

## 29Y-am08

抗HER4 モノクローナル抗体の作成および性状解析

○岡崎 章悟<sup>1</sup>, 中谷 風弥<sup>1</sup>, 浅場 理可<sup>1</sup>, 八木 秀樹<sup>1</sup>, 益子 高<sup>1</sup>(<sup>1</sup>近畿大薬)

HER family は HER1, HER2, HER3, HER4 の四種類のメンバーから構成される受容体チロシンキナーゼで、癌の悪性度などに関与している。HER family において、HER1 と HER2 に関しては、癌の標的分子として既に治療のターゲットになっているが、HER4 については、まだ性状が明らかになっていない。そこで、今回抗 HER4 抗体の作製を行い、HER4 の性状解析を試みた。

GFP 融合 HER4 発現 RH7777 ラット肝癌細胞を樹立し、ラットに頻回免疫した。常法に従い、ハイブリドーマを樹立した。ハイブリドーマ培養上清中の抗体を、抗 GFP 抗体と GFP 融合 HER4 発現 HEK293F(293/HER4-GFP)可溶化物を用いたサンドイッチ ELISA (sELISA)法にてスクリーニングを行い、高効率に生細胞と反応する抗体を多数得ることに成功した。得られた抗体は HER1、HER2、HER3 とは反応せず、HER4 特異的な反応を示した。また、いくつかのヒト乳癌細胞株と反応した。HER4 は他の HER family とは異なる性質として、ADAM17 による細胞外領域の切断と、それに続く  $\gamma$ -secretase による細胞内領域の切断、および核内への移行が報告されている。この HER4 細胞外領域切断について、今回作製した抗 HER4 抗体による解析を試みた。PMA により ADAM17 を活性化し、フローサイトメトリーで細胞外 HER4 発現量を測定したところ、発現量の低下が認められ、ウェスタンブロットおよび ELISA 解析により、この発現低下が HER4 の shedding によるものであることが示唆された。また、異なるエピトープを持つ 2 種の抗 HER4 抗体で sELISA を行うことで HER4 細胞外断片を検出できた。

以上より、今回作製した抗 HER4 抗体は HER4 の性状解析に有用であると期待される。