

# 婦人科悪性腫瘍由来細胞株に対するモノクローナル抗体 MSN-1, および HMST-1の細胞障害作用の解析 —モノクローナル抗体の治療応用への基礎的研究—

埼玉医科大学医学部産婦人科学教室 (主任: 畑 俊夫教授)

飯 田 幸 雄

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 (主任: 飯塚理八教授)

野 澤 志 朗

## The Mechanism of Cytotoxicity of Monoclonal Antibodies to Gynecological Cancer Cell-lines

Sachio IIDA

*Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,*

*Saitama Medical School, Saitama*

*(Director: Prof. Toshio Hata)*

Shiro NOZAWA

*Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Keio University, Tokyo*

*(Director: Prof. Rihachi Iizuka)*

**概要** 子宮体部分化型腺癌より樹立した培養細胞株 SNG-II を免疫原として作製したマウス型モノクローナル抗体 MSN-1 (subclass: IgM), および子宮体部腺癌患者の根治手術時摘出リンパ節をリンパ球原として得たハイブリドーマより得られるヒト型モノクローナル抗体 HMST-1 (subclass: IgM) の子宮頸部扁平上皮癌由来細胞株 SKG-IIIb, および子宮体部腺癌由来細胞株 SNG-II に対する補体依存性細胞障害作用 (complement dependent cytotoxicity: CDC), および抗体依存性細胞介在性細胞障害作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC) について,  $^{51}\text{Cr}$  遊離反応により測定し, 検討した.

1) モルモット補体を用いた CDC では, MSN-1 は SNG-II 細胞に対し  $38.4 \pm 4.2\%$ , HMST-1 は SNG-II 細胞に対し  $41.9 \pm 4.8\%$  と, 両抗体ともに 40% 前後の有意な CDC 活性が認められた. 一方, SKG-IIIb 細胞に対しては有意な CDC 活性は認められなかった.

2) ヒト末梢血より比重遠沈法により分離した単核球分画の非付着細胞を効果細胞 effector cell として, マウス型モノクローナル抗体 (Mo-Ab): MSN-1, およびヒト型 Mo-Ab: HMST-1 の両抗体の SKG-IIIb 細胞, および SNG-II 細胞に対する ADCC 活性を測定したが, 両抗体ともに両細胞株に対し有意には認められなかった. 同時に, 同じリンパ球単独の赤白血病株 K-562 に対する細胞障害作用は 40% 程度であったのに対し, SNG-II に対し 9% 程度, SKG-IIIb に対し 2% 程度であり, SKG-IIIb, および SNG-II は NK 非感受性株であることが示唆された.

**Synopsis** The cytotoxicity including complement dependent cytotoxicity (CDC) and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) of two kinds of monoclonal antibodies (Mo-Ab), namely, MSN-1 which was obtained by means of an immunization procedure with intact SNG-II cells from human endometrial adenocarcinoma and HMST-1 obtained from hybridoma fused lymphocytes from lymph node with murine myeloma cells were studied by the  $^{51}\text{Cr}$  liberation test in vitro.

1) Against SNG-II, MSN-1 and HMST-1 showed significant CDC activity at  $38.4 \pm 4.2\%$  and  $41.9 \pm 4.8\%$  respectively, when a guinea pig complement was used. However, no significant CDC, action on SKG-IIIb was induced by MSN-1 or HMST-1.

2) Mo-Ab: MSN-1 and HMST-1 showed no significant liberation of  $^{51}\text{Cr}$  in relation to SKG-IIIb and

SNG-II when using peripheral blood lymphocyte (PBL) separated by centrifugation gradient as the effector cells, and then the cytotoxicity of PBL alone against K-562 cell, SNG-II and SKG-IIIb was 40%, 9% and 2% respectively.

This suggested that neither Mo-Ab had any ADCC activity and that SKG-IIIb and SNG-II cells were NK resistant cell-lines.

**Key words:** Monoclonal antibodies • Microcytotoxicity assay • Complement dependent cytotoxicity • Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity • Gynecologic malignancy

