

外因系血液凝固開始因子 Tissue Factor を標的とした腫瘍マーカーの検討

がん先端生命科学分野 47-116356 藤原悠起

指導教員 松村保広

## 【背景】

膵がん患者における静脈血栓症の発症率は健常者と比較して 3.5～4.5 倍高いことが報告され、がんと血液凝固は密接な関係があることが明らかとなってきた。血液凝固には内因系と外因系の 2 つの血液凝固カスケードが知られており、外因系血液凝固開始因子 Tissue Factor (TF) が中心的な役割を果たしている。膵がん組織において 408 例中 340 例 (約 83%) が TF 陽性であると報告されている。播種性血管内凝固症候群などの過凝固疾患、糸球体腎炎などの炎症疾患、大腸がんや乳がんなどの悪性疾患の患者の血漿中、尿中から TF が検出されることが報告されており、血漿中における TF (plasma TF: pTF) や尿中における TF (urine TF: uTF) の測定が臨床的に有用である可能性が高い。

## 【目的】

本研究では、はじめに TF 検出系を確立することとした。次にヒト膵がん細胞株を用いて皮下腫瘍モデルマウスを作製し、腫瘍体積、pTF 濃度および uTF 濃度について、それぞれの関係性を明らかにすることで、TF が膵がんに対する腫瘍マーカーとなるか検討することとした。

## 【方法】

当研究室で確立した rat anti human TF monoclonal antibody clone 1849 (anti hTF mAb) の特異性を検討し、Sandwich ELISA 法を用いた TF 検出系の検出感度を検討し、検量線を作製した。ヒト膵がん細胞株 BxPC-3 を用いた *in vitro* 実験として、細胞溶解液中の TF 濃度あるいは培養上清中の TF 濃度とがん細胞数の関係性を検討した。また、*in vivo* 実験として、皮下腫瘍モデルマウスを作製し (図. 1-1)、腫瘍体積、pTF 濃度および uTF 濃度について、それぞれの関係性を検討した。

## 【結果】

anti hTF mAb は、human TF (hTF)と反応し、mouse TF (mTF)と反応しなかった。anti hTF mAb を用いた Sandwich ELISA 法の検出下限は 1.57ng/ml であり、検出上限が 25ng/ml であった。ヒト膵がん細胞株 BxPC-3 の細胞溶解液における hTF 濃度は、細胞数に極めて強い正の相関があった ( $r=0.973$ ,  $P<0.05$ )。また、培養上清中の hTF 濃度は、細胞数に極めて強い正の相関があった ( $r=0.994$ ,  $P<0.01$ )。統計的に有意ではないが pTF あるいは uTF の濃度は、ヒト膵がん細胞株 BxPC-3 皮下腫瘍モデルマウスの腫瘍体積に正の相関がある傾向がみられた (pTF:  $r=0.675$ ,  $P=0.212$ , uTF:  $r=0.850$ ,  $P=0.068$ )。uTF の濃度は pTF 濃度に極めて強い正の相関があった ( $r=0.959$ ,  $P\leq 0.01$ )。5 匹のマウスの皮下腫瘍を外科的切除した結果、外科的切除後の pTF 濃度は 5 匹中 5 匹で検出下限以下となった。一方、外科的切除後の uTF 濃度は、5 匹中 3 匹で検出下限以下となった。残りの 2 匹においても uTF 濃度は減少していた (図.1-2)。

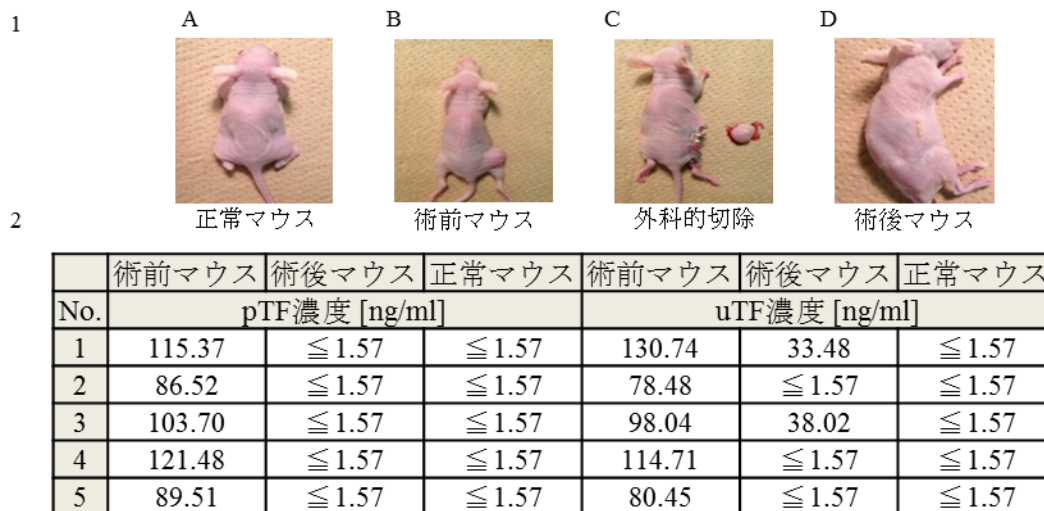


図.1 ヒト膵がん細胞株BxPC-3皮下腫瘍モデルマウスの腫瘍体積と

血漿中におけるTissue Factor (plasma TF: pTF)、尿中におけるTF (urine TF: uTF)の関係性

1. 実験動物として、T細胞機能欠如マウス(ヌードマウス)を用いた。Aをコントロールとし、BxPC-3皮下腫瘍モデルマウスを術前マウス(B)とした。また外科的切除(C)した7日後のマウスを術後マウス(D)とした。
2. rat anti human TF monoclonal antibody clone 1849 (hTF mAb)を用いたSandwich ELISA法による検量線を作製し、術前マウスと術後マウスのpTFおよびuTFの濃度を定量した。

## 【結論】

ヒト膵がん細胞株 BxPC-3 皮下腫瘍を外科的切除した場合、pTF は消失し uTF は減少傾向があった。よって、TF が膵がんに対する腫瘍マーカーとなる可能性が示唆された。