であった。

骨髄性白血病では9例中1例(11%)のみが高値を示したが、この症例では鎖骨上リンパ節腫脹の他、鼠径部、耳後部に腫瘤形成を認め、また経過中に肝、脾の著明な腫大を認めた。

以上、臨床病態との関連をみると、ICAM-1高値を示した症例に特徴的な所見は、肝脾腫の存在であった。

考 察

ICAM-1は遺伝子クローニングでの解析により、免疫グロブリン様の五つのドメインを有し¹⁵⁾、myelin associated glycoprotein (MAG)やneural cell adhesion molecule (NCAM)とhomologyがあり¹⁶⁾、immunoglobulin (Ig) supergene familyの1員であることが最近明らかとなった¹⁷⁾。

われわれはIFN- γ が細胞表面の抗原をmodulateし、MHC class I, class IIをはじめ、IL-2レセプター、TNFレセプター等のレセプター群、さらには腫瘍関連抗原の発現¹⁸⁾を増強することに着目し、とくに腫瘍細胞において、IFN- γ により細胞表面に誘導される新たな分子へのMoAbの作製を試みてきた。そのためにも、IFN- γ 処理したヒトメラノーマ細胞Colo 38を免疫原としてMoAb CL 207を作製⁹⁾し、次に本研究で述べたごとくIFN- γ 処理したヒト大腸癌細胞BM 314を免疫原としてMoAb HA 58を作製することに成功した。興味あることに、フローサイトメトリーでのわれわれの検索により、これらMoAbsの対応抗原は免疫原として用いた細胞だけでなく各種の腫瘍細胞において、IFN- γ により発現の増強を示すことが明らかとなり、両MoAbsの対応抗原は広く種々の腫瘍細胞表面に発現し、かつIFN- γ により発現の増強を認めることから腫瘍細胞にとって重要な機能を担う分子であること

が予想された。

これら抗原の解析を試みている過程で、MoAb CL 207がICAM-1を認識することが判明した¹⁹⁾。ICAM-1は、LFA-1のリガンドのひとつであることが明らかとなっており、われわれが認めた種々の癌細胞だけでなく、正常の上皮細胞、内皮細胞等にもその発現が知られている。LFA-1に関しては、それがCTLと標的細胞との結合やCTL活性発現に重要であることが明らかにされているが、さらに種々の細胞間接着に重要な分子²⁰⁾であること、すなわち、NK活性、LAK活性の発現、T cellの活性化²¹⁾に必要であることが報告されている。また、最近LFA-1がT cell receptorとcross-linkしてT cell receptorからの細胞内刺激伝達を受けることで、抗原特異的リンパ球接着および、その接着強度が調節されている可能性²²⁾が示されており、LFA-1の免疫応答における重要性とその機序が解明されつつある。したがってLFA-1のリガンドのひとつであるICAM-1も、主として標的細胞側から、細胞間接着を介して、腫瘍免疫を含む免疫応答に重要な役割を果たしていることが十分予想される。

本研究においては、MoAb HA 58もMoAb CL 207と同様にICAM-1(85 kD)を認識していることが明らかにされた。成績には示していないが、他の抗ICAM-1 MoAb RR 1/1 (T. A. Springer 博士からの供与による)とのimmunodepletion試験においても、MoAb HA 58がICAM-1を認識していることを確認している。また、注目すべきことには、MoAb HA 58とCL 207はICAM-1分子の異なるエピトープを認識することが明らかにされた。

また、われわれの研究により、これらの分子は細胞表面から遊離ないしは分泌されていることが判明した。すなわち2種類のMoAbを用いてICAM-1の定量法を確立したが、培養上清中に存在するICAM-1の量はIFN- γ 処理後に著しく増加することを認めた。さらに、癌患者血清中においてICAM-1値が高値を示す場合が見い出された。この場合、転移癌でさらに高値を示す傾向にあり、興味深い成績と思われる。

これらの成績は、腫瘍細胞とエフェクター細胞群との相互関係を考える上で重要な現象といえよう。すなわち、第1に、IFN- γ 投与に伴う腫瘍細胞表面におけるICAM-1の表出増加は、ICAM-1がLFA-1のリガンドであることを考えあわせると、エフェクター細胞側よりみてその殺細胞効果を発揮するのに都合がよいことになろう。つまりCTL、LAKおよびNK細胞等が標的

細胞に結合しやすい条件を作り出すことが考えられる。他方、第2に腫瘍細胞からの ICAM-1 分子の放出は、エフェクター側の LFA-1 分子と結合して、その抗腫瘍効果をむしろ阻止する可能性も考えられる。このように ICAM-1 分子は、腫瘍細胞側よりみると増殖に都合の悪い状況とむしろ好都合な状況の両面を生ぜしめる可能性があるとするれば、これがいかなる機序により調節されるのかを今後明らかにする必要がある。

