

ども、腫瘍マーカーが探し得る細胞群と、extracellular matrix, 例えば fibronectin です。そういうものとの相関性があったでしょうか。なかったでしょうか。

伊藤 まだ、そういうものと combine してはやっていません。これからの問題です。

追手 はい、どうも有難うございました。

司会 他にいかがでしょうか。例えば Histiocytosis X という病気は、ランゲルハンス顆粒に対するモノクローナル抗体を用いて診断を確定してよろしいのでしょうか。

伊藤 今は、OKT 6 で今回示しました症例のように明らかなものはそう言えます。しかし、Histiocytosis X でなくても OKT 6 で陽性の細胞がパラパラ出たりするので、真皮に単に陽性細胞があっても Histiocytosis X だとは言えません。

司会 総合判断の一助という事になりますかね。

伊藤 なると思います。それからランゲルハンス顆粒を染めるモノクローナル抗体は、つい先日の5月アメリカの SID という学会で発表になったばかりですが、い

ずれ有力な抗体となるかもしれません。

司会 そうですか。それからもう一つ、NCI ですね。この index が病気の進展度と関係があるというのですか。

伊藤 はい。汎 T cell モノクローナル抗体により染色して、その陽性細胞百個ぐらい電顕で観察しまして、その NCI を測ると病後期程その値が高くなるというデータがあります。

司会 分子がどっちでしたか。核周の長さでしたか。

伊藤 いいえ、核の面積のルートの方です。

司会 それが分子でしたか。これはどういう事を意味している訳ですか。

伊藤 核の切れ込み具合でそれを数値化したものです。

司会 なるほど。有難うございました。他にございませんか。それでは大分時間が遅れておりますので、次へ移らせていただきます。産婦人科領域での応用を産婦人科の渡辺先生お願いします。

5) 産婦人科領域におけるモノクローナル抗体の臨床応用

産科婦人科学教室 渡辺 重博・本間 滋
湯沢 秀夫・金沢 浩二
竹内 正七

モノクローナル抗体作製の技術が確立されて以来、その高い特異性と安定して多量に得られるという利点のため、今や免疫学的手法に必須のものとなっている。産婦人科領域においても、生殖免疫学をはじめ、内分泌学、腫瘍病理免疫学の各分野で、基礎的研究や臨床に広く導入され、従来の方法によるデータの再確認や新しい知見が得られつつある。

本稿では、そのなかでも臨床応用されている腫瘍マーカー CA 125、及び当教室で試みられている絨毛癌に対するモノクローナル抗体作製の試みについて述べる。

卵巣腫瘍マーカーへの応用

卵巣癌は婦人科悪性腫瘍のなかでも、早期発見され難く、子宮癌に比して予後は不良である。その理由は卵巣が触診の困難な位置にあり、症状が現われにくいためである。現在のところ York sac tumor では alpha fetoprotein が有用なマーカーとして用いられているが、臨

床上で遭遇することの多い上皮性卵巣腫瘍に対するマーカーが望まれていた。

CA 125 は、Bast ら¹⁾により報告された腫瘍関連抗原であり、卵巣癌培養細胞株 OVCA 433 をマウスに免疫して作製したモノクローナル抗体が認識する分子量11万の糖蛋白である。免疫組織学的検索では、卵巣上皮性腫瘍のうち、漿液性、類内膜、明細胞、分類不能型と反応するが、ムチン性腫瘍と正常卵巣には反応しないと報告されている¹⁾。また胎児の卵管内膜上皮と反応することや、成人でも弱く反応性が認められることから²⁾、CA 125 はミューラー管に関連した分化抗原の1つであると考えられる。