## 緒 言

1975年 Köhler et al.<sup>11)</sup>によるハイブリドーマ作製方法が確立されて以来、近年、さまざまなモノクローナル抗体（以下 Mo-Ab と略す）が作製され、癌の補助的診断に応用されている<sup>4)13)</sup>が、その治療にはほとんど用いられていないのが現状である。Mo-Ab を用いた治療には抗体単独療法、またはラジオアイソトープや抗癌剤等を抗体に結合させて用いるミサイル療法<sup>2)</sup>等が考えられ、実施されている。抗体を単独で治療に用いた場合の抗腫瘍効果の機序としては、補体依存性細胞障害作用 (complement dependent cytotoxicity: CDC)、抗体依存性細胞介在性細胞障害作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC) 等が考えられており、これらに関しリンパ腫<sup>25)</sup>、悪性黒色腫<sup>8)19)</sup>、消化器癌<sup>12)20)</sup>等で *in vitro* や動物実験での検討が行われているが、Mo-Ab の癌に対する治療効果の有無や、その作用機序についてはいまだに不明な点が多く残されている。そこで今回、癌に対する Mo-Ab が治療に応用できるか否かを検索するにあたり、その基礎的研究として、すでにヒト子宮体部腺癌に対して免疫組織化学的方法によつて高率に反応性を示すことが明らかにされたマウス型、およびヒト型 Mo-Ab を用いて、*in vitro* における細胞障害作用を以下のごとく検討した。

## 材料と方法

### 1. 培養細胞（標的細胞：target cell）

本研究のために target cell: T として用いた培養細胞は、子宮頸部扁平上皮癌由来細胞株 SKG-IIIb<sup>16)</sup>、および子宮体部腺癌由来細胞株 SNG-II<sup>15)</sup> である。各細胞は10%牛胎児血清 (FCS) 加 F-12 培地にて培養維持した。細胞障害作用試験に用いる標的細胞は、すべて継代培養後 4～7 日後の対数増殖期の細胞を用い、viability はトリパンブ

ルー色素排除試験により、すべて90%以上であった。

### 2. モノクローナル抗体 (Mo-Ab)

MSN-1<sup>9)15)</sup>は、マウス骨髄腫細胞と SNG-II 細胞で免疫された Balb/c マウスの脾細胞を細胞融合して作製されたハイブリドーマから得られ、その認識抗原は主として糖脂質上の Lewis<sup>b</sup>糖鎖抗原を認識するマウス型 Mo-Ab で、subclass は IgM である。一方、HMST-1<sup>14)</sup>は子宮体部腺癌患者より得られたリンパ節からのリンパ球とマウス骨髄腫細胞とを細胞融合して得られたハイブリドーマより得られるヒト型 Mo-Ab であり、その認識抗原はラクトオシルセラミド (I 型糖鎖) を認識する。なお subclass は IgM である。以上の Mo-Ab の精製は、硫酸を用いて塩析した後、ゲル濾過を行い精製抗体として用いた。

### 3. <sup>51</sup>Cr を用いた細胞障害作用試験

#### 1) 補体依存性細胞障害作用 (complement dependent cytotoxicity: CDC)

T となる細胞を0.1% Trypsine+0.02% EDTA にて剥離後、2回 F-12培地にて洗浄、 $2 \times 10^6$ 個/0.5ml に調整後、40~100 $\mu$ Ci (1mCi/ml) の Na<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub> を加え、37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>の条件下で2時間標識した。さらに2回洗浄後、 $2 \times 10^5$ 個/ml に調整した後、丸底96well microtestplate に、 $1 \times 10^4$ 個/50 $\mu$ l/well ずつまいて、その後、細胞を生着させるため、37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>にて、2時間培養した。その後、各濃度の抗体 (0.3~300 $\mu$ g/ml) 50 $\mu$ l を氷上にて加え4 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>にて、1時間培養して抗体と反応させた後にモルモット補体 (Standard guinea pig complement: CEDAR LANE, CANADA) 50 $\mu$ l (最終希釈はそれぞれ12倍、6倍、3倍希釈) を加え、最終容量を150 $\mu$ l として37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>にて1時間培養、補体と反応させた後、1,500rpm、4 $^{\circ}$ Cにて5分間遠沈後、各 well より

100 $\mu$ lの培養上清を採取し、Sincillation  $\gamma$ -counterにて測定した。

2) ヒト末梢血リンパ球 (Peripheral blood lymphocyte: PBL) の分離法と PBL 単独の標的細胞への細胞障害作用

PBLは健康人より、ヘパリン加血を採取し、Ficoll-conrey 比重遠心法にて単核球分画を採取し、10%FCSを含むF-12培地下でプラスチックシャーレにて37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>の条件下で2時間培養後、非付着細胞 (non-adherent cell) を採取し、効果細胞/標的細胞比 (effector/target ratio: E/T r.) はそれぞれ10, 20, 40となるように調整して効果細胞 (effector cell: E) として用いた。以上で収集した PBL 分画には感作のない状態で、抗体を介さずに腫瘍細胞に対し細胞障害作用を示す Natural-killer cell (NK)<sup>18)</sup>が含まれているため、NKに対するSNG-II, SKG-IIIbの抵抗性をあらかじめ検討するため、松本ら<sup>1)</sup>の方法に従って、NK感受性株であるK-562細胞を用いて、健康人PBL単独のK-562細胞、およびSNG-II細胞、SKG-IIIb細胞に対する細胞障害作用を比較検討した。

