

Title	Characterization of a new mouse monoclonal antibody (ONS-M21) reactive with both medulloblastomas and gliomas.
Author(s)	森内, 秀祐
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38944
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	もり うち しゅう すけ 森 内 秀 祐
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 11321 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Characterization of a new mouse monoclonal antibody (ONS-M21) reactive with both medulloblastomas and gliomas. (髄芽腫およびグリオーマを認識するモノクローナル抗体の作製)
論文審査委員	(主査) 教授 早川 徹 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 岸本 忠三

論文内容の要旨

【目的】

髄芽腫は、代表的な小児悪性脳腫瘍である。その予後は、放射線療法を主とする集学的治療の進歩により、飛躍的に向上したが、未だ満足すべき状態ではない。主要な再発様式は局所再発や髄腔内播種であり、予後を決定している。そこで、この髄芽腫の診断及び治療を目的に、モノクローナル抗体の作製を行い、その反応特異性、認識抗原の生化学的特性について検討した。

【方法】

教室で樹立したヒト髄芽腫細胞株 ONS-76 を BALB/c マウスの腹腔内投与にて3回免疫した後、その脾細胞を取り出し、ミエローマ細胞 P3 X 63-Ag8, 653 と電気的細胞融合装置にて融合し、HAT selection にてハイブリドーマを選択した。限界希釈後、ELISA 法にて髄芽腫細胞株 ONS-76 と強く反応し、正常脳組織、血球系と反応しない抗体を産生するモノクローンを選択し、その抗体を ONS-M21 とした。

FACS 解析により、種々の細胞株に対する反応性ならびに、抗 CD3, 抗 CD11b, 抗 CD16 抗体を用いて血球系との交差反応性も検索した。また、凍結切片にて、免疫組織化学的に髄芽腫、神経膠腫を含む各種脳腫瘍組織、成人正常脳および各種臓器組織、さらには胎児脳組織との反応性をも検討した。認識抗原の解析に、分子量を¹²⁵I を用いた immunoprecipitation にて行ない、affinity chromatography にて抗原の抽出を試みた。エピトープの糖鎖との関連についても FACS 解析にて検討を行った。

【結果】

ONS-M21 は、術中摘出標本の免疫組織学的解析より髄芽腫 (3/3), PNET (3/3), 神経膠腫 (12/12) と強く反応したが、神経芽細胞腫 (0/5) とは反応しなかった。また、樹立細胞株による FACS 解析では、髄芽腫 (3/3), 神経膠腫 (12/12) との反応性は強く、神経芽細胞腫 (0/5), メラノーマ (0/2), 白血病 (0/5), 肺小細胞癌 (0.5), マウスグリオーマ (0/2) との反応性は認められなかった。胃癌 (1/5), 肝癌 (1/3) との反応もほとんど認められなかった。FACS 解析にて、正常人の末梢白血球と ONS-M21 抗体との交差反応性はなく、また、免疫組織学的に、正常成人及び胎児 (胎生23週, 32週) 脳組織とも反応しなかった。FACS によるエピトープの解析より、この抗体のエピトープはトリプシンで失活し、ノイラミニダーゼでは失活せず、タンパクまたは糖タンパクのタンパク部分であるものと推定された。

¹²⁵I を用いた immunoprecipitation による解析より、ONS-M21 の認識抗原の分子量は約80 kDa であるものと考えられ、また、髄芽腫細胞株 ONS-76 と同様にクリオーマ細胞株 T98G においても、ONS-76 に比べ僅かではあるが、抗原の存在が確認された。affinity chromatography においても同様に約80 kDa の抗原分子が確認された。

【総括】

抗髄芽腫モノクローナル抗体 ONS-M21 は、髄芽腫およびクリオーマを共通して認識し、血球系細胞や成人および胎児の正常脳組織と交差しないことが示された。

免疫源として用いた髄芽腫細胞 ONS-76 は Synaptophysin, Neurofilament protein (145kDa, 200kDa), Neuron specific enolase 陽性であり、ニューロン系の性格を持つ一方で、インターフェロン γ により HLA-DR 抗原の誘導が可能であり、クリオーマ系の性格をも有している。このようなニューロンおよびグリア系への2方向性の分化傾向をもつ ONS-76 を用いることで、この膜表面抗原でグリオーマ系との共通抗原を認識する抗体の作製に成功したものと思われた。これまで髄芽腫はニューロン系への分化のみ報告されてきたが、ONS-M21 抗体の反応性より、髄芽腫とグリオーマとの共通抗原の存在の可能性が示された。この ONS-M21 抗原の分子量は約80 kDa であり、エピトープはこの抗原のタンパク成分であるものと考えられた。

これまで、10種の抗髄芽腫モノクローナル抗体の報告があるが、ONS-M21 の反応性は、そのどれとも異なり、より特異的である。また、これまで髄芽腫細胞は神経系に強く分化しているとされていたが、グリア系腫瘍との膜表面の共通抗原を認識している点が特徴的である。

論文審査の結果の要旨

本研究は、髄芽腫細胞株 ONS-76 を用いて作製した抗髄芽腫モノクローナル抗体 (ONS-M21) が、髄芽腫およびグリオーマの膜抗原を共通して認識し、血球系細胞や成人および胎児の正常脳組織と交差せず、特異な認識様式を示すこと、認識抗原の分子量が80kDa で、今までに報告のない新たな抗体であることを示したものである。

これまで髄芽腫は、ニューロン系に分化しているとする報告が多いが、ONS-M21 抗体の反応性より、髄芽腫とグリオーマとの共通抗原の存在の可能性が示された。これまで、10種の抗髄芽腫モノクローナル抗体の報告があるが、ONS-M21 の反応性は、そのどれとも異なり、特異的である。

以上、本モノクローナル抗体は、髄芽腫の発分化の解明、髄芽腫及びグリオーマの診断、治療につながる可能性があり、学位に値するものとする。