

してどの様にお考えか？

回答 (奈良医大) 斎藤 滋

抗原抗体比が最高となつたところで流血中に免疫複合体が出現してくるので、妊娠初期に IC 値が高値、中期以降は低下するのはこれらの抗原抗体比が変化するためと思われる。

質問

(名古屋市大) 青木 耕治

妊娠初期 IgG-IC 量と妊娠回数との間に、何らかの関係はなかつたか。

回答

(奈良医大) 斎藤 滋

初産婦と経産婦との間に IC 値は有意差を認めなかつた。

第28群 免疫 III (157~161)

157. 絨毛癌培養株の HLA-A, B, C 抗原とその調節機構

(千葉大)

河田 誠, 関谷 宗英, 高見沢裕吉

目的：妊娠性絨毛癌は、遺伝的に少なくとも半分は夫由来の遺伝子をもつ trophoblast より発生するため、その細胞表面上に主要組織適合抗原が存在するのにか否かにつき注目されて来た。今回我々は、絨毛癌培養株につき、HLA-A, B, C 抗原とその調節機構につき解析を行ない、正常満期 cytotrophoblast と比較検討をしたので報告する。

方法：妊娠性絨毛癌株 7 種、非妊娠性株 2 種につき、HLA-A, B, C 抗原、 β_2 ミクログロブリン (β_{2m})、HLA-DR, Trop 1, 2 抗原に対するモノクローナル抗体で蛍光染色し、その抗原量を FACS で測定した。更にこれらの培養株およびコントロールとして使用した細胞 (Daudi, LCL 721, F9, 正常リンパ球) より RNA を集め、Northern blot hybridization を行なつた。HLA heavy chain および β_{2m} に対する cDNA プローブを使用した。また、培養上澄中の β_{2m} 量を RIA で測定した。

成績：① JAR を除く他の 8 種の絨毛癌株は HLA-A, B, C 抗原を表現していた。しかし、5 種類の株ではその抗原量が正常リンパ球の 15% 以下の微量であつた。また、 β_{2m} は HLA-A, B, C 抗原量とほぼ同量であつた。② 全ての株の培養上澄中に β_{2m} が検出され、その量は細胞表面上の量と相関がみられなかつた。③ HLA-A, B, C mRNA は対応する株の細胞表面上の抗原量と相関を示した。 β_{2m} mRNA は HLA-A, B, C mRNA 量にみられたような明らかな量的な違いが認め得なかつた。この結果より、正常 trophoblast と同様、絨毛癌細胞上の HLA-A, B, C 抗原は HLA heavy chain の転写レベルで制御されている事実が見出された。

独創点：絨毛癌 HLA-A, B, C 抗原の分子レベルでの解析。

質問

(新潟大) 竹内 正七

先生の示した興味深い HLA-A, B, C 抗原の調節機構を動かす因子についてなにか evidence またはお考えがあれば御教示いただきたい。

回答

(千葉大) 河田 誠

① choriocarcinoma の precursor が不明な現在 (HLA ⊕ の細胞か、HLA ⊖ の細胞か?)、癌化に伴なう変化か、ある特定の trophoblast か決めるのはむずかしい。

② ある特定の分化段階の trophoblast を示しているかもしれない。

③ Cell line との樹立、継代中の変化も否定は出来ない。

質問

(名古屋市大) 田中 博之

絨毛癌培養株のある株に認められた抗原量の低下は、FACS にかける前段階の単離細胞にする時の酵素処理等の影響は、考えられないか。

回答

(千葉大) 河田 誠

正常リンパ球、浮遊 lymphoid cell line 上の HLA-A, B, C 抗原を殆ど変えない条件を使用した。

158. 単クローン抗体による絨毛癌 hCG 小分子分画 (Ag 2) の抗原分析

(兵庫医大)

斉藤 行生, 山田 裕子, 杉本 幸美

辻 芳之, 香山 浩二, 磯島 晋三

我々は、絨毛性疾患患者尿中に、hCG の抗原活性を有する小分子分画 (Ag 2) が高率に且つ高濃度に存在することを報告してきたが、Ag 2 は native な hCG 分子 (Ag 1) と抗原性を交叉するが、hCG の生物活性を有しない。

又、絨毛性疾患患者では、レクチン (LCH) 非結合

性 hCG が尿中に多量に排出されるが、今回特異性の異なつた抗 hCG モノクローナル抗体 (Mab) を用いて絨毛癌に出現する Ag 2 の抗原性の分析及び Ag 2 の LCH との結合性について検討した。絨毛癌に出現する Ag 2 分画は絨毛癌患者尿の冷アルコール沈殿蛋白を Sephadex G-75 カラムで分画した。