3) 抗体依存性細胞介在性細胞障害作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC), および抗体単独の標的細胞への細胞障害作用

2)において収集したPBLを用いて<sup>51</sup>Cr遊離反応を用いたmicrocytotoxicity assayを行った。標的細胞をCDCの場合と同様に<sup>51</sup>Cr標識し、平底96well microtestplateに、1 $\times$ 10<sup>4</sup>個/50 $\mu$ l/wellずつまいた後37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>にて2時間培養した。さらに、各wellとも各濃度(0.001~100 $\mu$ g/ml)の抗体50 $\mu$ l、および別に用意、調整したPBL(細胞濃度は、4 $\times$ 10<sup>6</sup>個/ml)をeffector cellとして加え、各wellの最終容量を200 $\mu$ lとして37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>にて4時間培養した後、CDCの場合と同様に遠沈後、各wellより上清を採取し、遊離した<sup>51</sup>Cr活性を測定した。また一方、標的細胞である各培養細胞に対する抗体単独の細胞障害作用を検討するため、上記の抗体濃度にて4時間培養後のTに対する細胞障害作用を<sup>51</sup>Cr遊離反応にて上記と

同様に検討した。

4) 特異的細胞障害率 (%specific lysis: %SL) の算出

特異的細胞障害率は次のような計算式で求めた。 $\%SL = \{(ER[cpm] - SR[cpm]) / (MR[cpm] - SR[cpm])\} \times 100 (\%)$ , 実験値遊離 (Experimental <sup>51</sup>Cr release [cpm]: ER) はTに抗体(A), および補体(C)もしくは効果細胞(E)のもの。自然遊離 (Spontaneous <sup>51</sup>Cr release [cpm]: SR) は、TにCまたはEのみのもので、Aを加えないものを、また、最大遊離 (Maximum <sup>51</sup>Cr release [cpm]: MR) は0.8% TritonX-100を加えて求め、%SLを算出し、それぞれ% CDC, %ADCCとした。なお、これらの実験はすべて triplicate となつている。なお、CおよびEの陽性対照としてはME-180細胞<sup>21)</sup>をTとし抗A+B血清を用いて同時に assay を行つた。

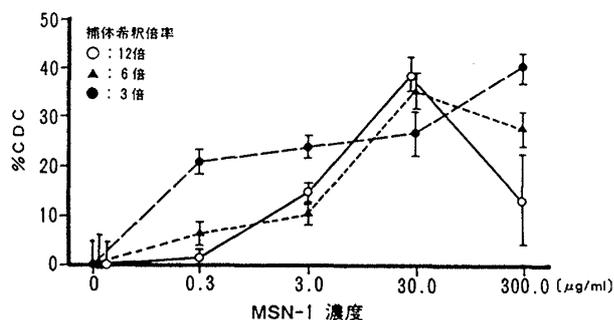
## 結 果

### 1. <sup>51</sup>Crを用いた細胞障害作用試験

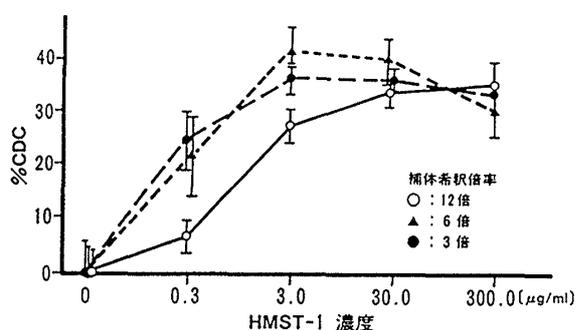
1) SNG-II細胞に対するMo-Ab (MSN-1, HMST-1)によるCDC活性

