

Title	Characterization of “Regulatory” Idiotope specific T Cell Clones to a Monoclonal Anti-Idiotypic Antibody Mimicking a Tumor Associated Antigen
Author(s)	佐伯, 行彦
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36834
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

氏名・(本籍)	佐 伯 行 彦
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8 7 8 6 号
学位授与の日付	平成元年 7 月 5 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	Characterization of "Regulatory" Idiotope specific T Cell Clones to a Monoclonal Anti-Idiotypic Antibody Mimicking a Tumor Associated Antigen (腫瘍関連抗原を模倣するモノクローナル抗イディオタイプ抗体上に存在するレギュラトリーイディオタイプ特異的T細胞クローンの特性について)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 進 (副査) 教授 森 武貞 教授 濱岡 利之

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

Jerne はイディオタイプネットワーク説の中で免疫応答制御には少なくとも二つのコンパートメントが存在すると述べている。その一つは、コンベンショナルな抗原決定基を介した抗原特異的な免疫担当細胞 (T, B細胞など) による制御, 他の一つはイディオタイプを介したイディオタイプに特異的な免疫担当細胞によるものである。また, 彼は抗イディオタイプ抗体 (Ab 2) には少なくとも二つの異なるタイプが存在することを示した。その一つはパラトープ (抗原結合部位) に無関係な α タイプ, 他の一つはパラトープに相補的な β タイプである。そして, この β タイプの Ab 2 は本来の抗原を模倣することができインターナルイメージとも呼ばれる。最近, このような Ab 2 β を種々の疾患に対するワクチンとして利用しようとする試みがなされるようになり, すでに動物モデルの感染症の系においては優れた成績をおさめている。我々はこのアイデアを腫瘍の系に発展させようと試みてきた。このようなイディオタイプワクチンを実現するためにはイディオタイプを介した免疫応答制御を理解する必要がある。しかしながら, 抗原特異的な免疫応答制御に比べてイディオタイプによる免疫応答制御は明かでない。イディオタイプに特異的なT細胞についての情報不足がイディオタイプによる免疫応答制御機構を理解する上での大きな障害の一つとなっている。そこで今回我々は, イディオタイプによる免疫応答制御機構をより深く理解し, 腫瘍に対するイディオタイプワクチンの実現への一助とするため, 腫瘍関連抗原に対する Ab 2 β に特異的なヘルパーT細胞のクローニングを行い, その特異性, 抗原認識の仕方, さらにその機能についてクローンレベルで解析した。

(方法ならびに成績)

