Osaka University Knowledge Archive

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	https://hdl.handle.net/11094/37468
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【33】

氏名・（本籍）	菅野　徹（すがの　とおる）
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，充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，マウスミエローマ細胞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なった。抗ウイルス活性はプラー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う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γ－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考えられる。