一方、ICAM-1 が癌の転移に関与している可能性を示唆する報告がいくつか認められる。すなわち、Maio, M. et al.²³⁾ はメラノーマ細胞 MeWo と metastatic variant である MeM 50-10 で IFN- γ による ICAM-1 の誘導の程度を検索したところ、MeM 50-10 においては MeWo に比べ ICAM-1 の発現は増強し、また、原発巣より転移巣において ICAM-1 の発現増強を認めたとしており、ICAM-1 が転移に関与する可能性を示唆している。また、ICAM-1 の発現がメラノーマ細胞の腫瘍の増大に伴い増加し、これが転移を促進する可能性を示唆する報告もある²⁴⁾。

次に本研究では、各種造血器腫瘍細胞において、その系統により、またおのおの疾患について、特徴的な ICAM-1 発現の傾向が認められるか否かについて検索し、さらにサイトカインの影響につき検討した。これまで ICAM-1 mRNA の発現を造血器腫瘍細胞において、系統別に検討した報告はみられない。

細胞表面 ICAM-1 抗原および ICAM-1 mRNA の検討では、B細胞系統は他の系統に比べてともに発現が強く、とくに骨髓腫細胞株では強い発現がみられた。Dustin et al.²⁵⁾ は抗 ICAM-1 抗体 RR 1/1 を用いたフローサイトメトリーにおいて、例数は少ないが同様の結果、すなわち発現量はB細胞系で多く、myeloid 細胞系あるいはT細胞系では相対的に少なくなることを報告している。さらに彼らは、単芽球細胞株 U 937 および HL 60 を PMA で分化誘導することにより、ICAM-1 の発現が増強することを見だし、ICAM-1 の発現がこれらの細胞の分化 (maturation) と関係することを示唆している。本研究で、骨髓腫細胞株において発現が他のB細胞株より増強していることを明らかにしたが、この成績は、ICAM-1 の発現がB細胞腫瘍においても細胞の分化と関連する可能性を示している。この点、最近の Maio et al.²⁶⁾ の研究でも、B-CLL 患者の末梢血腫瘍細胞の ICAM-1 陽性率が、表面免疫グロブリンの発現と関連性があり、分化とともに増強することが示唆されており、本研究の成績を支持するものといえよう。

これに対し T 細胞株では、ICAM-1 の発現は弱い傾向を示したが、興味あることに ATL 細胞株では発現が増強していた。Myeloid 細胞株では個々の株により差が大きい、その発現はT細胞系よりやや強い傾向を示した。この点、Maio et al.²⁶⁾ も腫瘍細胞の免疫染色によりほぼ同様の成績を示しているが、彼らは ATL については検討を行っていない。

患者血清中の遊離 ICAM-1 濃度の測定では、B細胞白血病・リンパ腫、T細胞白血病および ATL で高値を示した。

臨床病態との関連性をみると、血清 ICAM-1 高値の 14 例中 9 例 (64%) に肝脾腫がみられ、これらのうち剖検可能であった 3 例については、いずれも腫瘍細胞の浸潤が確かめられており、その際、その他の臓器への広範な浸潤も認められた。これに対し、正常値を示した 21 例中、肝脾腫は 1 例 (5%) のみで、有意な差 (Fisher の直接確率計算法による) が認められた ($p < 0.01$)。この結果から、血中 ICAM-1 値が腫瘍細胞の臓器浸潤と何らかの関連性を有することがうかがわれた。

以上、血清中の遊離 ICAM-1 が高値を示す造血器腫瘍に共通してみられる特徴は、腫瘍細胞の臓器への浸潤や腫瘍形成性であり、いずれも予後は不良である。先述の Maio et al.²⁶⁾ の末梢血腫瘍細胞の ICAM-1 発現の検討結果でも、高値を示すのは B-NHL の high grade malignancy のもの、B-CLL で急激な臨床経過を示すもの等、予後の悪い症例であり、われわれの血清における検討結果と共通している。また症例数を増して検討を要するが、病変の進展と血清 ICAM-1 量が並行する傾向がみられた。造血器腫瘍における血清 ICAM-1 値増加の意義としては、腫瘍細胞から遊離された ICAM-1 分子が免疫細胞表面の LFA-1 分子と結合することにより、正常な細胞接着機序を阻害し、免疫反応に影響を及ぼすことが考えられよう。その際遊離 ICAM-1 分子が接着することにより活性化した T 細胞が、自らも ICAM-1 を遊離すると同時にサイトカインを放出し、組織の ICAM-1 陽性細胞を活性化させ、ますます遊離 ICAM-1 を増加させるというカスケード機構も推測される。