当教室でも CA 125 に対するモノクローナル抗体と卵巣癌の反応性を酵素抗体法で検討したところ、細胞表面に局在していることを確認した。

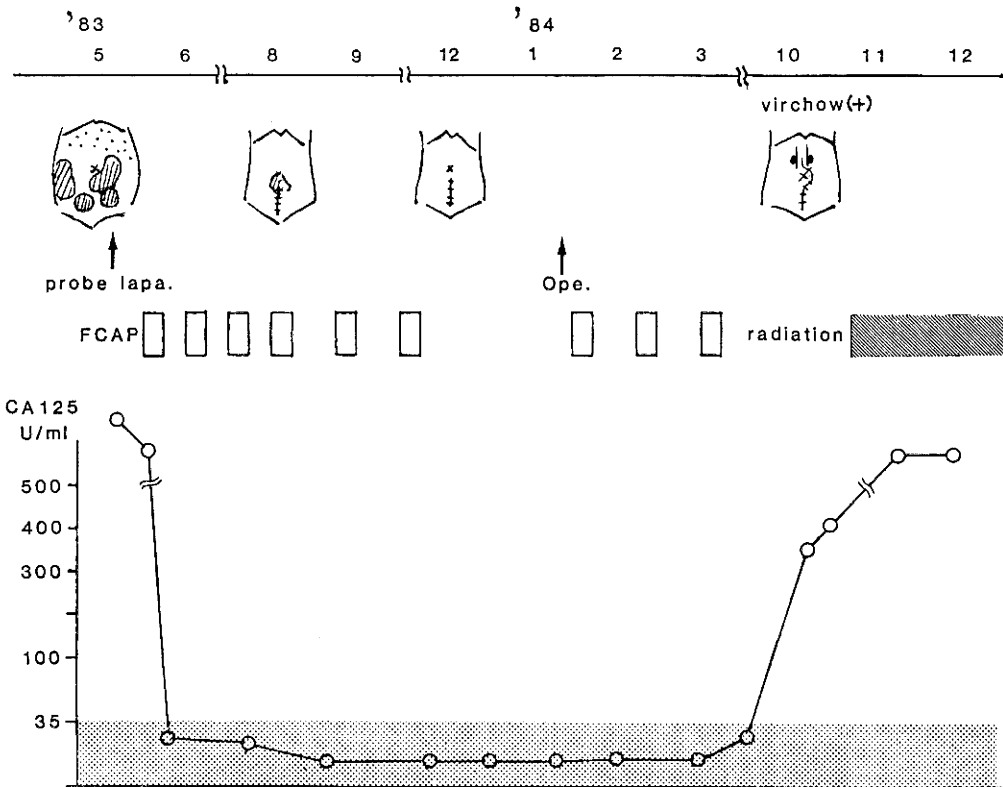
この CA 125 は患者血中に遊離しやすく、ラジオイムノアッセイによって検出されることが明らかになって

表 1 CA-125 の陽性率

	症例数	陽性率	
		>35U/ml	>65U/ml
		数 (%)	
健常者	888	9(1.0)	2(0.2)
男性	537	4(0.7)	2(0.4)
女性	351	5(1.4)	0(0.0)
良性疾病	143	9(6.3)	3(2.1)
婦人科癌	200	57(28.5)	44(22.0)
脾臓癌	29	17(58.6)	13(44.8)
肺癌	25	8(32.0)	6(24.0)
乳癌	25	3(12.0)	2(8.0)
結腸癌	71	16(22.5)	12(16.9)
消化器癌	30	8(26.7)	6(20.0)
非消化器癌	20	5(25.0)	5(25.0)
卵巣癌	101	83(82.2)	75(74.3)

表 2 産婦人科における CA-125 測定成績

		35U/ml 以上
健常婦人	35 例	0
卵巣良性腫瘍	8 例	1(12.5%)
卵巣癌	18 例	15(83.3%)
治療前		
漿液性のう胞腺癌	9/9	
ムチン性のう胞腺癌	0/3	
漿中腎腺癌	4/4	
分類不能癌	2/2	
治療後	12 例	0
子宮頸癌	16 例	4(25%)
子宮内膜癌	12 例	2(16.6%)
卵管癌	1 例	0
子宮内膜症	6 例	0
子宮筋腫	4 例	0
妊娠初期	15 例	5(33.3%)



FCAP : 5-FU,CPA,ADM,CDDP

いる⁹⁾。それによると、至適 cut off 値を 35~65U/ml に設定することで、表1のごとく卵巣癌では80%以上の陽性率で、健康人では1%前後、良性疾患では平均6%の偽陽性率が観察された。他科の癌では平均30%陽性で、特に脾、胆管系の腫瘍で陽性例が多いとされている。

当科における検討成績を表2に示した⁹⁾。cut off 値を 35U/ml 設定したところ、健常婦人35例に陽性者はなく、卵巣癌18例ではムチン性をのぞく15例すべて陽性であった。治療により cancer free と判断される12例はいずれも陰性化が観察された。良性卵巣腫瘍では、漿液性のう胞腺腫の1例が 62U/ml であった。子宮頸癌、子宮内膜癌では、それぞれ25%、10%の陽性率が得られている。興味あることに、妊娠初期妊婦で33%が陽性であり、phase specific な分化抗原 CA 125 が胎盤を通過して検出されているのではないかと推察される。