Mo-Ab (MSN-1, およびHMST-1)のSKG-IIIb細胞, SNG-II細胞に対するCDC活性を検討した。MSN-1のSNG-IIに対するCDC活性は補体希釈倍率12倍, および6倍では抗体濃度0.3~30 $\mu$ g/mlの範囲にわたり濃度依存的に細胞障害活性の上昇が認められMSN-1濃度30 $\mu$ g/mlにおけるCDC活性は38.4%(補体希釈倍率12倍)と最大を示し, 300 $\mu$ g/mlの濃度では13.2%とCDC活性の低下が認められた。また補体濃度3倍希釈の場合, 0.3, 3, 30 $\mu$ g/mlにおいては20.1%, 23.1%, 26.1%と増加し, 300 $\mu$ g/mlにおいては最大の40.3%のCDC活性を示した(図1a)。一方, HMST-1のSNG-II細胞に対するCDC活性は補体希釈倍率12倍, および6倍では抗体濃度0.3, 3 $\mu$ g/mlと濃度依存的に細胞障害活性の上昇が認められ, HMST-1濃度3 $\mu$ g/mlにおけるCDC活性は41.9%(補体希釈倍率6倍)と最大を示し, 30, 300 $\mu$ g/mlの濃度ではCDC活性は横ばいからやや低下が認められた。また, 補体濃度3倍希釈の場合, 0.3~300 $\mu$ g/mlまでほぼ濃度依存性に%

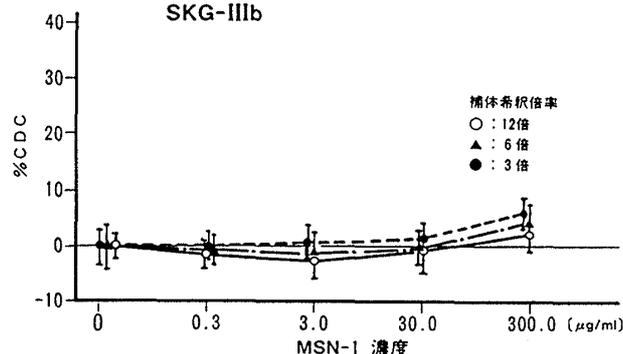
(図 1 a) MSN-1 against SNG-II



(図 1 b) HMST-1 against SNG-II



(図 1 c) MSN-1 against SKG-IIIb



(図 1 d) HMST-1 against SKG-IIIb

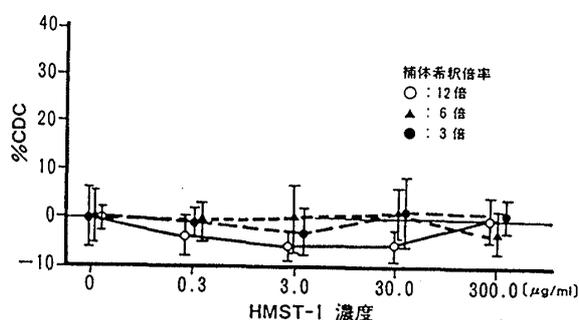


図1 モノクローナル抗体 MSN-1, および HMST-1の婦人科悪性腫瘍由来細胞株に対する補体依存性細胞障害作用 (CDC)

CDCの増加が認められた。MSN-1, および HMST-1と免疫細胞化学的に反応性のない SKG-IIIb 細胞に対しては有意な CDC 活性が認められなかつた(図 1c, d)。なお, SR は30%以下にとどまつた。

### 2) PBL 単独の標的細胞への細胞障害作用

K-562細胞, および SNG-II 細胞, SKG-IIIb 細胞に対する健常人 PBL の細胞障害作用を検討した。結果を図 2 に示す。K-562細胞が E/T r. 40の時に45.1%の細胞障害活性を示すのに対し, SNG-II は E/T r. 40の時に8.8%, SKG-IIIb に対してはいずれの E/T r. 10~40の場合でも1.8~2.5%にとどまり, PBL 単独では SNG-II に対しわずかに 9%程度, SKG-IIIb に対しては, E/T r. 40, 4時間の培養の条件ではほとんど有意な細胞障害作用を示さないことが判明した。

3) Mo-Ab (MSN-1, HMST-1) による ADCC 活性, および抗体単独の標的細胞への細胞障害作用

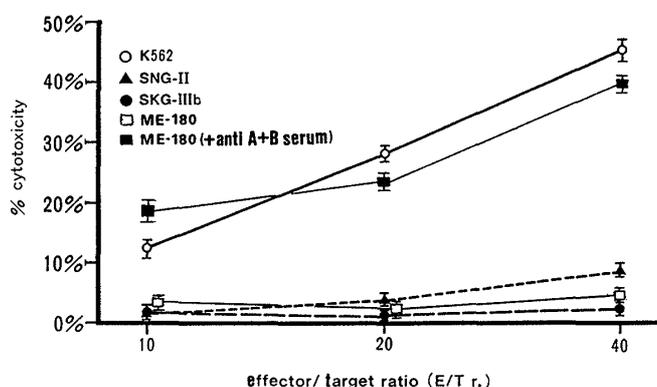


図2 ヒト末梢血リンパ球 (PBL) の各培養細胞株に対する細胞障害作用

Mo-Ab (MSN-1, および HMST-1) の SNG-II 細胞に対する ADCC 活性は抗体濃度0.001~100 µg/ml, E/T r. 40, 4時間の培養の条件でも有意な ADCC 活性は認められなかつた。また, 両抗体の SKG-IIIb に対する ADCC 活性を同条件にて検討したが, やはり有意な ADCC 活性は認められなかつた。また, さらに抗体単独では両抗体とも

