

479 ハムスター卵管由来卵透明帯修飾糖蛋白質に対する単クローン性抗体の生物学的活性

山形大, 山形大寄生虫\*

酒井安子, 荒木慶彦, 仙道富士郎\*, 広井正彦

〔目的〕ハムスターの排卵後卵管内卵透明帯に結合する卵管由来糖蛋白質(ZP-0)に対する単クローン性抗体(AZPO-8)を樹立し, その生物学的活性を *in vitro*, 及び *in vivo* において検討した。〔方法〕*in vitro*: AZPO-8 ハイブリドーマを腹腔内投与したマウスの腹水から, Qセファロースを用いたFPLCにてIGG分画を精製して使用した。過排卵処理したハムスター卵管内未受精卵をAZPO-8で処理後媒精し, 透明帯付着精子数及び, 8時間後に卵子を固定・染色して受精の判定を行った。また, AZPO-8と精子を培養し, 6時間後の精子運動率を調べた。*in vivo*: 過排卵処理・交配の種々の時期に腹水を腹腔内投与して, 卵胞発育・排卵・初期胚の発育・着床等への影響を組織学的検索を併用して調べた。〔成績〕*in vitro*: ①卵管内卵をAZPO-8で処理すると100 $\mu$ g/ml以上で明瞭な沈降層を生じ, トリプシン抵抗性となり, 精子の透明帯への結合が阻害された。②受精率は200 $\mu$ g/mlで対照の約50%に減少し, 3mg/mlで完全に抑制された。③精子運動率も濃度依存性に低下した。*in vivo*: ④卵の発育・排卵への影響は認められなかった。⑤hCGと共に抗体を投与し交配後, 1日目の受精卵回収率は抗体の量依存性に低下するものの抗体6ml投与で56.8%であった。⑥同処置後3日目の8細胞期卵回収率は, 抗体2ml投与で48.1%に減少し多数の壊れた透明帯が散見された。⑦交配後3日目に抗体を投与すると抗体4mlで着床産仔数が減少した。⑧抗体投与により各臓器の器質的変化は認められなかった。〔結論〕AZPO-8には受精阻害作用に加えて, 初期胚の発育障害・着床阻害作用がある事が示唆された。

480 Virus-helpを応用して誘導される腫瘍特異免疫の *in vivo* に於ける effector 機構の解明

癌研究会附属病院婦人科, 大阪大微研\*

清水敬生, 奥平吉雄\*, 陳 瑞東, 平井康夫, 中山一武, 濱田哲郎, 藤本郁野, 山内一弘, 荷見勝彦, 増淵一正

【目的】人癌への応用を考え, 人感染型 vaccinia virus(V)を腫瘍の修飾抗原として用いた免疫法でマウスに於ける治療モデルを作成した。この系で *in vivo* での腫瘍排除に必要な細胞群を明確にすることを目的とした。【方法】C3H/HeNマウスを $10^7$ PFUのVで感作し, V反応性 helper T細胞活性を賦与した。3週後背部皮内に $10^6$ 個の同系腫瘍X5563(X)又はMH134(M)を移植し, 5mmに達した時点より腫瘍内に $10^8$ PFUのVを2日毎に3回局注した。腫瘍が退縮した1週後に $10^5$ 個の生腫瘍細胞を攻撃接種し, これに耐えた免疫マウスを用いて, *in vitro* でCTL活性及び抗腫瘍抗体活性を検索した。更に免疫マウスの脾細胞を各種抗体+補体(C)で処理して, 腫瘍細胞と100:1で混合し, 腫瘍中和試験を行った。【成績】*in vitro* の解析の結果, X腫瘍系ではCTL, M腫瘍系では抗腫瘍抗体が特異的に検出された。*in vivo* 中和試験では, 両腫瘍系とも免疫マウスの脾細胞を抗Thy1.2又は抗Lyt $1^+2^-$ +Cで処理すると中和活性が消失した。一方Lyt $1^-2^+$ +C処理(CTL活性を除去)しても中和活性は保持された。この際に recipient に用いたマウスにはCTL又は抗体活性は認められなかった。以上より, Lyt $1^+2^-$ 型T細胞が *in vivo* での腫瘍排除に不可欠であると考えられた。【結論】本研究により, *in vitro* の解析が常に *in vivo* の effector 機構を反映するとは限らぬことを明らかにした。更に *in vivo* での腫瘍抵抗性賦与の中心となる細胞群は, CTLやB細胞では無く, Lyt $1^+2^-$ 型T細胞であると考えられた。これは免疫療法, 特に細胞移入による治療を行う際の重要なポイントを示唆しているものと考えられた。