TITLE:

Immunoglobulin variable region sequences of two human monoclonal antibodies directed to an onco-developmental carbohydrate antigen, lactotetraosylceramide(LcOse[4]Cer)(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Yago, Kazuhiro

CITATION:

Yago, Kazuhiro. Immunoglobulin variable region sequences of two human monoclonal antibodies directed to an onco-developmental carbohydrate antigen, lactotetraosylceramide(LcOse[4]Cer). 京都大学, 1994, 博士(医学)

ISSUE DATE:

1994-03-23

URL:

<https://doi.org/10.11501/3094350>

RIGHT:

氏 名	や 野 吾 和 宏
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1543 号
学位授与の日付	平 成 6 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Immunoglobulin variable region sequences of two human monoclonal antibodies directed to an onco-developmental carbohydrate antigen, lactotetraosylceramide (LcOse ₄ Cer) (癌胎児性糖鎖抗原ラクトテトラオシルセラミド (LcOse ₄ Cer) に対する, 2 種のヒト型モノクローナル抗体の免疫グロブリン可変領域のシークエンス) (主 査)
論文調査委員	教 授 森 徹 教 授 湊 長 博 教 授 大 熊 稔

論 文 内 容 の 要 旨

ラクトテトラオシルセラミド (LcOse₄Cer, Lc₄) は 1 型糖鎖抗原であり, ルイス血液型物質, CA19-9・CA50 等の癌関連抗原の前駆体である。また Lc₄ は胎便, 胎生期気管支・消化管等で検出されると共に, 胎児性癌, 奇形癌, 腎癌, 消化器癌, 子宮内膜癌等種々の腫瘍で発現され, 癌胎児性抗原の一つと考えられている。

今回ヒト扁桃リンパ球とマウス骨髄腫細胞を融合することにより, ヒト型モノクローナル抗体 11-50 (IgM, λ) が, またそのイディオタイプを認識するマウスモノクローナル抗体 G3 (IgG₁, κ) が樹立された。11-50 の反応抗原は TLC の移動度により, 3~5 糖の糖脂質と考えられ, 純品の糖脂質を用いた TLC 免疫染色法, ELISA 法によって Lc₄ と確認された。G3 は 11-50 と Lc₄ の結合を阻害しパラトープ関連性抗イディオタイプ抗体であった。

糖鎖抗原を認識する抗体はしばしばオリゴクローナルであり, イディオタイプの連続性が高いものが存在することが知られている。Lc₄ アフィニティーカラムを用い正常ヒトプール血清より精製したヒト抗 Lc₄ ポリクローナル抗体を, LS174T 細胞の中性糖脂質画分とビオチン化 G3 抗体によるサンドイッチ ELISA で測定することにより, ヒト血清中に G3 イディオタイプ陽性の抗 Lc₄ 抗体が存在することが示された。

癌胎児性糖鎖抗原に対するマウス抗体におけるイディオタイプの連続性は, 抗体の可変領域が極めて限定された可変領域遺伝子によってコードされることに基礎をおいている。このことがヒト抗糖鎖抗体においても成立するかどうか検討するため, ヒト子宮内膜癌周囲リンパ節由来リンパ球とマウス骨髄腫細胞を融合することにより得られたヒト抗 Lc₄ モノクローナル抗体 HMST-1 (IgM, λ) と 11-50 の免疫グロブリン可変領域の塩基配列を mRNA シークエンス法, PCR 法によって決定した。heavy chain に関しては 11-50 の V_H 領域は V_HIII ファミリーの germline 遺伝子 V_H1.9III と塩基配列上 95.6%, HMST-1 の V_H

は V_H III ファミリーの hv3005f3 と 98.3% のホモロジーを示した。互いのホモロジーは塩基配列上 93.5% であった。D 領域の germline 遺伝子は特定されず互いに異なっていた。 J_H は共に J_H4 であった。light chain に関しては、 $V\lambda$ は共に $V\lambda$ II ファミリーの rearranged gene である $V\lambda$ II. DS と塩基配列上 96.6% のホモロジーを示した。 $J\lambda$ はそれぞれ $J\lambda 2, 3$ であり、アミノ酸配列は同一であった。11-50 と HMST-1 の可変領域は V_H CDR3 領域を除き非常に相溶性が高いにもかかわらず、11-50、ヒト血清ポリクローナル抗 Lc_4 抗体と反応する抗イディオタイプ抗体 G3 は HMST-1 と反応しなかった。HMST-1 は癌抗原による刺激によって得られた体細胞変異により G3 イディオタイプを失った可能性があると考えられた。11-50、HMST-1 の germline 遺伝子と考えられ、非常に相溶性が高い V_H 1.9III、hv3005f3 は共に胎生期に発現し、また自然自己抗体においても用いられていることが知られている。 $V\lambda$ II. DS も紅斑性狼瘡に関連した自己抗体で用いられている。このことは一種の自己抗原と考えられる胎児性糖鎖抗原 Lc_4 に対する抗体の特徴として興味深いと考えられた。

論文審査の結果の要旨

癌胎児性抗原を認識する抗体の特徴を解明するため、ヒト扁桃リンパ球より癌胎児性糖鎖抗原 lact-tetraosylceramide (Lc_4) を認識するヒト型モノクローナル抗体 11-50 (μ , λ) とそれに対するマウス抗イディオタイプ抗体 G_3 (γ_1 , κ) を樹立し以下の解析を行った。1) Lc_4 アフィニティーカラムで精製した正常ヒトプール血清中の Lc_4 ポリクローナル抗体に G_3 イディオタイプ陽性成分が存在することが示された。2) Lc_4 に対するヒト抗体可変領域の特徴を知る目的でヒト抗 Lc_4 抗体 11-50 と HMST-1 可変領域の塩基配列を決定した。両抗体の重鎖の V_H は互いに相溶性の高い germline 遺伝子 V_H 1.9III および hv3005f3 と高い相溶性を示し、 J_H は J_H4 を用いていた。また、両抗体の軽鎖は共に $V\lambda$ II. DS および $J\lambda 2.3$ と高い相溶性を示した。これら V_H と $V\lambda$ は胎児期および自己抗体で用いられており、一種の自己抗体と考えられる癌胎児性糖鎖抗原 Lc_4 に対する抗体の特徴として興味深い。

以上の研究は癌胎児性糖鎖抗原を認識する B 細胞集団の特徴を解明し、癌免疫学に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 6 年 1 月 14 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。