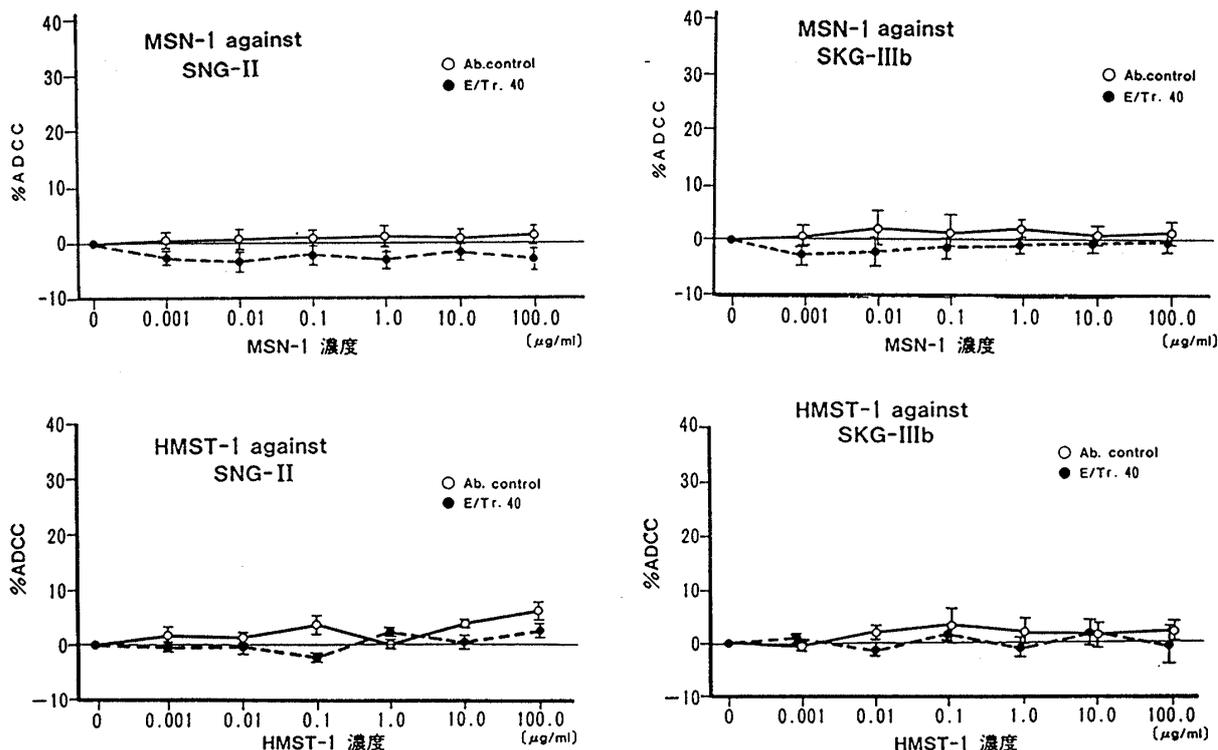


図3 モノクローナル抗体 MSN-1, および HMST-1 の婦人科悪性腫瘍由来細胞株に対する抗体依存性細胞介在性細胞障害作用 (ADCC)

表1 モノクローナル抗体 MSN-1, および HMST-1 の婦人科悪性腫瘍細胞株に対する細胞障害作用

細胞株 (Cell-line)	%CDC		%ADCC	
	MSN-1	HMST-1	MSN-1	HMST-1
SNG-II	38.4±4.2	41.9±4.8	-1.3±1.8	2.5±0.7
SKG-IIIb	2.4±2.2	1.6±5.0	-0.2±2.4	2.1±2.0

上記条件では両細胞株に対し有意な細胞障害作用を示さなかつた (図3)。以上 Mo-Ab (MSN-1, および HMST-1) の各々の SNG-II 細胞, および SKG-IIIb 細胞に対する免疫細胞化学的反応性と, CDC 活性, および ADCC 活性の最大値を表1にまとめて記した。

