

研究速報

放射性同位元素で本標識した抗腫瘍抗体による 腫瘍の診断と治療の開発 (第2報)

標識抗ヒト α -fetoprotein 抗体のヒト肝癌培養細胞への結合

九州大学医学部放射線科学教室

楨 殿 玲 子 渡 辺 克 司

寺 島 広 美 松 浦 啓 一

九州大学医学部細菌学教室

野 本 亀久雄 武 谷 健 二

九州大学薬学部放射薬品化学教室

河 野 彬

(昭和48年3月14日受付)

^{131}I -labelled Tumor-Specific Antibodies: A Trials to Concentrate
Radioisotopes Specifically in the Tumor:

II The Binding of ^{131}I -labelled Anti-Human Alpha-fetoprotein
Antibody to the Cultured Human Hepatoma Cells.

by

Reiko Makidono*, Kikuo Nomoto**, Hiromi Terashima*, Akira Kono***

Katsuji Watanabe*, Kenzi Takeya** and Keiichi Matsuura*

Research Code No.:

Key Words: Tumor diagnosis and therapy, ^{131}I -labelled antibody

The specific binding of ^{131}I -labelled anti-human alpha-fetoprotein antibody to human hepatoma cells was tested. The hepatoma cells from primary culture were incubated one hour with ^{131}I -labelled antibody to human alpha-fetoprotein. The binding was examined by microradioautography. The grains were found on the surface of the tumor cells, but not on the lymphocytes (Figs. 1, 2).

This results is in agreement with our preliminary results that radioisotope was concentrated specifically on the mouse hepatoma cell by labelling with anti-tumor antibody (Ref. 3).

*Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyushu University

**Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, Kyushu University

***Department of Radiopharmacology, Faculty of Pharmaceutical Science, Kyushu University

I はじめに

α -fetoprotein は哺乳類の胎生初期に高濃度に検出される血清蛋白であるが、生後急激に減少し、一般の方法では検出されない程度となる。一方、肝癌、再生肝、妊娠中などでは、 α -fetoprotein の合成が再びあらわれることが知られている¹⁾⁶⁾。とくに、肝癌患者の血清中に α -fetoprotein が検出されることが多く、肝癌の診断法として利用されている²⁾⁵⁾。

一方、われわれは C 3 H マウス—肝癌 MH 134 の組み合わせにおいて、放射性同位元素で標識した抗 MH 134 抗体を用い、MH 134 培養細胞表面に標識抗体が結合し、48 時間以上結合した状態が持続することをマイクロラジオオートグラフィーで確認し、さらに標識抗体を担癌マウスに静注し、腫瘍部位に標識抗体が特異的に集まることをマクロラジオオートグラフィーおよびシンチグラフィーで確認し、第一報として報告した³⁾。これらの成績は、標識抗体を用いて、腫瘍の存在をより正確に診断しうる可能性を示しているので、本報ではヒト肝癌の診断法の開発の第 1 歩として、標識ウサギ抗ヒト α -fetoprotein 抗体を用い、標識抗体が結合したヒト肝癌初代培養細胞をマイクロラジオオートグラフィーで検出しうるか否かを明らかにすることを目的とした。

II 材料並びに方法

(1) ヒト精製 α -fetoprotein (ダイナボット社提供。⁴⁾)

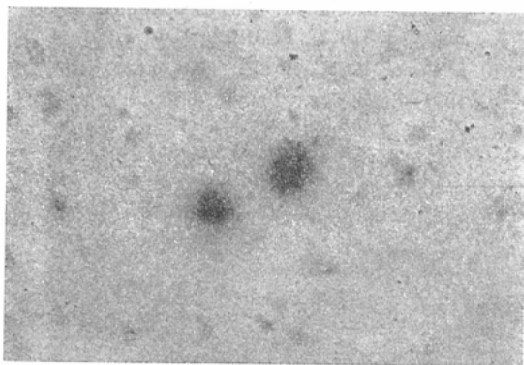


Fig. 1*. Microradioautograph of human hepatoma cells (100 $\times$).

(2) ウサギ抗ヒト α -fetoprotein 抗体の精製並びに ^{131}I -標識法⁵⁾; α -fetoprotein を抗原とし、第 1 報に述べた方法にしたがい、免疫、IgG 精製、ヨウ素標識を行つた。ヒト α -fetoprotein (2 μg) をフロイント完全アジュバントにまぜてウサギを免疫し、1 カ月後に生食水にとかした α -fetoprotein (4 μg) を 1 週間間隔 7 回腹腔に投与し、追加免疫をした。

硫酸 33% 飽和沈澱法により IgG を分離し、ヒトの凝集させた血漿で吸収後、さらに DEAE セルローズクロマトグラフィーにより IgG を精製した。精製 IgG 抗体をクロラミン T 法により Na^{131}I で標識し、イオン交換樹脂および透析により遊離の放射性ヨウ素を除去した。

