

29P-pm08

トラスツズマブ耐性乳がんマーカーの探索を目指したケミカルプロテオミクス研究
○向 洋平^{1,2,3}, Danilo RITZ⁴, Dario NERI³, Tim FUGMANN⁴(¹基盤研, ²阪大院薬,
³ETH Zurich, ⁴Philochem AG)

【目的】細胞膜表面蛋白質は各種分子標的療法の有効なターゲットである一方、全蛋白質中の存在比率は低く、通常のプロテオミクス研究による同定は困難である。この点我々は、細胞膜表面蛋白質のみを化学的にビオチン修飾し、それらを精製することで、細胞膜表面蛋白質を高効率に同定しようとする「ケミカルプロテオミクス」を確立してきた。しかし、培養細胞系に本技術を適用した場合、多くの細胞膜表面蛋白質の同定が可能であるものの、同定される全蛋白質の約 70%は望まれない細胞内蛋白質(コンタミネーション)であり、これが微量な細胞膜表面蛋白質の同定の阻害因子となっていた。そこで本研究では、ケミカルプロテオミクスに対する付加的な精製技術;Detergent based fractionation 法 (Dbf 法)の有用性を評価し、その技術を応用することで臨床上問題となっているトラスツズマブ耐性乳がん細胞上に発現する細胞膜表面蛋白質の探索を目指した。

【方法・結果・考察】Her2(+)乳がんに対する抗体医薬;トラスツズマブと乳がん細胞 SK-BR-3 を3か月間共培養することで、トラスツズマブによる増殖阻害を受けない耐性細胞;SK-BR-3[TR]を得た。ケミカルプロテオミクスと Dbf 法による融合アプローチでは、双方の細胞膜表面蛋白質をビオチン標識し、細胞をジギトニンで処理することで細胞質内の蛋白質を溶出・除去した後、細胞膜を Nonidet P-40 で可溶化した。得られた細胞膜画分を更にストレプトアビジンビーズで精製し、ビーズ上でトリプシン消化後、LC-MS により蛋白質を同定した。その結果、Dbf を併用することで同定される膜蛋白質は 138 種から 283 種へと増加し、ケミカルプロテオミクスにおける Dbf 法の有用性が示された。また、SK-BR-3 と SK-BR-3[TR]の膜蛋白質を本手法で解析したところ、耐性細胞で3倍以上発現上昇している細胞膜表面蛋白質を 10 種類見出した。以上の膜表面蛋白質は、トラスツズマブ耐性細胞上の新規の分子標的となり得る可能性が考えられる。