### 考 察

Köhler et al.<sup>11)</sup>による Mo-Ab の作製の報告以来, さまざまな癌組織と反応する Mo-Ab が作製されてきているが, 治療にはほとんど用いられていないのが現状であり, また, Mo-Ab の抗腫瘍効果に対する評価もいまだ十分なものではない。Mo-Ab の治療への応用の最初の報告例は Bernstein et al.<sup>5)</sup>のマウス白血病移植腫瘍に対する

Thy-1.1抗体の in vivo における効果に始まりリンパ腫<sup>25)</sup>, 悪性黒色腫<sup>8)19)</sup>, 消化器癌<sup>12)20)</sup>等で phase I study が行われている。Mo-Ab に限らず抗体の抗腫瘍効果の作用機序としては, 諸家の報告により, 1) CDC によるもの<sup>17)23)</sup>, 2) ADCC によるもの<sup>24)</sup>, 3) ADMC (Antibody dependent macrophage-mediated cytotoxicity: 抗体依存性マクロファージ介在性細胞障害)によるもの<sup>20)</sup>, 4) 抗イデオタイプ抗体の産生あるいは免疫担当細胞群の抗腫瘍効果<sup>7)</sup>などが考えられている。そこで今回, 筆者らは子宮体癌に対する Mo-Ab の治療への応用を試みるにあたり, その in vitro における基礎的アプローチとして子宮体癌株 SNG-II 細胞と免疫細胞化学的に反応性を有し, 糖鎖抗原を認識するマウス型 Mo-Ab: MSN-1, およびヒト型 Mo-Ab: HMST-1を用いて, その in vitro における CDC, ならびに ADCC 活性を検討した。補体依存性細胞障害は細胞膜に抗体が作用して補体成分が活性化されて, 細胞膜や赤血球膜など細胞膜に障害を与える反応であり, 癌細胞についても in vitro で抗体と補体の作用で破壊され

ることは以前より報告されている<sup>17)23)24)</sup>。今回用いた Mo-Ab である MSN-1, および HMST-1 は子宮体癌と免疫組織化学的に高率に反応を示し、いずれも糖鎖を認識する subclass が IgM の Mo-Ab である。今回のわれわれの実験でも免疫細胞化学的に標的細胞との反応性が証明されている SNG-II 細胞に対し MSN-1, HMST-1 の両方の抗体とも、共に有意な CDC 活性を有していたことが判明し、今回用いた Mo-Ab が二種とも、subclass が補体結合能を有する IgM であることから諸家の報告と一致した結果<sup>17)24)</sup>が得られた。最大の<sup>51</sup>Cr 遊離を示す抗体濃度は、やや補体の力価に左右されるようであるが、ほぼ MSN-1 では 30~300 $\mu$ g/ml, HMST-1 では 3~300 $\mu$ g/ml の抗体濃度が必要である。補体希釈倍率が比較的低い 6 倍、ならびに 12 倍では、抗体濃度 30 $\mu$ g/ml まで抗体濃度依存性に CDC 活性の増加が認められたのは補体活性経路のうち classical pathway がより有効に活性化されているためと思われた。またこの時、抗体濃度が MSN-1 の場合 300 $\mu$ g/ml, HMST-1 の場合 30~300 $\mu$ g/ml と比較的高濃度の場合において CDC 活性の下降が認められたのは遊離抗体の増加のため、補体が有効に活性化されなかつたことが考えられる。同一補体を用いて、同時に MSN-1 と HMST-1 の SNG-II に対する CDC 活性を検討した際、最大<sup>51</sup>Cr 遊離に達する抗体濃度は前者より後者のほうがほぼ 1/10 程度低いものであつた。すなわち、抗体としての CDC 活性は HMST-1 のほうが強いことが示唆された。Seto et al.<sup>19)</sup> の Winn assay を用いた in vivo における検討では CDC については、補体結合性抗体である  $\mu$  抗体 (IgM),  $\gamma$ 3 抗体 (IgG3) に抗腫瘍効果がなく、また補体結合能のない  $\gamma$ 1 抗体 (IgG1) に抗腫瘍活性が認められることにより in vivo における抗腫瘍効果の作用機序に CDC の関与は示唆されないとしている。しかし、IgM の細胞障害作用を評価するうえで CDC 活性を無視できないとする報告<sup>17)</sup>は多くみられるところである。さらに、最近作成されてきている糖鎖を認識する Mo-Ab には subclass が IgM のものが比較的認められる<sup>14)15)22)</sup> ことなどから、免疫組織化学的、もしくは

