

ヒト血清 GcMAF 亜型とマクロファージ活性化能／抗腫瘍活性との相関の解析

【目的】現在、第4の癌治療法として免疫療法が大変注目されている。免疫療法は主に、Tリンパ球やNK細胞、樹状細胞といった免疫細胞を活性化させる細胞療法と、抗原提示能を有するがんペプチドやアジュバントを投与する薬物療法に大別される。我々は、自然免疫の主要なプレーヤーであるマクロファージに着目し、血清糖タンパク質 Gc protein が生体内で糖鎖修飾されて生成するマクロファージ活性化因子 GcMAF の構造活性相関について長年研究してきた。これまでに、GcMAF の糖鎖構造とマクロファージ貪食活性化能やスーパーオキシド産生能、血管新生阻害作用、抗腫瘍活性との関係を明らかにしてきたが、GcMAF は糖タンパク質であるため医薬品としての開発には多くの技術的課題があり、臨床応用は極めて限定的であった。そこで我々は、患者自身の血清を用いて直接 GcMAF を調製し、それを患者に投与する治療法を考案し、健常人の血清を用いた GcMAF 調製と、得られた GcMAF 含有ヒト血清のマクロファージ貪食活性化能および *in vivo* 抗腫瘍活性について調べた。

【材料および方法】1f1f型 Gc protein を含有するヒト血清に対してβ-ガラクトシダーゼおよびシアリダーゼによる酵素処理を行い、GcMAF 含有ヒト血清を得た。血清中の GcMAF は GalNAc 特異的 HPA レクチンを用いたウェスタンブロットにより確認した。マクロファージ貪食活性化能は、ICR マウスの腹腔からマクロファージを回収して 37℃で 15 時間培養した後、GcMAF 含有ヒト血清を添加して 3 時間培養し、さらにオプソニン化した 0.5% SRBC を加えて 90 分間貪食させ、細胞を固定してギムザ染色した後、顕鏡にて貪食した SRBC 数をカウントして評価した。*in vivo* 抗腫瘍活性は、エールリッヒ腹水癌細胞 (1×10^7 cells) を ICR マウスの腹腔内に移植し、移植の翌日から 7 日間連続で GcMAF 含有ヒト血清を腹腔内投与したマウスの生存期間より評価した。

【結果および考察】GcMAF 含有ヒト血清は、未処理血清に比べて GalNAc 特異的 HPA レクチンに対して陽性反応を示す 70, 55, 17 KDa 付近の 3 つのバンドが存在し、その内、55 KDa 付近のバンドが GcMAF と一致したことから GcMAF

の生成が確認された。また、GcMAF含有ヒト血清は、1 ng～1 ugの範囲でコントロールよりも有意に高いマクロファージ貪食活性化を示した。一方、未処理血清は貪食活性化能を示さなかった。さらに、1.55 mg/kgのGcMAF含有ヒト血清を連続投与したマウスは、未処理群に比べて有意に生存期間が延長し、中央値24.5日（コントロール：17.8日）、延長率138%を示した。

【結論】GcMAF含有ヒト血清はマクロファージ貪食活性化能と *in vivo* 抗腫瘍活性を有することが示された。