

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)	根来, 孝夫
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35547">https://hdl.handle.net/11094/35547</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文につい て <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	根 来 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HPB-ALL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 ( $1 \times 10^6$ ) 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HPB-ALL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 ( $5 \times 10^4$ ) を responder とし、Mitomycin C 処理した培養B細胞株Daudi ( $2 \times 10^4$ ) 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 $^3\text{H}$ -thymidineの取込みを測定し、比較した。

[成 績]

- (1) ヒト培養T細胞株HPB-ALL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, MCN 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った。
- (2) モノクローナル抗体を用いたreciprocalなblocking testから5つのMCN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。MCN 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、MCN 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。MCN 12, 19, 29は第3のエピトープ群と反応した。すなわちMCN 12および19は同一または極めて近接したエピトープと、MCN 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MCN 3結合immunoabsorbentで吸収し、MCN 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、MCN 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MCN抗体は抑制作用を示さなかった。以上の結果、MCN 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った。
- (3) 3つのエピトープ群のうち、MCN 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。