免疫細胞化学的に糖鎖を認識する IgM 抗体の細胞障害作用を CDC にて評価することは、Mo-Ab の臨床応用を考えるうえで、重要な意義を有すると考えられる。次に ADCC に関してであるが、ADCC の in vitro における抗腫瘍効果を判定するうえでの条件として効果細胞の問題、および効果細胞/標的細胞比 (effector/target ratio: E/T r.) の問題、ならびに抗体濃度の問題、抗体の class, および subclass の問題が考えられる。まず ADCC 活性を評価するにあたり、PBL の非付着細胞中には非感作の状態でも単独にて細胞障害作用を有する NK cell が含まれている。そのため effector cell 単独での標的細胞 (SNG-II, SKG-IIIb) に対する細胞障害作用を検討した結果、E/T r. 40, 4 時間培養した時点での SNG-II, および SKG-IIIb 細胞に対しては細胞障害作用がほとんど認められず、両細胞株は NK 非感受性株であることが示唆された。また、同条件にて、血液型物質を表現する ME-180 細胞<sup>21)</sup> を標的細胞として抗 A+B 血清の ADCC 活性を検討した結果、40% 前後の有意な ADCC 活性が認められ (図 2), 諸家の報告と比較して E/T r. がやや少ないが、今回用いた effector cell は十分な ADCC を有しており E/T r. 40, 4 時間培養の条件で妥当なものであると考えられる。また、抗体濃度との問題においても、Christiansen et al.<sup>6)</sup> の報告と同様、今回のわれわれの行った実験での抗体濃度 (0.001~100 $\mu$ g/ml) は ADCC 活性を検出し得る範囲と考えられた。また、一般に、Mo-Ab の subclass で ADCC 活性を有するものは IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 であり、IgM は ADCC 活性を有さない<sup>10)19)</sup>とされている。今回用いた Mo-Ab である MSN-1, HMST-1 は共に subclass が IgM であつたため、諸家の報告と同様に ADCC 活性を認めなかつた。しかし一方ではマウスの T リンパ球中に Fc  $\mu$  receptor 陽性 T cell の存在から、IgM 抗体の場合でも effector cell を前培養しておく、ADCC 反応を起こしやすい<sup>3)</sup>との報告もあり、今後、effector cell の培養条件や付着細胞 (adherent cell) の ADCC 活性もさらに検討を加えて、検討していきたいと考えている。

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜った畑 俊夫教授に深謝致しますとともに多々御指導を頂きました慶應義塾大学産婦人科学教室飯塚理八教授、さらに御援助を賜った教室諸兄の方々と慶應義塾大学婦人科病理学研究室の皆様様に心よりの感謝を捧げます。また御協力を頂いた三菱油化(株)大隅一興氏に感謝致します。

