



Title	ヒト白血病細胞の表面抗原の解析
Author(s)	福川, 隆
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36615
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)	福川	隆
学位の種類	医学	博士
学位記番号	第	8326号
学位授与の日付	昭和63年8月9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	ヒト白血病細胞の表面抗原の解析	
論文審査委員	(主査)	教授 岸本 進
	(副査)	教授 木谷 照夫 教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

〔目的〕

化学物質やウィルスにより誘起された癌細胞にみられるように、正常細胞には存在しない腫瘍抗原が癌細胞表面に発現しており、白血病細胞にも同じことがいえ、これらの腫瘍抗原を認識する特異抗体を得ようと努力してきた。細胞融合法の技術が開発されて以来細胞表面抗原に対するモノクローナル抗体は多数作成されたが、腫瘍抗原特異的なモノクローナル抗体は多くなかった。原因の一つに腫瘍抗原は量的に少なく抗原性も弱いためである。そこで、筆者はヒト白血病細胞膜の腫瘍抗原を精製する方法を開発し、精製分離した腫瘍抗原を用いて特異性の高いモノクローナル抗体を得ることが期待できた。本論文ではいくつかのヒト白血病培養細胞株を用いて、細胞膜抗原を分離精製し特異性の高いモノクローナル抗体の作成およびその性状の解析を目的とした。

〔方法〕

長期培養細胞株 Molt-4, Nalm-1 を大量に採取し窒素圧で細胞を破碎しホモゲナイズして Deoxycholate-Tris 緩衝液で抗原を抽出した。その後 Lens culinalis のレクチンによるカラムで糖蛋白を分離し、更に抗ヒト T・B 細胞、 β 2ミクログロブリン抗体を結合させたカラムより溶出分画として精製白血病抗原を得た。これをマウスに免疫し脾細胞と NS-1 をポリエチレンリコールで細胞融合させ HAT 培地にて選択した。アッセイ法は標的細胞と融合細胞の培養上清を反応させ、さらに 125 I ラベルした山羊抗マウス IgG 抗体の F(ab')₂ 分画を反応させてその放射活性を測定し、目的とする抗体産生クローナルを選択した。

[成 績]

①作成したモノクローン抗体の培養細胞への反応性

分離精製した白血病細胞膜抗原を用い、免疫したマウス脾細胞より、それぞれSN2, SN3, SN5と名付けたモノクローン抗体を得、培養細胞株に対する反応特異性を検討した。SN2はT白血病細胞株にだけ反応性を示し、B, Pre-B, Non-T/non-B細胞株には反応性を示さなかった。SN3はNon-T/non-B, Pre-B, B培養細胞株に反応性を示した。SN5はCALLA抗体としての既知のJ5というモノクローン抗体と同じ特異性を示した。

②ヒト正常細胞に対する反応性

作成したモノクローン抗体が正常組織のどの分画に反応性を示すかを調べたところ、SN2は血小板以外のいずれにも反応しなかった。SN3はTリンパ球・単球・赤血球・血小板には反応しなかったがBリンパ球・顆粒球・骨髄細胞・脾細胞に反応した。SN5の正常臓器組織の抽出抗原に対する反応性は腎臓とだけ反応し他の臓器に対しては反応しなかった。

③ヒト腫瘍細胞に対する反応性

SN2はT急性リンパ性白血病に対してだけ反応性を示した。SN3はNon-T/non-B, B急性リンパ性白血病・慢性骨髓性白血病などに反応性を示した。SN5はJ5と同じく、主にNon-T/non-B急性リンパ性白血病に反応性を示した。

④SDSポリアクリルアミド電気泳動

モノクローン抗体が認識する白血病細胞膜抗原の分子量を決定するために、SDS電気泳動を行った。SN2抗体は分子量約37,000の¹²⁵IラベルしたMolt-4の精製膜抗原と結合した。SN5は分子量100,000のNalm-6の糖蛋白と单一のバンドを形成した。

⑤SN3抗原の生化学的症状

SN3抗原を発現しているNalm-6を酵素処理したのち残存する抗原決定基を検討したところsialidase, trypsinで処理した場合SN3による抗原決定基は消失した。

(総 括)

ヒト白血病培養細胞株より分離精製した細胞膜抗原を用い特異性の高いモノクローン抗体の精製とその解析を行い以下の結果を得た。

1) T白血病細胞に対するモノクローン抗体

SN2と名付けたモノクローン抗体はT白血病細胞株にだけ反応性を示しMolt-4由来の膜抗原の分子量37,000の糖蛋白と免疫沈降体を形成した。

2) Non-T白血病細胞に対するモノクローン抗体

SN3と名付けたモノクローン抗体はNon-T/non-B, Pre-B, B白血病細胞株に反応したがT白血病細胞株には反応しなかった。この抗体が認識する部位は細胞膜表面のシアル酸残基であった。

3) CALLAに対するモノクローン抗体

SN5と名付けたモノクローン抗体はCALLA抗原を発現している細胞に反応性を示し、分子量100,000の糖蛋白と沈降体を形成した。

白血病の治療で化学療法などを施したあと、骨髓に残っている腫瘍細胞をモノクローナル抗体に毒素を結合した複合体で完全に殺して、自家移植することが理想的な治療と考えられ、筆者が得たモノクローナル抗体は有用性が高い。

論文の審査結果の要旨

ヒト白血病細胞に対する特異的モノクローナル抗体（MoAb）は白血病の診断のみでなく、自家骨髄移植に際して白血病細胞のバージにも有用である。本研究はヒト白血病培養細胞株から細胞膜抗原を分離精製し特異性の高い MoAb の作成するために行われた。

S N 2 は T 急性白血病細胞とのみ反応し、37KD の膜糖蛋白と免疫沈降した。

S N 3 は Non-T / non-B, Pre-B, B 急性白血病細胞と反応した、T 白血病細胞とは反応せず、膜表面のシアル酸残基を認識し、S N 5 は C S L L A 抗原と反応し、100kD の糖蛋白と免疫沈降した。