これらのことより造血器腫瘍においては、血清 ICAM-1 抗原の増減は疾患の悪性度や病変の進展のひとつの指標として利用しうることが示唆される。また、このような接着分子に特異性を有する抗体は、これらの病態に対して治療効果を有する可能性も考えられ、その応用が期待される。

ご協力いただいた諸先生、とくに日野田裕治、杉山敏郎、辻崎正幸、平田博巳、ならびに仲野龍已各博士に感謝いたします。

本研究は、文部省がん特別研究Ⅰ(63010058, 01010054, 谷内), がん特別研究Ⅱ(01015095, 今井)ならびに厚生省対がん 10 年総合戦略プロジェクト研究(分野 6, 谷内および今井)による補助を受けた。

文 献

- 1) Rothlein, R. et al.: J. Immunol., **137**: 1270, 1986.
- 2) Davignon, D. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **78**: 4535, 1981.
- 3) Makgoba, M. W. et al.: Nature, **331**: 86, 1988.
- 4) Matsui, M. et al.: J. Immunol., **139**: 2088, 1987.
- 5) Guesdon, J. L. et al.: Histochem. Cytochem., **27**: 1131, 1979.
- 6) Ban, T. et al.: Cancer Res., **49**: 7141, 1989.
- 7) 今井浩三, 谷内 昭: 免疫実験操作法Ⅺ, 日本免疫学会(編), 金沢, 1982, pp. 3589-3594.
- 8) Staunton, D. E. et al.: Cell, **52**: 925, 1988.
- 9) Saiki, R. K.: Science, **230**: 1350, 1985.
- 10) Michelson, A. M. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **80**: 472, 1983.
- 11) Rigby, P. W. J. et al.: J. Mol. Biol., **113**: 237, 1977.
- 12) Chirgwin, J. M. et al.: Biochemistry, **18**: 5294, 1979.
- 13) Goldberg, D. A.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**: 5794, 1980.
- 14) Hinoda, Y. et al.: Jpn. J. Cancer Res. (Gann), **78**: 607, 1987.
- 15) Dustin, M. L. et al.: Immunol. Today, **9**: 213, 1988.
- 16) Simmons, D. et al.: Nature, **331**: 624, 1988.
- 17) Staunton, D. E. et al.: Cell, **52**: 925, 1988.
- 18) Hareyama, M. et al.: Cancer, in press, 1991.
- 19) Staunton, D. E. et al.: Cell, **56**: 849, 1989.
- 20) Rothlein, R. and Springer, T. A.: J. Exp. Med., **163**: 1132, 1986.
- 21) Noesel, C. et al.: Nature, **333**: 850, 1988.
- 22) Dustin, M. L. and Springer, T. A.: Nature, **341**: 619, 1989.
- 23) Maio, M. et al.: Cancer Res., **49**: 2980, 1989.
- 24) Johnson, J. P. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **86**: 641, 1989.
- 25) Dustin, M. L. et al.: J. Immunol., **137**: 245, 1986.
- 26) Maio, M. et al.: Blood, **76**: 783, 1990.

要 旨

IFN- γ 処理ヒト大腸癌細胞株 BM 314 を免疫源として新しい MoAb の確立に成功し, これを用いて以下の結果を得た。

1) MoAb HA 58 は, 抗 ICAM-1 MoAb CL 207 の認識する 85 kD の同一対応抗原と反応し, 本 MoAb は ICAM-1 分子に対する抗体であることが判明した。また, MoAb HA 58 の認識するエピトープは, MoAb CL 207 のそれとは異なっていた。

2) 固相化 MoAb CL 207 およびビオチン化 MoAb HA 58 を用いた ELISA による遊離型 ICAM-1 の測定系を確立した。

3) 造血器腫瘍細胞表面の ICAM-1 の発現は B 細胞系, とくに骨髓腫系の細胞株で強かった。また T 細胞系の細胞株あるいは myeloid 系細胞株では弱い, ATL 細胞株では強かった。mRNA の発現の検討でも, 細胞表面抗原と同様の傾向がみられた。

4) 血清 ICAM-1 濃度について検討したところ, 固型癌については, 肺癌, 胆のう癌, 胃癌等で高値例が多く, 陽性頻度も高かった。B 細胞白血病では増加しており, B 細胞リンパ腫では stage の進行した症例, 白血化した症例で高値を示した。T 細胞系腫瘍では T-CLL, ATL で増加していた。

5) 血清中の ICAM-1 の高値と関連する病態は固型癌では肝転移であり, 造血器腫瘍では肝脾腫, 腫瘍細胞の臓器浸潤, 腫瘤形成であり, 予後不良の症例が多かった。