

# 論文内容要約

## 論文題目

変異型イソクエン酸デヒドロゲナーゼに対する特異的モノクローナル抗体の開発

責任講座： 解剖学第二 講座

氏 名：辻本 雄太

### 【要約】

<序論> イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) は、イソクエン酸を  $\alpha$ -ケトグルタル酸へ変換する。IDH 変異により、正常な  $\alpha$ -ケトグルタル酸への変換活性が失われ、一方で  $\alpha$ -ケトグルタル酸を癌代謝物である 2-ヒドロキシグルタル酸に変換する酵素活性が獲得される。近年の報告により、様々な腫瘍組織において IDH 変異が生じることが明らかになった。IDH1 変異は、酵素機能に重要な 132 番目のアルギニン (R132) をコードするシングルコドンに生じる。

<目的> これまで IDH1-R132G および R132L に対する特異的抗体は報告されていない。本研究では IDH1-R132L および IDH1-R132G に対する特異的モノクローナル抗体の樹立を目的とした。

<方法・材料, 結果> まず、IDH1-R132G および IDH1-R132L の合成ペプチドをデザインし、ラットに免疫した。リンパ節内のリンパ球とミエローマ細胞を細胞融合し、「IDH1-R132G に反応し、かつ野生型 IDH1 に反応しない抗体」ないしは「IDH1-R132L に反応し、かつ野生型 IDH1 に反応しない抗体」を産生しているハイブリドーマを、ELISA 法でスクリーニングした。限界希釈の後、IDH1-R132G に対する GMab-r1 と、IDH1-R132L に対する LMab-1 を樹立した。

ウェスタンブロット法を用いて、GMab-r1 が IDH1-R132G タンパクのみを認識し、他のタンパク (野生型 IDH1, IDH1-R132L) を認識しておらず、GMab-r1 が IDH1-R132G タンパクに対する特異的抗体であることを示した。一方、LMab-1 は IDH1-R132L タンパクのみを認識し、他のタンパク (野生型 IDH1, IDH1-R132G) を認識しておらず、LMab-1 が IDH1-R132L タンパクに対する特異的抗体であることを示した。

次に変異型 IDH1 を発現した CHO-K1 細胞に対して、GMab-r1 と LMab-1 を用いて免疫細胞化学染色を施行した。GMab-r1 が CHO/IDH1-R132G のみと反応し、CHO/IDH1-R132L と反応しないことを示した。一方、LMab-1 は CHO/IDH1-R132L のみと反応し、CHO/IDH1-R132G と反応しなかった。これらの結果は、GMab-r1 と LMab-1 は IDH1-R132G および IDH1-R132L を検出するための免疫組織化学染色にも有用である可能性を示唆する。

<考察> 現在、IDH 変異の検出は主に DNA ダイレクトシーケンスにより行われているが、検体内の IDH 変異タンパクの割合が少ない場合や、不均一に浸潤している腫瘍の場合には、抗体を用いた免疫組織化学染色法の方が有用だと考えられる。今後、樹立された LMab-1 と GMab-r1 を用いて臨床サンプルを解析していく予定である。