マウス (DBA/2) の L1210/GZL 腫瘍関連抗原に特異的なモノクローナル抗体 (11C1) をマウス (A/J) に免疫し、その脾細胞と非分泌型ミエロマ (SP2/0) 細胞をポリエチレングリコール法により融合し、ハイブリドーマを作製した。RIA法により、その上清をスクリーニングし、11C1に特異的に結合し、11C1と腫瘍関連抗原との結合を競合的にブロックする抗体をβタイプの抗イディオタイプ (Ab2β) の候補として選択した。そして Ab2βであることを確かめるためにこれらの Ab2をマウスに免疫し実際に抗腫瘍免疫を誘導するかどうかを検討し、いくつかのモノクローナルな Ab2βを得た。さらに、このような Ab2βの一つである 3A4 をマウスに免疫し、そのリンパ節由来の T細胞を *in vitro* で 3A4 で反復刺激することにより 3A4 に反応する T細胞を増殖させ、限界希釈法によりクローニングを行った。このようにして樹立した T細胞クローンの抗原特異性を種々の抗原に対する増殖反応により検討した。その結果、少なくとも三つの異なるタイプのクローンを得た。一つは自己の脾細胞に反応するいわゆる自己反応性 T細胞、他の一つは 3A4 に反応し、さらにその Fc フラグメントに反応する T細胞で他の 3A4 とアロタイプを同じくするモノクローナル抗体にも反応することによりアロタイプ特異的 T細胞と考えられた。そして、最後のタイプは 3A4 に反応し、その Fab フラグメントには反応するが Fc フラグメントには反応せず、3A4 とアイソタイプやアロタイプを同じくする他のモノクローナル抗体には反応しないことより 3A4 のイディオタイプに特異的な T細胞と考えられた。しかしながら、この 3A4 イディオタイプ特異的 T細胞は腫瘍抗原を認識することができなかった。このことより、この T細胞が認識するイディオタイプはインターナルイメージ以外のものと考えられた。次に蛍光抗体法にてその表面マーカーを検討したところ Thy1.2+, L3T4+, Lyt2- で表現型はヘルパーであった。一般に抗原特異的ヘルパー T細胞はその抗原認識において抗原提示細胞 (APC) を必要とし、抗原を MHC クラス II 分子と共に認識しその認識は MHC 拘束性である。また、APC による抗原のプロセッシングを必要とする。一方イディオタイプ特異的ヘルパー T細胞については、議論がある。そこで、我々は今回樹立したイディオタイプ特異的ヘルパー T細胞がそのイディオタイプ認識においてこのような特性を有するか検討した。この T細胞を APC 存在下、非存在下で 3A4 で刺激しその増殖反応を ³H チミジンの取り込みで測定したところ、APC 存在下でのみ増殖が見られた。自己の脾細胞及び種々の血統のマウス由来の脾細胞を APC として使用し、T細胞の増殖をみた。T細胞は自己の脾細胞及び DBA/2 と MHC を同じくする血統のマウス由来の脾細胞存在下でのみ増殖をみた。さらに T細胞の増殖は抗 I-E 抗体によりブロックされたが抗 I-A^d 抗体ではブロックされなかった。また APC をライソゾームのインヒビターであるクロロキンで前処置すると T細胞の増殖は見られなかった。以上よりイディオタイプ特異的 T細胞もコンベンショナルな抗原特異的ヘルパー T細胞と同様にイディオタイプの認識において APC を必要とし、イディオタイプを MHC クラス II 分子と共に認識し、MHC の拘束を受け、APC によるイディオタイプのプロセッシングを必要とすることが示唆された。次に生物学的機能について検討した。放射線処理をした 3A4 イディオタイプ特異的 T細胞を 3A4、コントロールイディオタイプ (2F10) 感作 B細胞、及び非感作 B細胞と抗原存在下で共培養し B細胞の増殖を測定したところ、3A4 感作 B細胞のみ増殖がみられた。このことにより、この T細胞はイディオ

オタイプ特異的にB細胞の増殖をヘルプすることがわかった。

(総括)

今回樹立した3A4イディオタイプ特異的ヘルパーT細胞クローンはイディオタイプの認識においてコンベンショナルな抗原特異的ヘルパーT細胞と同様に、APCを必要とし、イディオタイプをMHCの拘束下にMHCクラスII分子と共に認識し、APCによりプロセッシングされたイディオタイプを認識することがわかった。また、このT細胞はイディオタイプ特異的にB細胞の増殖をヘルプする機能をもつことがわかった。3A4は腫瘍関連抗原に対するインターナルイメージを保有する抗イディオタイプ抗体であるが、この3A4で誘導されたT細胞は本来の抗原である腫瘍抗原を認識しなかった。このことより3A4はインターナルイメージ以外にヘルパーT細胞を誘導することのできるレギュラトリーイディオタイプを有することが示唆された。以上より、抗イディオタイプ抗体をワクチンとして応用する場合、インターナルイメージとしてだけでなくレギュラトリーな機能についても考慮する必要があると考えられた。

論文の審査結果の要旨

本研究は、マウス腫瘍関連抗原のインターナルイメージ(IM)であるモノクローナル抗イディオタイプ抗体(MoAb 2)に特異的なヘルパーT細胞(T_H)クローンを樹立し、認識するイディオトープ(Id)の抗体分子上での部位及びId認識の仕方、その機能について解析したものである。

この結果、このMoAb 2のH鎖上にはIM以外に T_H を誘導し得るレギュラトリーIdが存在し、 T_H はId認識において抗原提示細胞(APC)を必要とし、APCによりプロセッシングされたIdをMHC拘束下にMHCクラスII分子とともに認識することを明かにした。

本研究は、Idを介した免疫調節機構の解析及びより有効な抗イディオタイプ抗体による抗腫瘍療法を確立する上で寄与大である。