

Title	Characterization of an Anti-Hepatocellular Carcinoma Antibody and its Single Chain Fragment
Author(s)	Duanpen, Sandee
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44221">https://hdl.handle.net/11094/44221</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 href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/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	ドゥンペン サンディー Duanpen Sandee
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 17807 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	Characterization of an Anti-Hepatocellular Carcinoma Antibody and its Single Chain Fragment. (抗肝細胞性癌抗体およびその単鎖フラグメントの解析)
論文審査委員	(主査) 教授 福井 希一  (副査) 教授 室岡 義勝 教授 原島 俊 教授 塩谷 捨明 教授 卜部 格 教授 金谷 茂則 教授 高木 昌宏

#### 論文内容の要旨

本論文は抗肝細胞性癌モノクローナル抗体を作成しその単鎖の性質を解析結果について述べたものである。肝細胞性癌 (HCC) はタイ王国を含む世界で最も一般的な肝癌であり、多くの治療法が試みられてきたがどれも成功に至っていない。そこで新規の治療法として抗 HCC モノクローナル抗体の利用を考えた。

第 1 章では HCC の一般的な紹介と研究の歴史さらには本研究の目的について述べた。

第 2 章では抗 HCC モノクローナル抗体である Hep27 をハイブリドーマを用いて作成した過程について述べた。主に Hep27 が HCC-S102 細胞系統上の糖脂質癌分化抗原を認識し、HCC-S102 細胞系統に対して癌分化を抑制することを明らかにした。

第 3 章では、Hep27 の可変領域である重鎖と軽鎖からなる単鎖フラグメント (scFv) を大腸菌内で過剰発現させた実験について述べた。過剰発現の結果、scFv は不溶性の封入体として得られたが、巻き戻し条件を検討する事により、最終的に 1 L 当たり 12 mg の可溶性 scFv を得ることに成功した。この可溶性 scFv は HCC-S102 細胞に対して癌分化抑制活性を示した。

第 4 章では、シグナルペプチドを付加した Hep27 scFv 遺伝子を作製し、Dsb システムを用いて大腸菌により過剰発現させた。その結果、可溶性の Hep27 scFv を大量に得ることに成功し、この Hep27 scFv は癌分化抑制活性も維持していた。さらに 0.5 M のソルビトールを用いて Dsb システムの改良を行い、最終的に高い収率で可溶性の Hep27 scFv を得ることを可能とした。

第 5 章では、以上の事をとりまとめ、本研究が HCC の抗体治療に有効な結果を得ている事を論じた。

#### 論文審査の結果の要旨

肝細胞性癌 (HCC) は癌による死亡原因の中で 3 番目に位置し、毎年増加している。現在、HCC 治療のために多くの方法が試みられている。正常な細胞に悪影響を及ぼすことなく、癌細胞のみを特異的に死滅させる方法の一つに

モノクローナル抗体 (Mab) の利用がある。ハイブリドーマ技術を用いることで HCC 細胞に対する Mab を産生することは可能である。しかしながら、この方法は複雑で、時間と高い費用が必要となり、さらにマウス Mab のヒトへの利用はヒトの抗マウス抗体により制限される。これらの制限は遺伝子工学的に作製した単鎖 Fv (ScFv) の利用により克服されると考えられる。最も簡便で安価な方法は、大腸菌を用いた scFv の産生である。そこで本研究では HCC 細胞に対する Mabs をハイブリドーマ技術により作製し、興味深い Mab についてはキャラクタリゼーション後、イミノグロブリン遺伝子のクローニング、scFv 遺伝子の作製、大腸菌を用いた scFv 発現系の構築を行った。大腸菌を用いた scFv 産生の最適な条件の検討を scFv が不溶性及び可溶性となる双方の場合について行った。以上、本研究では以下のような結果および結論が得られた。

(1) 抗 HCC モノクローナル抗体である Hep27 をハイブリドーマを用いて作成した過程について述べた。主に Hep27 が HCC-S102 細胞系統上の糖脂質癌分化抗原を認識し、HCC-S102 細胞系統に対して癌分化を抑制することを明らかにした。

(2) Hep27 の可変領域である重鎖と軽鎖からなる単鎖フラグメント (scFv) を大腸菌内で過剰発現させた実験について述べた。過剰発現の結果、scFv は不溶性の封入体として得られたが、巻き戻し条件を検討する事により、最終的に 1 L 当たり 12 mg の可溶性 scFv を得ることに成功した。この可溶性 scFv は HCC-S102 細胞に対して癌分化抑制活性を示した。

(3) シグナルペプチドを付加した Hep27 scFv 遺伝子を作製し、Dsb システムを用いて大腸菌により過剰発現させた。その結果、可溶性の Hep27 scFv を得ることに成功し、この Hep27 scFv は癌分化抑制活性も維持していた。さらに 0.5 M のソルビトールを用いて Dsb システムの改良を行い、最終的に高い収率で可溶性の Hep27 scFv を得ることを可能となった。

このように、本研究は、肝細胞性癌の診断さらには治療に寄与するところが大きく、よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。