

氏名(本籍)	野末睦 (長野県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	博甲第567号
学位授与年月日	昭和63年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	B16メラノーマ変異クローンにおけるメラノーマ抗原発現量と細胞外基質接着能、 転移能との相関 (dissertaion形式)
主査	筑波大学教授 医学博士 杉田良樹
副査	筑波大学教授 医学博士 上野賢一
副査	筑波大学教授 医学博士 添田周吾
副査	筑波大学教授 医学博士 田村昇
副査	筑波大学助教授 薬学博士 小野崎菊夫

論文の要旨

〈目的〉

悪性腫瘍の特徴的な性質は浸潤、転移を起こすことであるが、転移の形成過程において細胞表面上の癌抗原は重要な働きをしているとされてきた。単クローン抗体の技術の確立以来、癌抗原は単クローン抗体の認識する物質として捉えられつつある。M562, M622, M2590はB16メラノーマ細胞を同系のC57BL/6マウスに頻回免疫して得られた単クローン抗体で、M2590は細胞表面上のGM₃ガングリオシドを抗原として認識し、M562とM622はマウスメラノーマに特異的な糖タンパク質を認識していることがわかっている。更にB16メラノーマ細胞と単クローン抗体M562を同時にマウスに静注すると有意に肺のコロニー数を減少させることが報告されている。本実験ではこの三種の単クローン抗体が認識する抗原の生物学的機能、特に細胞外基質への接着や転移形成における役割を、細胞表面上の抗原量が異なった種々のクローンを用いて調べた。

〈材料と方法〉

細胞表面上の抗原発現量が異なるクローンを取るために、B16メラノーマ細胞に変異原物質としてN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)を加えた後M2590と補体で抗原を発現している細胞を殺し、細胞表面上に抗原が発現されていないクローンの選択を試みた。その結果三種の抗原全てが表現されているグループ(MEA)のクローン、M562とM622が認識する抗原が

細胞表面上に存在しないグループ (MEB) のクローン, M2590が認識する抗原, 即ち GM₃が細胞表面上に存在しないグループ (MEC) のクローンが分離された。これらのクローンを使い抗原の有無が細胞増殖能, 細胞外基質への接着能, 転移能に与える影響を見るために各グループ間での差の有無をみた。細胞増殖能は倍加時間, 飽和密度, コロニー形成能, 軟寒天内コロニー形成能でみた。細胞外基質への接着能は, フィブロネクチン, ラミニン, コラーゲン I, コラーゲン IV への接着能で調べた。転移能は尾静脈から腫瘍細胞を静注して肺に形成されるコロニー数を数える実験的肺転移と足の裏の腫瘍からの転移をみる自然肺転移の実験で調べた。

〈結 果〉

クローンの抗原発現量を調べた結果各クローンのM562とM622との結合量は高い相関を持って変動し, 各抗体間での競合結合抑制試験ではM562とM622が互いに60%以上の結合抑制を示したことから両者は同じ抗原を認識していると考えた。細胞増殖能に対する抗原の影響は殆どなかった。細胞外基質への接着能に関しては, MEA グループのクローンが他のグループのクローンに比してラミニンとコラーゲンIVに有意に高い接着能を示した。実験的肺転移実験においてはクローン毎の転移能にかなりの差がみられたが, 各グループ毎に肺コロニー数の中央値をとって比較したところ, 同じ数のコロニーを作るのに MEB グループは MEA の1.5倍, MEC グループは MEA の5倍の細胞数が必要であった。また MEA と MEB グループのクローンの抗原表現量と実験的肺転移における肺コロニー数との相関をみたところ, 1.0×10^5 個の細胞静注群で有意の相関がみられ, また 2.0×10^5 個の細胞静注群では MEA グループに属するクローン間で有意の相関がみられた。

〈結 論〉

マウスB16メラノーマに特異的な癌抗原であり, モノクロナル抗体のB562とB622が認識する糖タンパク質と, M2590が認識するガングリオシド GM₃の機能を解析し次の点を明らかにした。

- (1) これらの抗原の存在が細胞増殖に及ぼす影響は認められなかった。
- (2) 両抗原ともに存在するクローンのグループでは細胞のラミニンとコラーゲン I Vへの接着性が高い。
- (3) 両抗原が存在するクローンのグループでは細胞の実験的肺転移能が高い。

審 査 の 要 旨

本研究は悪性腫瘍の転移形成過程における癌抗原の役割について検討したものである。著者はモノクロナル抗体を用いて細胞表面の腫瘍特異的および腫瘍関連抗原の表現が異なる3種のクローンを得た。それらの細胞増殖性, 細胞外タンパク基質への接着能, 実験的肺転移能と自然肺転移能について検討し, 抗原の表現型が異ると接着能および実験的肺転移能が異なることを明らかにした。これらの研究は癌細胞の転移能の一端を明らかにしたものであり, 機構解明の基礎となる価値ある論文であると評価する。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。