図1に卵巣癌(漿液性腺癌) stage III の症例の臨床経過を示す。試験開腹により組織型と進行期を確認したのち、化学療法を行ったところ良好な効果がみられた。そこで再開腹し、内性器、所属リンパ節、大網切除を施行して、組織的には壊死性病巣を認めたのみであった。さらに化学療法を追加して経過を観察していた。この間 CA 125 値は急速に下降し陰性化していたが、約10ヶ月後に鎖骨上リンパ節腫大があり、組織学的にも再燃と診断された。これと前後して CA 125 値も再上昇しており、臨床経過を反映するものであると思われる。現在も症例を重ね検討しているが、腫瘍診断、病態の把握に用いることができると考えられる。

絨毛癌に対するモノクローナル抗体作製の試み

腫瘍に対するモノクローナル抗体の応用には、前述した腫瘍マーカーの測定に用いることのほか、最近注目されているのが特異的免疫療法である。投与するモノクローナル抗体や、対応する抗原の側にもまだ解決すべき問題があるため、実際に我国では行なわれていないが、疾患によっては欧米で試みられている。教室でも将来臨床に導入すべく、その準備段階として、絨毛癌に対するモノクローナル抗体の作製を行った⁵⁾。

方法であるが、教室で樹立したヒト絨毛癌培養細胞株 GCH-1 を Balb/C マウスに免疫し、その脾細胞とマウスミエローマ X 63-Ag 8.653 をポリエチレングリコールの存在下で融合させ、Hybridoma を作製する。次に Hybridoma の培養上清を一次抗体として、各種

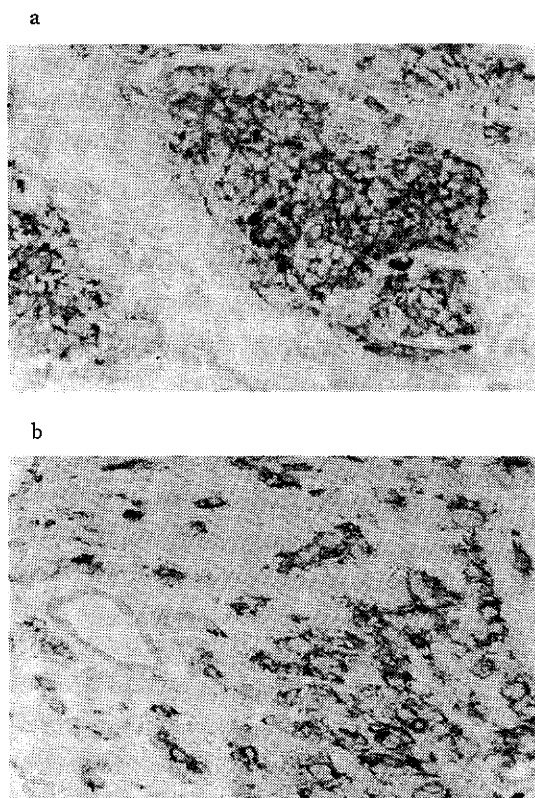


図2 モノクローナル抗体 NOG-1 の酵素抗体法(新鮮凍結切片)による反応

a: 絨毛癌 b: 妊娠10週着床部

ヒト培養細胞株を標的に蛍光抗体法とラジオイムノアッセイで選別し目的の抗体を産生するクローンを得る。これまでに2種類のクローンを樹立したが、その1つは免疫組織化学的に絨毛癌組織と特異的に反応することを確認した。また正常絨毛細胞のうち、脱落膜から筋層向へかって侵入する Trophoblast と反応が認められた(図2)。

この抗体を臨床に用いることは現段階では検討が不十分であり、不可能であるが、絨毛癌細胞、絨毛細胞を組織レベルで認識するプローブとして使用している。臨床応用するにはヒト型モノクローナル抗体を用いることが理想的であり、教室でもこの方向からも作製の準備をしている。