(3) 肝癌細胞; 肝癌患者 (55 才, 男) の手術時 (S 47 $\cdot$ 6 $\cdot$ 22) の新鮮切除標本より無菌的に分離した。病理組織学的に肝癌であることが確かめられた。癌細胞は 0.25% トリプシン処理により細胞浮遊液とし、M199 中に培養した。初代培養のものを実験に使用した。

(4) ミクロラジオオートグラフィー; 肝癌細胞 1×10^6 個に標識抗体を 3 μCi の割に加え、 CO_2 培養器 (5% CO_2 , 95% air) で 1 時間培養し、充分量のハンクス液で 3 回洗つて後、マイクロラジオオートグラムを作製した。乳剤は Sakura, NR-H2, dipping 型) を使用した露出期間 14 日とした。

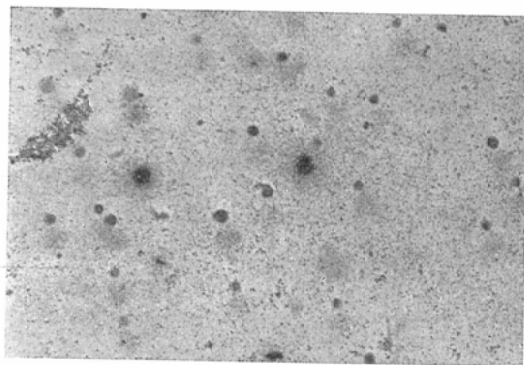


Fig. 2*. Microradioautograph of human hepatoma cells with contaminated lymphocytes (400 $\times$).

*Microradioautographs were prepared after one hour incubation with ^{131}I -labelled anti-human α -fetoprotein antibody.

ギムザ染色により後染色を行つた (Figs. 1, 2).

III 結 果

(1) 免疫電気泳動法によるウサギ抗ヒト α -fetoprotein 抗体 (IgG) の特異性: ヤギ抗ウサギ IgG 抗体並びにヤギ抗ウサギ血清抗体により, 抗ヒト α -fetoprotein 抗体を含む分画は, 純粋に分離されたウサギ IgG 分画にあることを確かめた. 又精製ヒト α -fetoprotein 抗原並びに正常ヒト血清により, 精製抗体は正常ヒト血清蛋白成分に対する抗体は含まず, ヒトの α -fetoprotein に対する抗体のみを高濃度を含むことを確かめた.

(2) 標識抗ヒト α -fetoprotein 抗体の性状: オクテルローニー法により標識後も抗ヒト α -fetoprotein 抗体は, IgG としての抗原性を保ち変性していないことを確かめた.

(3) 肝癌患者から得られた癌細胞と ^{131}I -標識抗 α -fetoprotein 抗体を1時間培養し, ミクロラジオオートグラフィーを行つた. 肝癌細胞にのみ著明なグレインの集積がみられた (Figs. 1, 2).

混在した末梢リンパ球には, グレインは認められず, ^{131}I 標識抗 α -fetoprotein 抗体の肝癌細胞への結合は選択的であることが示された (Fig. 2).

IV 考 按

以上の成績より ^{131}I -標識抗ヒト α -fetoprotein 抗体は, ヒトの肝癌細胞のみに特異的に結合することが確認された. すなわち, 抗 α -fetoprotein 抗体が生体内でも放射性同位元素を腫瘍部位に効率よく集め, 診断および治療にこの方法を利用する可能性を示唆した.

本実験の例では, 病理学的に肝癌であることが確認されているにもかかわらず, 血清中には α -fetoprotein はほとんど検出されなかつた. 肝癌細胞

レベルでは標識抗体の結合が十分な強さで検出されたため, 肝癌細胞レベルでの標識抗体による検出法は血清中の α -fetoprotein の検出よりも, より正確な診断法として利用しうる可能性が示されている.

ヒトの生体内で用いるには, 1) 異種蛋白 (標識抗体) の投与によつて過敏症が成立する可能性, 2) 血清中に放出されている抗原 (α -fetoprotein) と投与された標識抗体との結合によつて肝癌細胞への到達をしば断される可能性など多くの解決されるべき問題点が残されているが, これ等を解決しつつ, 臨床応用への可能性を開発するに価するものと考ええる.

われわれは, ヒト肝癌の症例を蓄積し, 血清中の α -fetoprotein の濃度と肝癌細胞レベルでの検出率との関係を明らかにすることを試みている. さらに, 比放射能の高い標識抗体によつて肝癌細胞を特異的に抑制する方法の開発も試みている.

(この研究は文部省科学研究がん特別研究費の1部で行っている.)

文 献

- 1) Abelev, G.I.: Advances in Cancer Res. 14 (1971), P. 295—358.
- 2) 平井秀松他: 日本合同癌会議シンポジウム記録 (1970), p. P 48—52.
- 3) 榎殿玲子他: Nippon Acta Radiologica 32 (1972), 412—424.
- 4) Nishi, S.: Cancer Res. 30 (1970), 2507—2513.
- 5) Nishi, S. et al.: Proceedings of the Japanese Cancer Association; The 31st Annual Meeting. Oct. (1972), P. 312.
- 6) O'Connor, G.T. et al.: Cancer 25 (1970), 1091—1098.