本論文の一部は、第41回日本産科婦人科学会学術講演会、第29回日本臨床細胞学会、第47回日本癌学会、第6回ヒト細胞研究会において発表した。

#### 文 献

1. 松本美富士, 高野浩一, 若園清行: ヒトの Natural Killer (NK) 活性の測定. 免疫実験操作法 IX, 2783, 1980.
2. 大沢仲昭: 腫瘍選択性制癌剤の臨床. 日内会誌, 77: 313, 1988.
3. Anderson, B., Skoglund, A. and Rosen, A.: Functional characterization of mouse T lymphocytes with IgM-Fc receptors. I. Studies on ADCC and helper cell function. J. Immunol., 123: 1936, 1979.
4. Bast, R.C. Jr., Feeney, M., Lazarus, H., Nadler, L.M., Colvin, R.B. and Knapp, R.C.: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. J. Clin. Invest., 68: 1331, 1981.
5. Bernstein, I.D., Tam, M.R. and Nowinski, R. C.: Mouse leukemia: Therapy with monoclonal antibodies against a thymus differentiation antigen. Science, 207: 68, 1980.
6. Christiaansen, J.E. and Sears, D.W.: Usually efficient tumor cell lysis by human effectors of antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by monoclonal antibodies. Cancer Res., 44: 3712, 1984.
7. Herlyn, D., Ross, A.H. and Koprowski, H.: Anti-idiotypic antibodies bear the internal image of a human tumor antigen. Science, 232: 100, 1986.
8. Houghton, A.N., Mintzer, D., Cordon-Cardo, C., Welt, S., Fliegel, B., Vadhan, S., Carswell, E., Melamed, M.R., Oettgen, H.F. and Old, L.J.: Mouse monoclonal IgG3 antibody detecting G<sub>D3</sub> ganglioside: A phase I trial in patients with malignant melanoma. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82: 1242, 1985.
9. Iwamori, M., Sakayori, M., Nozawa, S., Yamamoto, T., Yago, M., Noguchi, M. and Nagai, Y.: Monoclonal antibody-defined antigen of human uterine endometrial carcinoma is Le<sup>b</sup>. J. Biochem., 105: 718, 1989.
10. Kipps, T.J., Parham, P., Punt, J. and Herzenberg, L.A.: Importance of immunoglobulin isotype in human antibody-dependent, cell-mediated cytotoxicity directed by murine monoclonal antibodies. J. Exp. Med., 161: 1, 1985.
11. Köhler, G. and Milstein, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature, 256: 495, 1975.
12. Koprowski, H., Herlyn, D., Lubeck, M., De-Freitas, E. and Sears, H.F.: Human anti-idiotypic antibodies in cancer patients: Is the modulation of the immune response beneficial for the patient? Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81: 216, 1984.
13. Koprowski, H., Steplewski, Z., Mitchell, K., Herlyn, M., Herlyn, D. and Fuhrer, P.: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. Somat. Cell Genet., 5: 957, 1979.
14. Nozawa, S., Narisawa, S., Kojima, K., Sakayori, M., Iizuka, R., Yamauchi, T., Iwamori, M. and Nagai, Y.: A human monoclonal antibody (HMST-1) against lacto-series type I chain and expression of the chain in uterine endometrial cancers. Cancer Res., 49: 6901, 1989.
15. Nozawa, S., Sakayori, M., Ohta, K., Iizuka, R., Mochizuki, H., Soma, M., Fujimoto, J., Hata, J., Iwamori, M. and Nagai, Y.: A monoclonal antibody (MSN-1) against a newly established uterine endometrial cancer cell-line (SNG-II) and its application to immunohistochemistry and flowcytometry. Am. J. Obstet. Gynecol., 161: 1079, 1989.
16. Nozawa, S., Udagawa, Y., Ohta, H., Kurihara, S. and Fishman, W.H.: Newly established uterine cervical cancer cell line (SKG-III) with regan isoenzyme, human chorionic gonadotropin  $\beta$ -subunit, and pregnancy-specific  $\beta$ 1-glycoprotein phenotypes. Cancer Res., 43: 1748, 1983.
17. Ohanian, S.H. and Borsos, T.: Lysis of tumor cells by antibody and complement. II. Lack of correlation between amount of C4 and C3 fixed and cell lysis. J. Immunol., 114: 1292, 1975.
18. Saijo, N., Shimizu, E., Irimajiri, N., Ozaki, A., Kimura, K., Takizawa, T. and Niitani, H.: Analysis of natural killer activity and antibody-dependent cellular cytotoxicity in healthy volunteers and in patients with primary lung cancer and metastatic pulmonary tumors. J. Cancer Res. Clin. Oncol., 102: 195,

- 1982.
19. *Seto, M., Takahashi, T., Nakamura, S., Matsudaira, Y. and Nishizuka, Y.*: In vivo antitumor effects of monoclonal antibodies with different immunoglobulin classes. *Cancer Res.*, 43 : 4768, 1983.
  20. *Steplewski, Z., Lubeck, M.D. and Koprowski, H.*: Human macrophages armed with murine immunoglobulin G2a antibodies to tumors destroy human cancer cells. *Science*, 221 : 865, 1983.
  21. *Sykes, J.A., Whitescarver, J., Jernstrom, P., Nolan, J.F. and Byatt, P.*: Some properties of a new epithelial cell line of human origin. *J. Nat. Cancer Inst.*, 45 : 107, 1970.
  22. *Tsuji, Y., Yoshioka, M., Ogasawara, T., Takemura, T. and Isojima, S.*: Identification of an H antigen-like blood group antigen in sera of cancer patients using a novel monoclonal antibody raised against endometrial carcinoma. *Cancer Res.*, 47 : 3543, 1987.
  23. *Wood, W.C. and Morton, D.L.*: Microcytotoxicity test: Detection in sarcoma patients of antibody cytotoxic to human sarcoma cells. *Science*, 170 : 1318, 1970.
  24. *Wright, P.W. and Bernstein, I.D.*: Serotherapy of malignant disease. *Prog. Exp. Tumor Res.*, 25 : 140, 1980.
  25. *Young, W.W. Jr. and Hakomori, S.*: Therapy of mouse lymphoma with monoclonal antibodies to glycolipid: Selection of low antigenic variants in vivo. *Science*, 211 : 487, 1981.

(No. 6773 平2・3・20受付)