おわりに

細胞工学の進歩により確立されたモノクローナル抗体は、従来の抗血清の欠点を解決し今や広く普及してい

る。漿液性卵巣腫瘍マーカーとして CA 125 は今後広く臨床に用いられるであろうし、またムチン性腫瘍に対するマーカーも開発されるであろう。これまで理論的にしか考えられなかった癌の特異的免疫療法も、モノクローナル抗体の出現によって急速に具体化されてきた。特異的免疫療法が、本当に治療の効果をもたらすか否か、その解答も近い将来得られると思われる。

参考文献

- 1) Bast, R.C., et al.: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.: J. Clin. Invest., 68: 1331~1337, 1981.
- 2) Kabawat, S.E., et al.: Immunopathologic characterization of monoclonal antibody that recognizes common surface antigens of serous, endometrioid and clear cell types.: Am. J. Clin. Pathol., 79: 98~104, 1983.
- 3) Bast, R.C., et al.: Radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer.: N. Engl. J. Med., 309: 883~887, 1983.
- 4) 竹内正七, 金沢浩二, 湯沢秀夫: CA 125: Immuno Advance, 13: 120~125, 1985.
- 5) 渡辺重博, ら: 絨毛癌及び cytotrophoblast に反応するモノクローナル抗体の作製と特異性の解析: 第37回日産婦総会抄録, 1985.

司会 有難うございました。今のお話は、最初入手された CA 125 という抗体で色々な疾患についての検討をなさって、後段では本学の婦人科でお作りになった絨毛癌に対するモノクローナル抗体での成績を御発表になった訳ですが、早速御討議をお願いいたします。はい、どうぞ。

品田 1H5の方が特異性が高いという事ですが、IgGのクラスはどうですか。

渡辺 申し上げませんでした。オクタロニーで調べました所これらはマウスの IgG 2a です。

司会 他にどうでしょうか。モノクローナル抗体の臨床応用という点で、最も興味もたれるものの一つに、腫瘍抗原に対するモノクローナル抗体というものがあると思いますけれども、初めて今日、そのお話が出てきました。伊藤先生、何かありませんか。

伊藤 皮膚科領域では、マウスのメラノーマに対するモノクローナル抗体の認識する抗原は、細胞表面であれ

ば糖鎖のどういう所とか、いろいろと解析されていますが、先生の抗体はいかがでしょうか。ただ染めているだけでは何もなくなってしまうと思うのですが。

渡辺 モノクローナル抗体を作った作ったと言って、反応するんだと言って喜んでいますが、ただそれは不十分でありまして、その抗体がどのような抗原分子と反応しているのか、確かにそのモノが解からなければ、本当に反応しているのか、non-specificなものなのかわけわかりませんので、それは確認しなければならぬと思います。それからメラノーマとか、Bリンフォーマとか、そういう腫瘍に対するモノクローナル抗体の治療に興味がありまして先日、UCLAの入江先生が、当教室にいらっしゃいまして、具体的にアメリカにおいて、モノクローナル抗体を用いたメラノーマのノール治療のお話を聞きました。すぐに日本で行われるというのは、社会的なシステムが違いますし、難しいかと思いますが、マウスのモノクローナルであっても考えられている程には、サイドエフェクトが余り出ていないという事に、印象深く思いました。スタンフォード大学の Levy が、Bリンフォーマに対してマウスで anti-idiotypic を作製して治療していますが、だからと言ってマウスのモノクローナル抗体でいいんじゃないかと言う事ももちろんできませんけれど、現実としては Human 由来の Immunoglobulin を使ったモノクローナルはまだまだ難しいんじゃないかと思えます。

司会 今、二つの非常に重要な点を仰言ったと思うのですが、一つはモノクローナル抗体を作った作ったと喜んではいられないと。まさにその通りで、その御指摘が一つと、もう一つは異種抗原、異種抗血清ですね。それが人に応用していいのかどうか、これもまた大問題だと思のです。それは置きまして、今日のお話の中で初めて出てきたこの腫瘍抗原、例えば CA-125 などというのは先生は腫瘍抗原とおっしゃったけれども、本当の腫瘍抗原なのか、どうなのですかね。

渡辺 これは胎生期の embryo の developmental antigen です。

司会 そうですね。だから色々な別の癌に出て来ているという事になりますか。はいどうぞ。

永井 第二内科の永井と言いますが、マウスのモノクローナル抗体の臨床応用のもう一つのネックは、アナフィラキシーとか異種血清に対する新たな抗体産生という問題以外に hybridize する際に用いたミエローマの担体であるマウスの起源が例えばレトロウイルスのプロデューサーであった場合、電顕的にレトロウイルスがモ

