

Title	Hybridomas producing human monoclonal antibodies against varicella-Zoster virus
Author(s)	菅野, 徹
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37468">https://hdl.handle.net/11094/37468</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>〉</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）	菅野徹 <sup>とおる</sup>
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9283 号
学位授与の日付	平成 2 年 7 月 11 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	Hybridomas producing human monoclonal antibodies against varicella-Zoster virus (水痘-帯状疱疹ウイルスに対するヒトモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ)
論文審査委員	(主査) 教授 高橋 理明 (副査) 教授 上田 重晴 教授 栗村 敬

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

血清免疫グロブリンは水痘-帯状疱疹ウイルス（以下VZVと略す）やヒトサイトメガロウイルス（以下HCMVと略す）に起因する重症疾患の受動免疫療法に用いられてきたが、これらのウイルスに対する血清抗体価は低く、十分な防御効果を得るのが難しかった。

本研究では、受動免疫療法に用いる高力価のヒトモノクローナル抗体（以下HuMAbと略す）を得る目的で、in vitroで抗原刺激を加えたヒトリンパ球を用いたハイブリドーマ株を樹立した。

得られたHuMAbの認識抗原と抗ウイルス活性の解析を行ない受動免疫療法の可能性について検討した。

### 〔方法〕

ヒトリンパ球をin vitroでウイルス抗原とPWMまたはBCGFによって刺激し、マウスミエロマ細胞P3U-1とポリエチレングリコール法によって細胞融合させハイブリドーマを作製した。ウイルス抗原を固相化したELISAでスクリーニングを行ない、限界希釈法によってクローニングした。

HuMAbの抗体量、結合活性、結合スペクトラムはELISA法によっておこなった。

認識抗原は免疫沈降電気泳動法で同定し、FITCを用いた間接蛍光抗体法によって膜抗原の検出を行った。抗ウイルス活性はブランク法による中和試験で判定した。

### 〔結果〕

ヒトリンパ球のin vitro刺激の予備検討を行なったところ単純疱疹ウイルス（以下HSVと略す）では、HSV抗原とPWMの刺激によって抗HSV IgGの産生が上昇し、HSV特異的なハイブリドーマが高率に取得できた。HCMVでもHCMV抗原とBCGFの刺激によって抗HCMV IgG産生

リンパ球が増加し、HCMV特異的なハイブリドーマが高率に出現することが確かめられた。この方法を基にしてVZVに対する5株の中和活性を有するHuMAb産生株を樹立した。5株中3株(V1, V6, V9)は分子量116k, 105k, 64kダルトンの糖タンパクgpIIを、2株(V2, V8)は分子量94k, 83k, 55kダルトンの糖タンパクgpIを認識していた。V1, V8は補体非存在下でヒト血清グロブリンの180~720倍の高い中和活性を有していた。V2, V8は補体依存的に中和活性が増強されヒト血清グロブリンの770~1100倍になった。V1はHSVの110kダルトンの糖タンパクgBにも交叉反応性を示したが、HSVは中和しなかった。V1, V2は臨床分離株2株を含む6株のVZVを全て中和した。いずれのHuMAbもVZV感染細胞の表面抗原に反応しADCCやCDC活性が期待できる。

このようなHuMAbがウイルス感染症に対して有効であるかどうかをHSVを接種したマウスの系で検討した。ヒト血清グロブリンの33倍の中和活性をもつ抗HSVgBHuMAb(H2)を、HSV腹腔接種前、および接種後に投与したところ、ヒト血清グロブリンの1900倍の予防効果、830倍の治療効果を示した。またHSVを皮膚内接種したヌードマウスの帯状ヘルペスも有意に制御し生存率を向上させた。

〔総括〕

- 1) *in vitro* 抗原刺激を用いた抗VZV, HSV, HCMVヒトモノクローナル抗体産生ハイブリドーマの樹立法を確立した。
- 2) ヒト血清グロブリンの180~720倍の高い中和活性を有する抗VZV gpI, およびgpII HuMAb産生株を樹立した。
- 3) いずれの抗VZV HuMAbも感染細胞の表面抗原に反応した。
- 4) 抗HSV HuMAbでマウスを用いた感染実験を行なったところ、つよい感染防御、治療効果を示した。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)の受動免疫療法に用いるヒト型モノクローナル抗体産生ハイブリドーマの樹立を目的として、その樹立法、樹立されたモノクローナル抗体の活性について検討したものである。その結果VZVの主要糖タンパクであるgpI, gpII, gpIIIに対するヒトマウスハイブリドーマが、*in vitro* stimulationの手法を用いて樹立され、それらのモノクローナル抗体は強い中和活性、ADCC活性をもっていることが明らかとなり、その大量産生、精製も可能となった。

本研究はこれまで受動免疫療法に用いられてきた $\gamma$ -グロブリン製剤に代わるべき新しい強力なヒト型モノクローナル抗体を開発した点で意義は大きく学位に値すると思われる。