

Title	活性化ヒトBリンパ球と反応するモノクローナル抗体の作成とその解析
Author(s)	木村, 亮
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34647
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【16】

氏名・(本籍)	木 村 亮
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6810 号
学位授与の日付	昭和60年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	活性化ヒトBリンパ球と反応するモノクローナル抗体の作成とその解析
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 進 (副査) 教授 岸本 忠三 教授 濱岡 利之

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

B細胞は、外来の抗原刺激により活性化され、B細胞増殖因子の存在下で、分裂、増殖する。そしてB細胞分化因子の作用により分化し、最終的に抗体産生細胞となる。このB細胞の増殖・分化のメカニズムを、正常B細胞を用いて解析する際には、そのB細胞が、種々の分化段階にある細胞の集団であることが大きな障害となっている。そこで、我々はヒトB細胞亜集団と反応するB細胞に特異的なモノクローナル抗体を作成し、それを用いて、ヒトB細胞サブセットを同定すること、及び、B細胞の分化と、細胞表面抗原の発現機構を解析することを目的として本研究を行った。

(方法並びに成績)

(1)モノクローナル抗体の作成方法と、その反応性;ヤギ抗ヒトIgM抗体(anti- μ)で刺激したヒト扁桃B細胞を、BALB/cマウスに免疫し、その脾細胞と、マウス骨髄腫株P₃U₁とを、45%ポリエチレングリコール存在下で融合させた。ハイブリドーマ上清のスクリーニングは、上清を、ヒトB細胞に加え洗浄後、FITC結合ヤギ抗マウスIg抗体を加えて間接膜蛍光染色を行ない、FACSで解析することにより行った。その中の1つに、T細胞、骨髄系細胞と反応せず、anti- μ で刺激したB細胞と強く反応するハイブリドーマMR-11を得た。MR-11は、調べられたほぼすべてのヒトB細胞株と反応したが、ミエローマ株及び、T細胞株、骨髄系細胞株とは反応しなかった。

(2)MR-11は、B細胞の亜集団と反応する;MR-11は、健康人末梢血B細胞の約30%、扁桃B細胞の約60%と反応した。更に、B細胞表面IgM,IgDと、MR-11抗原の分布をFITC標識抗体、および、ビオチン標識抗体とアビジンフィコエリスリンを用いた2重染色法により、FACSで解析した。その結果、

末梢血B細胞において、MR-11陽性細胞は、IgM陽性細胞に含まれたが、IgD陽性細胞は、その多くがMR-11抗原を発現していなかった。また、扁桃B細胞においてもMR-11陽性細胞は、IgM陽性細胞に含まれていたが、IgD陽性細胞は、MR-11抗原陽性あるいは陰性の2群にわかれ、かつ、MR-11抗原のみを強く発現する細胞も存在した。

(3)活性化B細胞におけるMR-11抗原の発現；パーコール比重遠心法で扁桃B細胞より、高比重画分を得、MR-11の反応性を調べた結果、分画前の細胞に比較して陽性細胞数が著明に減少した。この高比重画分の細胞を、anti- μ あるいは、TPA(12-0-tetra decanoyl phorbol-13-acetate)で刺激すると、MR-11と反応する細胞数が著しく増加した。更に、末梢血B細胞は、2重染色法で解析した結果、多くがIgD陽性で、MR-11陰性であったが、Pokeweed mitogenで刺激すると、1日目にMR-11及びIgD陽性の細胞が出現し、更に3日目には、MR-11のみ陽性の細胞が出現した。

(4)B細胞の増殖誘導と、MR-11抗原の関係；ヒトB細胞は、anti- μ 及びTPAの存在下で、相乗的にDNA合成が誘導されることが報告されている。我々は、MR-11抗原が、anti- μ あるいは、TPAで刺激されたB細胞表面上に多く存在し、PHAあるいはTPAで刺激されたT細胞には存在しないことから、本抗原が、B細胞の増殖誘導に関与していると考え、in vitroの培養系にMR-11抗体を加えその影響を調べた。その結果、抗体単独あるいは、anti- μ と共に抗体を加えても影響はなかったが、TPAあるいは、anti- μ とTPAで刺激したB細胞に、MR-11抗体を加えると、コントロールの抗体に比較して、DNA合成の誘導を更に増強する結果が得られた。以上の事は、MR-11抗原が、B細胞の増殖誘導に関係した抗原であることを示唆している。

(総括)

本研究より以下の事が示唆された。

- (1)MR-11抗原は、成熟B細胞が、種々のマイトゲンで活性化される際に出現する抗原と考えられる。
- (2)MR-11抗体は、B細胞亜集団と反応し、その認識する抗原を細胞株および、正常細胞における分布で調べた結果、現在迄報告されている種々のB細胞特異抗原と異なっていると考えられる。
- (3)MR-11抗原は、B細胞の増殖誘導に関係する分子と考えられる。

論文の審査結果の要旨

anti- μ 刺激によりヒト扁桃B細胞を活性化し、この活性化B細胞に対するモノクローナル抗体を作成した。このモノクローナル抗体は、従来の報告にない活性化B細胞表面抗原を識別し、その抗原の発現の分布や増殖との関係について検討を加えた研究である。