



|              |                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Characterization of Mouse Monoclonal Antibody B1.4 Reactive with Human Invasive Bladder Cancer and Some Other Malignant Tumors but Not with Normal Urinary Epithelium                                              |
| Author(s)    | 細木, 茂                                                                                                                                                                                                              |
| Citation     | 大阪大学, 1995, 博士論文                                                                                                                                                                                                   |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                    |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/39189">https://hdl.handle.net/11094/39189</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|               |                                                                                                                                                                                                                                                   |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | さい 木 しげる 茂                                                                                                                                                                                                                                        |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 ( 医 学 )                                                                                                                                                                                                                                       |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 1 6 6 0 号                                                                                                                                                                                                                                     |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 7 年 2 月 2 日                                                                                                                                                                                                                                   |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第2項該当                                                                                                                                                                                                                                      |
| 学 位 論 文 名     | Characterization of Mouse Monoclonal Antibody B1.4<br>Reactive with Human Invasive Bladder Cancer and Some<br>Other Malignant Tumors but Not with Normal Urinary<br>Epithelium<br>(浸潤性ヒト膀胱癌および数種の悪性腫瘍に反応し、正常尿路上皮に<br>反応しないマウス単クローン抗体 B1.4 の特性の解析) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 奥山 明彦<br>(副査)<br>教 授 青笹 克之      教 授 門田 守人                                                                                                                                                                                             |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

単クローン抗体 (mAb) による膀胱癌の抗原性の解析により、浸潤や転移を含む膀胱癌の生物学的特性を診断できる可能性があり、我々は膀胱癌に反応し、正常の尿路上皮に反応しない抗体を作成し、膀胱癌の生物学的悪性度の診断に応用することを目的に本研究を行った。

### 〔材料および方法〕

培養細胞株: EJ-1 と T24 は JCRB 細胞バンクより提供を受けた。他の培養細胞株は Memorial Sloan - Kettering Cancer Center から提供を受けた。

単クローン抗体の作製: ヒト膀胱癌培養細胞株 (EJ-1) を BALB/c マウスに3週間間隔で4回免疫後、NS-1 と細胞融合した。融合細胞の一次スクリーニングは EJ-1 を標的とした MHA rosetting assay を用いて行い、limiting dilution により clone を選択し、mAb B1.4 (IgG1) を得た。

免疫組織染色: 手術および剖検時に採取し OCT compound に包埋後、-80℃で保存した各種の正常組織と癌組織の凍結切片を2% paraformaldehyde で固定し、一次抗体として mAb B1.4 を反応させた。

### 〔成 績〕

1. 凍結切片を用いた免疫組織染色による mAb B1.4 の特異性の検討: 22例の正常尿路上皮とは反応せず、他の18正常臓器のうち、腎糸球体、血管内皮、食道扁平上皮、前立腺上皮、膵腺上皮のみ陽性であった。71例の膀胱癌のうち、組織学的異型度 grade 1 は34例中1例 (3%), grade 2 は20例中8例 (40%), grade 3 は17例中14例 (82%) に陽性反応がみられた。深達度との関連性では、表在性膀胱癌 (Ta, T1) では54例中8例 (15%), 浸潤性膀胱癌 (T2, T3) では17例中15例 (88%) が陽性であった。

膀胱以外の10臓器の癌組織中、前立腺癌、喉頭癌、腎細胞癌、胃癌が陽性であった。このことより、癌組織における B1.4 抗原の発現は2つに分けられ、前立腺癌や喉頭癌のように、もともと正常上皮に発現されているものと、腎細胞癌や胃癌のように、正常上皮には発現されていないが、癌化することにより発現されるものとに分かれた。

2. MHA rosetting assay による培養癌細胞株に対する mAb B1.4 の反応の特異性：膀胱癌 6 株中 4 株が反応し、増殖の速い株ほど強く反応した。腎細胞癌、大腸癌、melanoma や astrocytoma のほとんどの株とも反応した。
3. mAb B1.4 の認識する抗原分子の化学的解析：免疫沈降法や Western blot 法では、mAb B1.4 の認識する抗原分子を決定できなかった。2% paraformaldehyde で固定した凍結切片を protease 処理、sodium periodate 処理、100℃の加熱処理することにより、抗原性は失われたが、neuraminidase 処理には影響を受けなかったことから、mAb B1.4 の認識する抗原分子は糖蛋白であると考えられた。

#### [総括]

我々の作製した mAb B1.4 は、免疫組織染色により、浸潤性膀胱癌および異型度の高い膀胱癌と高頻度に反応し、表在性膀胱癌および異型度の低い膀胱癌とは、ほとんど反応しなかったので、mAb B1.4 の認識する抗原は、膀胱癌組織の悪性化に伴い、発現が誘導されるものと考えられる。我々の抗体と同様に、正常の尿路上皮には発現されず癌化に伴い発現される抗原を認識する抗体には T43, T138, T23, 3G2C6 があるが、各種の正常組織や培養癌細胞に対する反応性が mAb B1.4 とは異なることより、mAb B1.4 の認識する抗原は、膀胱癌の生物学的悪性度の新しい指標となるものと思われる。それを支持する結果として、表在性膀胱癌において、B1.4 抗原陽性例の予後は陰性例に比べ有意に不良であった。

また、B1.4 抗原は、各種臓器の血管内皮にも発現されていることより、癌の浸潤増殖や転移に関与している可能性もあり、転移巣での B1.4 の発現の有無および抗原分子の同定が今後の課題である。

### 論文審査の結果の要旨

近年、単クローン抗体 (mAb) は、特定の抗原に対する結合の特異性から、分化抗原や癌関連抗原の診断に臨床応用が広がっており、泌尿器科領域の腫瘍に対しても、膀胱癌の抗原性の解析により、浸潤や転移を含む生物学的特性の診断に応用が期待されている。

著者は、膀胱癌に反応し、正常の尿路上皮に反応しない抗体を作成し、膀胱癌の生物学的悪性度の診断に応用することを目的に本研究を行った。培養ヒト膀胱癌細胞株 (EJ-1) をマウスに免疫し作製した mAb B1.4 は、免疫組織化学的染色から、浸潤性膀胱癌および異型度の高い膀胱癌と高頻度に反応し、表在性膀胱癌および異型度の低い膀胱癌とは反応性が低いことが判明した。mAb B1.4 の認識する抗原分子は免疫沈降法や Western blot 法では特定できなかったが、凍結切片を酵素処理や加熱処理した結果から糖蛋白であることが推定された。同様の反応性を示す他の既知の抗体とは、正常組織や培養癌細胞に対する反応性が異なることから、mAb B1.4 の反応性は、膀胱癌の生物学的悪性度の新しい指標となることが示唆される。この抗体の臨床診断への応用として、表在性膀胱癌において、膀胱保存治療後の B1.4 抗原陽性例の予後を検討すると、陰性例に比べ有意に不良であることが判明した。

本研究は、膀胱癌の悪性度の診断に、単クローン抗体を用いて癌関連抗原の発現を解析し、個々の症例に対して根治的治療あるいは機能保存的治療を適切に選択することにより、予後の改善が期待できることを示唆するもので、学位の授与に値すると考えられる。