実験に用いた抗 hCG Mabs は hCG 免疫マウス脾細胞とマウス骨髄腫細胞 (P3U1) との細胞融合により樹立した 3 種のハイブリドーマ (5D4, 6E4, 2F8) から産生される Mabs で何れも IgG₁ であり、その特異性は Mab-5D4 は hCG, hCG- β , LH と反応したが、hCG- α とは反応せず、Mab-6E4 は、hCG, hCG- α , LH と反応するが、hCG- β とは反応せず、Mab-2F8 は hCG とのみ反応し、hCG- α , hCG- β 及び LH とは反応しなかつた。Ag 2 分画に ¹²⁵I を標識し、各抗体との結合性を調べると ¹²⁵I-Ag 2 は抗 hCG 通常抗体の他、Mab-5D4 とは反応するが、Mabs 6E4 及び 2F8 とは反応しなかつた。¹²⁵I-Ag 2 分画を Mab-5D4 を用いた抗体アフィニティクロマトグラフィーにより精製し、その精製分画と Mab-5D4 との免疫沈降複合体の SDS-PAGE autoradiography を行なつてみると、Ag 2 は free の hCG- β よりもより小分子で約 14K dalton の部位に band を示した。次に絨毛癌患者尿の冷アルコール沈殿蛋白を LCH カラムにて分画し Ag 2 の存在を調べると、LCH 非結合性分画にのみ Ag 2 が認められた。以上より絨毛癌患者尿中には LCH 非結合性で、hCG- β の抗原性を保有し、hCG- β よりもより小分子の分子量約 14K dalton を示す抗原物質が存在していることが明らかになつた。

質問 (徳島大) 鎌田 正晴

我々の検討でも Ag 2 は絨毛癌患者尿中に多量に存在することが判つています。しかしその分子量は SDS ディスクで約 3F であり gel filtration でも hCG の shoulder 部分に溶出される分子として認められており、今回の Ag 2 とは分子量がかなり異なると思われる。もともと Ag 2 は hCG と一部抗原性をクロスし agar 電気泳動で陰極側に泳動される分子として規定されているものと解釈している。今回の分子がそれに当てはまるかどうか？

回答 (兵庫医大) 香山 浩二

今回、Ag 2 と呼ばせて頂いたものは、発表の最初にも述べたように、ある絨毛癌患者尿蛋白を Sephadex G75 で分画し、各分画の hCG 活性を抗 hCG モノクローナル抗体である 5D4 抗体を用いて測定した際に検出

された通常の hCG よりも小分子サイズのものを Ag 2 と定義した。通常の conventional 抗 hCG 血清を用いて hCG 免疫活性を測定した場合には 5D4 モノクローナル抗体によつて検出される小分子 hCG とはまた異なつた小分子 hCG が検出されてくる可能性がある。

質問 (神戸大) 宇都宮 卓

① Ag 2 は LCH レクチンに結合しないということは、Ag 2 が単純蛋白であるのか、糖蛋白の糖部分が LCH レクチンと結合しない性質のものであると考えられるのか、他のレクチンとの結合能等検討されていればお教え願いたい。

② hCG β subunit の core 部分のみ、CTP 部分のみが choriocarcinoma で分泌されているという報告があるが、もし CTP specific Ab で検討されていればお教え願いたい。

回答 (兵庫医大) 斉藤 行生

① LCH 結合性は mannose 及び galactose との結合性によるものであり、将来、絨毛癌 hCG の Ag 2 分画の種類の実験が必要と考えている。

今回実験に用いて 5D4 モノクローナル抗体は LH との反応性もあり、CTR にエпитークを有する抗体ではない。CTR に対する抗体にての分析はおこなっていないが Ag 2 自身が CTR のとれた hCG- β 部分か否か等の分析は Ag 2 のアミノ酸分析等の解析をおこなつて結論をだしたいと考える。

追加 (兵庫医大) 香山 浩二

¹²⁵I-Ag 2 と反応する抗 hCG モノクローナル抗体は、下垂体性 LH とも反応するところから、Ag 2 は β -hCG DCOOH terminal peptide というよりは NH₂ 側の peptide の一部である可能性が強いと思う。

159. Human trophoblast の分化抗原に対する単クローン抗体の作製

(旭川医大)

中村 隆文, 山下 幸紀, 清水 哲也

(同・第2病理) 池田 久實, 片桐 一

目的: Trophoblast の分化ならびに悪性化の機構および Trophoblast が宿主から拒絶されない免疫学的機構などを解析するために Trophoblast に対する単クローン抗体 (MoAbs) の作製を試みた。

方法: BALB/c マウスを絨毛癌細胞株 (BeWo) で免疫し、Köhler & Milstein の方法に準じて MoAbs を作製した。作製した MoAbs の特異性は、種々の細胞および組織に対して、¹²⁵I 標識抗マウス F (ab')₂ による Celluler radioimmunoassay, 間接蛍光抗体法および