



Title	モノクローナル抗体によるヒト・ヘルパー/インデューサーT細胞抗原 (Leu3/T4) のエピトープの解析
Author(s)	根來, 孝夫
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35547
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	根 萸 孝 夫
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 7458 号
学位授与の日付	昭和 61 年 10 月 13 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	モノクローナル抗体によるヒト・ヘルパー／インデューサー T 細胞 抗原 (Leu 3 / T 4) のエピトープの解析
論文審査委員	(主査) 教授 谷澤 修 (副査) 教授 岸本 進 教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

[目的]

ヒト T 細胞は機能的に異なるいくつかの亜集団より構成されている。モノクローナル抗体 Leu 3 あるいは OKT 4 は、ヒト末梢 T 細胞の約 65% を占める亜集団と特異的に反応し、ヘルパー／インデューサー T 細胞の識別に用いられる。この集団は、機能的には自己又は他人の主要組織適合抗原複合体 (MHC) class II 抗原に対して反応する集団である。Leu 3 / T 4 抗原は、この集団における単なるリンパ球表面のマーカーであるのみならず、T 細胞による class II 抗原の認識過程に重要な役割を演じている。本研究では、この Leu 3 / T 4 抗原の役割を検討するため、同抗原と反応する一連のモノクローナル抗体を作成し、抗原上のエピトープの解析を行い、更に T 細胞機能との関連性を検討した。

[方法]

(1) モノクローナル抗体の作成

培養 T 細胞株 H P B - A L L 又は同細胞から得た膜抗原を Balb / c マウスに免疫し、その感作脾細胞とマウス・ミエローマ細胞株 6.53 を Kohler および Milstein の方法に従って細胞融合を行った。抗体産生細胞のスクリーニングは、培養細胞株を標的細胞とした cellular binding assay を用いた。

(2) モノクローナル抗体の reciprocal blocking test

標的細胞 (1×10^6) を第 1 モノクローナル抗体で飽和後、第 2 モノクローナル抗体を反応せしめ、第 2 モノクローナル抗体の結合が第 1 モノクローナル抗体の存在により如何なる影響を受けるかを検討した。それぞれの抗体結合量は cellular binding assay を用いて測定した。

(3) Leu 3 / T 4 抗原の absorption test

培養T細胞株H P B - A L L を nonionic detergent renex-30 で可溶化し、モノクローナル抗体を結合した immunoabsorbent で吸収後、種々のモノクローナル抗体によって検出される抗原量を cellular binding assay を用いて測定した。

(4) mixed lymphocyte reaction (MLR)

末梢リンパ球 (5×10^4) を responder とし、Mitomycin C 处理した培養B細胞株 Daudi (2×10^4) を stimulator として混合培養を行った。T細胞の増殖反応がモノクローナル抗体存在下で如何なる影響を受けるかを検討するため、培養 6 日目に ^3H -thymidine の取込みを測定し、比較した。

[成 績]

- (1) ヒト培養T細胞株 H P B - A L L またはその膜糖蛋白抗原に対して、一連のモノクローナル抗体を作成した。そのうち 5 つのモノクローナル抗体、M C N 1, 3, 12, 19, 29 がヘルパー／インデューサー T 細胞と特異的に反応した。これらは約 65% の末梢 T リンパ球と、84% の胸腺細胞と反応し、その陽性細胞率は、既存の Leu 3 a のそれと一致し、co-staining を行っても陽性率の変化を認めなかつた。
- (2) モノクローナル抗体を用いた reciprocalな blocking test から 5 つの M C N 抗体の反応エピトープは、3 つの独立した cluster に分類された。M C N 3 および Leu 3 a は同一または極めて近接したエピトープと反応し、M C N 1 は他のモノクローナル抗体と相互作用を示さない一つの独立したエピトープと反応した。M C N 12, 19, 29 は第 3 のエピトープ群と反応した。すなわち M C N 12 および 19 は同一または極めて近接したエピトープと、M C N 29 はこれらと近接したエピトープと反応した。
- (3) 可溶化膜抗原を M C N 3 結合 immunoabsorbent で吸収し、M C N 1, 3, 29 によって検出される各抗原量を定量的に測定した。各モノクローナル抗体と反応する抗原量は 85% から 89% の間で、proportional に吸収され、3 つの抗体によって識別されるエピトープ群は可溶化抗原の同一分子上に存在することが示された。
- (4) T 細胞機能に対する検討では、M C N 3 が class II 抗原に対する T 細胞増殖反応を強く抑制したが、他の M C N 抗体は抑制作用を示さなかった。以上の結果、M C N 3 / Leu 3 a によって識別されるエピトープが functional domain である可能性が示唆された。

[概 要]

- (1) ヒト・ヘルパー／インデューサー T 細胞抗原 (Leu 3 / T 4) と反応する 5 つのモノクローナル抗体を作成した。
- (2) 5 つのモノクローナル抗体により、Leu 3 / T 4 抗原上に 3 つのエピトープ群の識別が可能となつた。
- (3) 3 つのエピトープ群のうち、M C N 3 / Leu 3 a によって識別されるエピトープが class II 抗原の認識に最も重要な役割を演じている事が明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

本研究は、ヒト・Tリンパ球の亜集団に特異的な抗原であるLeu 3/T 4抗原を、モノクローナル抗体を用いて解析したものである。Leu 3/T 4抗原は、ヒト・ヘルパー／インデューサーT細胞に特異的な細胞表面マーカーであるが、T細胞の細胞相互間反応にも深く関与している。本研究では(1)Leu 3/T 4抗原と反応する5つのモノクローナルを作成し、(2)5つのモノクローナル抗体の相互の反応性により、Leu 3/T 4抗原上に3つのエピトープ群を同定した。(3)さらに、3つのエピトープ群のうち、1つのエピトープ群のみがT細胞による主要組織適合抗原複合体(MHC) class II抗原の認識に最も重要な役割を演じている事を明らかにしている。モノクローナル抗体を用い、Leu 3/T 4抗原上の特定のエピトープがT細胞相互間作用に関与している事を示した点は独創的で、免疫学上重要な知見と思われる。