

氏名（本籍）	佐 <sup>さ</sup> 藤 <sup>とう</sup> 伸 <sup>のぶ</sup> 之 <sup>ゆき</sup>
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	医博第 1215 号
学位授与年月日	平成 6 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学研究科 （博士課程）外科学系専攻
学位論文題目	SCID マウスを用いた腫瘍特異的ヒト型 IgG 抗体 作製法の開発

（主査）

論文審査委員	教授 藤村重文	教授 今野多助
	教授 菅村和夫	

## 論文内容要旨

癌の早期発見や診断, 更には治療などにおいて, ヒト癌細胞に対する特異的抗体は大きな役割を果たすと考えられ, その作製は重要な課題である。現在まで癌細胞に対する抗体が数多く報告されてきているが, これらの抗体のほとんどはマウス型で, 臨床応用においては異種蛋白であるための副作用の問題がある。キメラ抗体や humanized antibody など遺伝子工学の進歩により人工的にヒト型に近い抗体の作製も試みられているが, 手技的に複雑であり, ヒトリンパ球に由来する自然なヒト型モノクローナル抗体が理想的である。

しかし現時点におけるヒト型モノクローナル抗体は, 癌患者のリンパ球より作製されたのがほとんどである。即ち腫瘍特異的なリンパ球を得るのに癌患者の免疫能に頼っており, 積極的な抗原感作は倫理上の問題がありなされていない。そのため抗体作製の効率は悪く, また IgG 型抗体が得られにくいなどの欠点がみられる。in vitro immunization の試みもなされているが, 手技が煩雑である割には効率もいまひとつであり, 効率の良い IgG 型抗体の作製法の完成が待たれていた。

本研究では重症複合型免疫不全 (Severe Combined Immunodeficiency, SCID) マウスを用いた, 効率の良いヒト型抗体作製法の確立を目的とした。即ち SCID マウスに癌患者リンパ球と自己腫瘍組織を同時に移植し, auto の腫瘍による in vivo immunization のモデルを新たに考案し, SCID マウス内において腫瘍特異的なヒトリンパ球の増殖を惹起しようと試みた。SCID マウス脾臓, 胸腺より得たヒトリンパ球よりハイブリドーマを作製, 以下の結論を得た。

- 1) SCID マウスの血清中にはヒト IgG が高値に認められ, IgM, IgA はほとんど見られなかった。
- 2) 数匹のマウスにおいては血清中ヒト Ig が培養癌細胞に対し陽性反応を示した。
- 3) SCID マウス脾臓, 胸腺よりヒト B リンパ芽球様細胞株の樹立が可能で, これらのリンパ球も IgG 産生が主であった。
- 4) これらの細胞株のうち培養癌細胞に反応する細胞株の割合は, 癌患者リンパ球より樹立した細胞株に比し 10 倍以上であった。他の抗体作製の報告と比較しても高率であった。
- 5) これらの細胞株より 5 種の腫瘍特異的なヒト型 IgG モノクローナル抗体を樹立することができた。

SCID マウスは T, B 両細胞系の機能不全のミュータントであり, 異種移植のレシピエントとなり得る。SCID マウスに移入されたヒト免疫細胞はその機能を保持しており, SCID マウス血中にヒト免疫グロブリンが検出されることが知られている。またヒトリンパ球移入 SCID マウス

に抗原刺激を加えることにより、ヒトリンパ球の抗原感作の可能性も示唆されている。

本研究においては、既に肺癌細胞に感作されている可能性の高い縦隔リンパ節細胞を SCID マウスに移入し、更に自己腫瘍細胞を移植することにより腫瘍に反応するクローンが特異的に増大することが予想され、この SCID マウスよりヒトリンパ球を回収することにより、効率の良いヒト型モノクローナル抗体の作製が可能と考えた。

この系を用いた結果、SCID マウスを介さないで縦隔リンパ節細胞より得た細胞株に比し、10 倍以上の効率で癌細胞に反応する細胞株が得られた。文献的に他の報告と比較しても効率良く、*in vitro* sensitization と比較しても簡便で、しかも効率がよかった。更に SCID マウスを介さない系では IgM が多かったのに対し、SCID マウスを介した系では IgG が主であり、*in vivo* における特異的なクローンの増大が示唆されたのみならず、抗体のスイッチングが起こっている可能性も示唆された。

SCID マウスを用いて、ヒトリンパ球を *in vivo* において刺激することにより、これまで困難であったヒト型抗体、特に IgG 抗体の作製が簡便に作製しえた。今後臨床の場において簡便に作製されたヒト型モノクローナル抗体は大いに貢献するものと期待される。

## 審査結果の要旨

癌の早期発見や診断，更には治療などにおいて，ヒト癌細胞に対する特異的抗体は大きな役割を果たすと考えられ，その作製は重要な課題である。しかし現在用いられている抗体のほとんどはマウス型であり，臨床応用においては，副作用の問題からヒト型の抗体作製が望まれていた。現時点におけるヒト型モノクローナル抗体は，癌患者のリンパ球より作製されたのがほとんどである。即ち腫瘍特異的なリンパ球を得るのに癌患者の免疫能に頼っており，積極的な抗原感作はなされていない。そのため抗体作製の効率は悪く，また IgG 型抗体が得られにくいなどの欠点が見られる。

本研究では重症複合型免疫不全（Severe Combined Immunodeficiency, SCID）マウスに癌患者リンパ球と自己腫瘍組織を移植した auto の *in vivo* immunization のモデルを新たに考案，効率の良いヒト IgG 抗体作製を目的とし，以下の結論を得た。

- 1) SCID マウスの血清中にはヒト IgG が高値に認められた。
- 2) 数匹のマウスにおいては血清中ヒト Ig が培養癌細胞に対し陽性反応を示した。
- 3) SCID マウス脾臓，胸腺よりヒト B リンパ芽球様細胞株の樹立が可能で，これらのリンパ球も IgG 産生が主であった。
- 4) これらの細胞株のうち培養癌細胞に反応する細胞株の割合は，癌患者リンパ球より樹立した細胞株に比し 10 倍以上であった。他の抗体作製の報告と比較しても高率であった。
- 5) これらの細胞株より 5 種の腫瘍特異的なヒト型 IgG モノクローナル抗体を樹立することができた。

前述の如く，ヒト型モノクローナル抗体の作製の効率は悪く，更に IgG クラスの抗体は得られにくいものであった。それはヒトを癌抗原で免疫できないことに起因するものであり，ヒトリンパ球の *in vivo* での感作ができれば解決する問題と思われる。

本研究においては SCID マウスに癌患者リンパ球を移植，患者の免疫系をマウス内に再構築し，更に自己腫瘍組織を移植することにより *in vivo* での再感作が可能で，腫瘍特異的リンパ球の増大が起こるものと考えられた。結果としてこれまでの抗体作製法よりも効率良くヒト型抗体，特に IgG 抗体を作製することができ，このモデルの有用性が示された。簡便なヒト型抗体作製法の開発は腫瘍免疫の研究において非常に有益であり，またヒト免疫系の *in vivo* での動態に関しても重要な研究であると考えられる。

よって本論文は，学位授与に値すると認められる。