



Monoclonal antibodies to rat liver cell membrane glycoproteins

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 福本, 哲夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1281

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 4 号	学位授与年月日	昭和 5 9 年 1 2 月 2 7 日
氏 名	福 本 哲 夫		
論文題目	Monoclonal antibodies to rat liver cell membrane glycoproteins (ラット肝細胞膜糖タンパク質に対する単クローン性抗体)		

医学博士 福本 哲夫

論文題目

Monoclonal antibodies to rat liver cell membrane glycoproteins

(ラット肝細胞膜糖タンパク質に対する単クローン性抗体)

論文の内容の要旨

申請者は、これまで肝臓が免疫グロブリンの生体内分解の主要な場所であることを明らかにしたことを契機として、微小環境に対応する肝細胞表面の受容体分子の解析をすすめてきた。細胞膜表面糖タンパク質は肝細胞の分化や自己免疫性肝疾患の起炎物質を検索するうえでも極めて重要である。しかし、これらの物質の性状については現在まだ不明な点が多い。そこで肝細胞膜抗原に対する単クローン性抗体を作成し、その性状を解析した。

雄DAラットの肝細胞膜を細胞分画法により分離し、デオキシコレーイトで可溶化後、そのレンチル・レクチン吸着性糖タンパク分画を得、それを抗原としてBALB/cマウスを免疫し、Köhler-Milsteinの細胞融合法による単クローン性抗体産生法により、抗肝細胞膜抗原・単クローン性抗体の産生株を準備した。細胞株のスクリーニングは、遊離肝細胞を標的細胞とした細胞性ラジオイムノアッセイとflow cytographyにより行い、単クローン性抗体の性状は、各種細胞に対する結合反応、各種臓器ホモゲネートとの交叉反応により検索した。また、一部の単クローン性抗体については、その対応抗原を免疫吸着カラムを用いて単離精製した。

その結果、肝細胞膜抗原と結合する3種類の単クローン性抗体(HAM 1, HAM 2, HAM 3)が得られた。

HAM 1により認められる抗原は、肝のみならず、腎と脾にも見い出された。またこれらは各種のラット肝癌細胞株には強く発現されたが、リンパ球系腫瘍株には顕著ではなかった。

HAM 2抗原は、肝を含めて多くの臓器(脳を除く)に認められた。HAM 2対応抗原を単離したところ、ラット・MHCクラス1抗原(RT-1A)であることが同定された。

HAM 3抗原は肝細胞に特に強く発現し、肝特異性が最も高いことが示唆された。しかし、これは肝癌細胞株にはほとんど発現されなかった。

なお、3種類の単クローン性抗体のIgGサブクラスはそれぞれIgG₁, IgG_{2a}, IgG₁であった。

以上より、ラット肝細胞膜糖タンパク質に対する単クローン性抗体が3種類得られた。それぞれの単クローン性抗体によって識別される抗原は、それぞれ特有な性状を示すことが明らかになった。特にHAM 2抗原はラット・MHCクラス1抗原であり、HAM 3及びHAM 1抗原は、肝特異性が強く、肝腫瘍株での発現性が異なることから、これらの単クローン性抗体はいずれも肝の腫瘍化の機構や自己免疫性疾患の発症を実験的に解析する上で有力なものであることが示唆される。

論文審査の結果の要旨

申請者はこれまでにラットを用いてその肝臓が免疫グロブリンの生体内分解の主要な場所であることを明らかにしてきた。その主役を演じている肝の微小環境の機能を研究する目的で肝細胞膜表面の受容体である糖タンパク質に対する単クローン性抗体を作製した。今回は3種の単クローン性抗体を作ることに成功し、これらで検出される膜抗原の性格を検討したところ、次のような興味ある新事実を見出した。

申請者は、まず肝細胞膜表面の糖タンパク質を単離するにあたって、雄DAラットの肝細胞膜を細胞分画法で分離、デオキシコレーイトで可溶化し、レンチル・レクチン吸着性糖タンパク質を精製した。次にこの糖タンパク質をBALB/cマウスに免疫し、Köhler-Milsteinの開発した細胞融合法による単クローン性抗体を得る方法で肝細胞膜に対するマウスの単クローン性抗体を作製した。肝細胞膜と反応する単クローン性抗体を得るために遊離肝細胞を標的細胞とした細胞性ラジオイムノアッセイとflow cytographyをまず実施した。次に膜に反応した単クローン性抗体について、各種細胞に対する結合反応、各種

臓器ホモゲネートとの交叉反応により性状を検討した。

更に抗原である糖タンパク質を単離精製する目的で単クローン性抗体を用いて免疫吸着カラムを作り、それに対応する抗原を精製し分子量を決めた。

以上の検討結果から肝細胞膜抗原と結合する3種類の単クローン性抗体を得ることが出来て、これらをHAM 1, HAM 2, HAM 3 と名付けた。

肝細胞膜からの糖タンパク質の分離、それを抗原として単クローン性抗体の作製、更にそれらの抗体の性格付け等に関する生化学的、免疫学的方法等については審査の結果、高い評価を得た。

次に申請者は、上記の3種類の単クローン性抗体の特徴について以下の如く説明された。

① HAM 1により検出される抗原は、肝のみならず、腎と脾の細胞膜に見い出された。又これは、各種のラット肝癌細胞株に強く発現されていたが、リンパ球系腫瘍株には顕著ではなかった。免疫グロブリンのサブクラスはIgG₁であった。

② HAM 2により検出される抗原は、肝を含めて多くの臓器(脳を除く)に認められた。単離精製してみると分子量は45,000～50,000ダルトンで、ラットのMHCクラスI抗原(RT-1A)であることが同定された。免疫グロブリンのサブクラスはIgG_{2a}であった。

③ HAM 3により検出される抗原は、分子量38,000ダルトンで肝細胞膜に特に強く発現されていて、肝特異性が最も高いことが示唆されたのであるが、肝癌細胞株には殆んど発現されていなかった。脾細胞には弱いながら表現されていた。免疫グロブリンのサブクラスはIgG₁であった。

これらを総合して、HAM 2抗原はラットのMHCクラスI抗原であり、HAM 1及びHAM 3は、肝特異性が強く、肝腫瘍細胞株での発現性が異なることから、これらの単クローン性抗体はいずれも肝の腫瘍化の機構や自己免疫性疾患の発症を実験的に解析する上で有力なものであろうと結論づけられた。

これに対し種々の討議が審査委員と申請者の間でなされ、これらの単クローン性抗体は新しいものであり、申請者の結論に加えるに、発生、分化、増殖の過程までも解析可能にする材料を開発したものとして高く評価し、本審査委員会は本研究が医学博士の学位授与にふさわしいものであると全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 吉 田 孝 人

副査 教授 高 田 明 和 副査 教授 阿 曾 佳 郎

副査 助教授 金 井 弘 一 副査 助教授 太 田 英 彦