ノクローナル抗体中に確認されたり、あるいは、リバー
ストランスクリプターゼが証明されたりという報告もある
ようですので、これは結局あとになって、例えば新たな
発癌といった点にも関連しますので、そういう minor
effect もあるという事は、知っておく必要があると思
います。

司会 なかなか日本では難しいと思うのですね。他に
ありませんか。それではこれで終わらせていただきま
す。どうも有難うございました。それでは第6席、造血
器腫瘍の診断と治療を第一内科の青木先生お願いしま
す。なお、第二病理から追加発言がありますので、ま
とめてディスカッションしたいと思います。

6) モノクローナル抗体による白血病の診断

新潟大学第1内科 青木 定夫・小池 正
永井 孝一・柴田 昭
新潟大学輸血部 品田 章二

表1 対象症例

	男	女	計
急性非リンパ性白血病 (ANLL)	17例	11例	28例
急性リンパ性白血病 (ALL)	9例	9例	18例
慢性リンパ性白血病 (CLL)	3例	2例	5例
慢性骨髄性白血病急性転化 (CMLBC)	2例	5例	7例
非ホジキンリンパ腫の白血化 (NHL)	2例	2例	4例
急性巨核芽球性白血病	3例	1例	4例
成人 T 細胞白血病	3例	1例	4例
総 計	39例	31例	70例

(新潟大輸血部 1983. 10~1985. 4)

血液学はモノクローナル抗体 (MoAb) の応用が最も
早く進んだ分野のひとつである。現在では造血器腫瘍の
診断、とりわけ白血病の診断には MoAb による表面形
質の検索は不可欠となっている。それは多くの白血病で
はそのマーカーから推定される血球の分化段階によって
その予後も治療方針も異なることが知られているからで
ある。私達は1983年9月に新潟大学輸血部にフローサイ
トメーター (FCM) オルソ社スペクトラムⅢ (Spect-
rumⅢ, SpⅢ) が導入されて以来、この SpⅢ を用い
て造血器腫瘍の表面形質の解析を行ってきた。今回は
特に白血病に限っての成績を示し、マーカーの臨床的な
意義について述べる。

対象および方法

対象は1983年10月から1985年4月までに新潟大学輸
血部細胞解析室で検索する機会があった各種白血病のう
ち、末梢血に異常細胞が形態学的に50%以上存在した70
例である。その病型を表1に示す。男女比は39対31で、
特に急性非リンパ性白血病で男性例が目立った。方法
は、患者末梢血を EDTA またはヘパリン加で採血し、
その 100μl に適当濃度に希釈した MoAb 5μl を加え
4°C で30分解置した。非標識抗体の場合は、洗浄後ペ
レットに2次抗体として適当濃度に希釈したヤギ FITC
標識抗マウス免疫グロブリン (GAM-FITC, コール
ター社) 5μl を加え 4°C で30分解置した。その後、
lysing reagent (蒸留水 1リットル中に塩化アンモニウ
ム 8.26g, EDTA テトラナトリウム 37mg, 炭酸水素
カリウム 1g を含む) 2ml で室温で15分溶血したあと
洗浄し、PBS (phosphate buffered saline) 2ml に再

解遊し、SpⅢで蛍光抗体陽性率を求めた。使用した
MoAb は OKT 3, OKT 4, OKT 6, OKT 8, OKT 9,
OKT 10, OKT 11, OKM 1 (以上オルソ社), Leu 1,
Leu 7, Leu 8, Leu 9, Leu 10, Leu 11, Leu 12, HLADR,
LeuM 1, LeuM 2, LeuM 3, LeuM 4 (藤沢), B 1,
B 2, J 5, MY 4, MY 7, MY 9, Mo 1 (コールター社),
Human Platelet II (HPL II, カペル社) BA 1, BA 2,
BA 3 (大阪成人病センター 正岡博士より供与) NUN 2
(久留米大学医学部 横山教授より供与) 抗 TAC (京都
大学医学部 内山博士より供与) である。terminal de-
oxynucleotidyl transeferase (TdT) 活性はベセスタリ
サーチ社のキットを用い、間接蛍光抗体法で測定した。

結 果

各白血病の病型ごとのマーカーの成績を以下に示す。