



Title	A Human Monoclonal Antibody Derived from Axillary Lymph Nodes of a Breast Cancer Patient
Author(s)	玉木, 康博
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36922
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)	玉木 康博
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8869 号
学位授与の日付	平成元年10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	A Human Monoclonal Antibody Derived from Axillary Lymph Nodes of a Breast Cancer Patient (乳癌患者腋窩リンパ節より作製されたヒトモノクローナル抗体)
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 松本 圭史

論文内容の要旨

〔目的〕

癌所属リンパ節より作製されるヒトモノクローナル抗体は、その認識抗原の解析により宿主の癌に対する免疫機構解明に利用できる一方、抗体の人体投与を前提とした癌の画像診断や免疫療法への応用の可能性をも持つ有用な手段である。本研究は、乳癌患者腋窩リンパ節より採取したリンパ球をもちいて、ヒト・ヒトハイブリドーマ法によりモノクローナル抗体を作製し、癌所属リンパ節の認識する抗原の解析をおこなうことを目的とした。

〔方法〕

乳癌患者の手術時に摘出された腋窩リンパ節よりリンパ球を分離し、これとヒトBリンパ芽球細胞株HO-323をポリエチレングリコール4000をもちいて細胞融合し、96穴培養プレートにて培養した。ELISA法により免疫グロブリン産生wellを選別し、さらにヒト乳癌細胞株MCF-7に反応性を有する抗体を産性するハイブリドーマをクローニングし、モノクローナル抗体A4-33を得た。

次いで、MCF-7(乳癌)、Panc-1(肺癌)、HT-29(大腸癌)、HeLa-S3(子宮頸癌)、KATO-III(胃癌)、T-24(膀胱癌)、Flow2000(線維芽細胞)の各種ヒト細胞株を96穴平底プレートに10%中性緩衝ホルマリンで固定し、ELISA法によりA4-33の反応性を検討した。

MCF-7をプレートに固定した後、過ヨウ素酸、トリプシン、ノイラミニダーゼで処理し、A4-33の反応性の変化を同様にELISA法で検討した。

ヒト正常組織、乳腺腫瘍、及び他の悪性腫瘍の10%中性緩衝ホルマリン固定パラフィン包埋切片に対し、ABC法による染色をおこないA4-33の反応性を検討した。

〔成 績〕

240穴中99穴にハイブリドーマを認め、そのうち49穴が免疫グロブリンを産生していた。得られたモノクローナル抗体A 4-33はIgMであった。

A 4-33はMCF 7と非常に強い反応性を示した。また Panc-1, HT-29とも弱く反応したが、他の細胞株とは反応しなかった。A 4-33とMCF-7との反応性は、MCF-7を過ヨウ素酸処理することにより著明に低下したが、トリプシン、ノイラミニダーゼ処理では変化しなかった。このことから、A 4-33の認識抗原に糖鎖が関係しているものと考えられたが、抗A、抗B、抗Lewis A、抗Lewis Bの各抗血清、およびCon A、SBA、WGA、DBA、UEA 1、PNA、RCAのレクチンによる抑制実験では、反応は低下しなかった。

免疫組織学的にはA 4-33は癌特異的抗体ではなく、正常の乳管上皮、唾液腺管上皮、肺管上皮、汗腺導管上皮、胆管上皮の細胞質とも反応した。また胃壁細胞、腎尿細管上皮、肝細胞にも弱い染色を認めたが、他の消化管上皮、消化管腺は染色されなかった。乳腺疾患では、線維腺腫、葉状肉腫、乳腺症の全例で乳管上皮の細胞質が強く染色された。一方、乳癌20例でも、髄様癌の1例を除いて腫瘍細胞が染色されたが、その強さは年齢、病期、リンパ節転移、エストロゲンレセプターの有無等とは、関係を認めなかった。乳癌の2、3の症例で、同一切片上に染色される部分とされない部分の混在が認められるものもあった。他の悪性腫瘍との反応では、A 4-33は肺癌、唾液腺腫瘍と強く反応した。また胃癌、大腸癌の一部の症例に弱い染色がみられたが、食道癌、子宮癌、卵巣癌とは反応しなかった。

以上より、A 4-33は正常の乳管や肺管などの外分泌系の導管上皮に共通して存在する糖鎖抗原を認識しているものと考えられた。

〔総 括〕

1. 乳癌患者腋窩リンパ節よりヒトモノクローナル抗体A 4-33を作製した。
2. A 4-33はMCF-7と特に強く反応したが、免疫組織学的には正常の乳管にも反応し、癌特異的抗体ではなかった。
3. A 4-33の認識抗原は外分泌系の導管上皮に存在する糖鎖抗原であることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は、乳癌患者腋窩リンパ節より採取したリンパ球とヒトBリンパ芽球様細胞株HO-323をもちいて、ハイブリドーマ法により、ヒト乳癌細胞株MCF-7および患者自身の乳癌原発巣に反応するモノクローナル抗体A 4-33を作製し、その認識抗原が正常の乳管、肺管、唾液腺管、汗腺導管、胆管などの導管上皮に共通して存在する糖鎖抗原であることを示したものである。担癌生体の癌に対する免疫反応を解明する上で、癌所属リンパ節が認識する抗原の解析は極めて重要であり、学位に値する業績である。