

短 報

好中球特異抗原 NA2 を認識するモノクローナル抗体の作製

谷口 菊代¹⁾⁵⁾ 小林 正夫²⁾ 平岡 朝子³⁾ 谷廣ミサエ³⁾
岡田 浩佑⁴⁾ 高田 昇³⁾ 木原 裕貴⁵⁾ 上田 一博⁵⁾

¹⁾広島医学技術専門学校

²⁾広島大学教育学部幼児保健学科

³⁾広島大学医学部附属病院輸血部

⁴⁾広島大学医学部保健学科

⁵⁾広島大学医学部小児科

(平成 11 年 4 月 2 日受付)

(平成 11 年 6 月 17 日受理)

DEVELOPMENT OF A NOVEL MONOCLONAL ANTIBODY, TAG2,
TO THE NEUTROPHIL-SPECIFIC ANTIGEN NA2

Kikuyo Taniguchi¹⁾⁵⁾, Masao Kobayashi²⁾, Misae Tanihiro³⁾, Asako Hiraoka³⁾,
Kosuke Okada⁴⁾, Noboru Takata³⁾, Hirotaka Kihara⁵⁾ and Kazuhiro Ueda⁵⁾

¹⁾Hiroshima College of Medical Technology, Hatsukaichi, Hiroshima,

²⁾Department of Child Health, Faculty of Education, Hiroshima University School, Higashi-Hiroshima,

³⁾Division of Blood Transfusion,

⁴⁾Institute of Health Sciences,

⁵⁾Department of Pediatrics, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima, Japan.

Key words : neutrophils, FcRIIIb, monoclonal antibody, NA2 antigen, anti-NA2 antibody

はじめに

好中球特異抗原の一つである NA 系抗原は免疫性好中球減少症の標的抗原¹⁾²⁾として重要である。NA 系抗原の同定には抗体を用いた血清学的方法¹⁾と DNA による遺伝学的手法³⁾⁴⁾が利用されているが、前者には特異的抗体が要求される。現在までに NA2 抗原に対する特異抗体は GRM1 が知られているのみである。今回、我々は NA2 に反応性の高いモノクローナル抗体 (MoAb), TAG 2 を作製したので報告する。

材料及び方法

NB1 特異的抗体で感作した NA2/NA2 好中球を免疫に用いた。免疫方法、ハイブリドーマの作製法は、既に報告した方法⁵⁾で行い、抗体産生細胞

株 TAG2 (IgG₁, κ) を樹立した。

TAG2 の細胞との反応性は免疫蛍光法を行い、Flow cytometry (FCM) にて解析した。

TAG2 と NA2 系抗原との関係は、FcRIII 関連の MoAb を用いた抑制試験で検討した。NA1 特異的 TAG1, NA2 特異的 GRM1 (Dr. Federico Garrido, Granada University), FcRIII 特異的 3 G8 (Pharmingen, San Diego, CA) で反応させた NA 系抗原既知の好中球に FITC-labeled TAG2 を反応させて FCM で解析した。上述の反応はすべて on ice 30 分の条件で行った。

結果と考察

NA 系各型パネル好中球に対する TAG2 と、GRM1 との反応性を Fig. 1 に示した。TAG2,

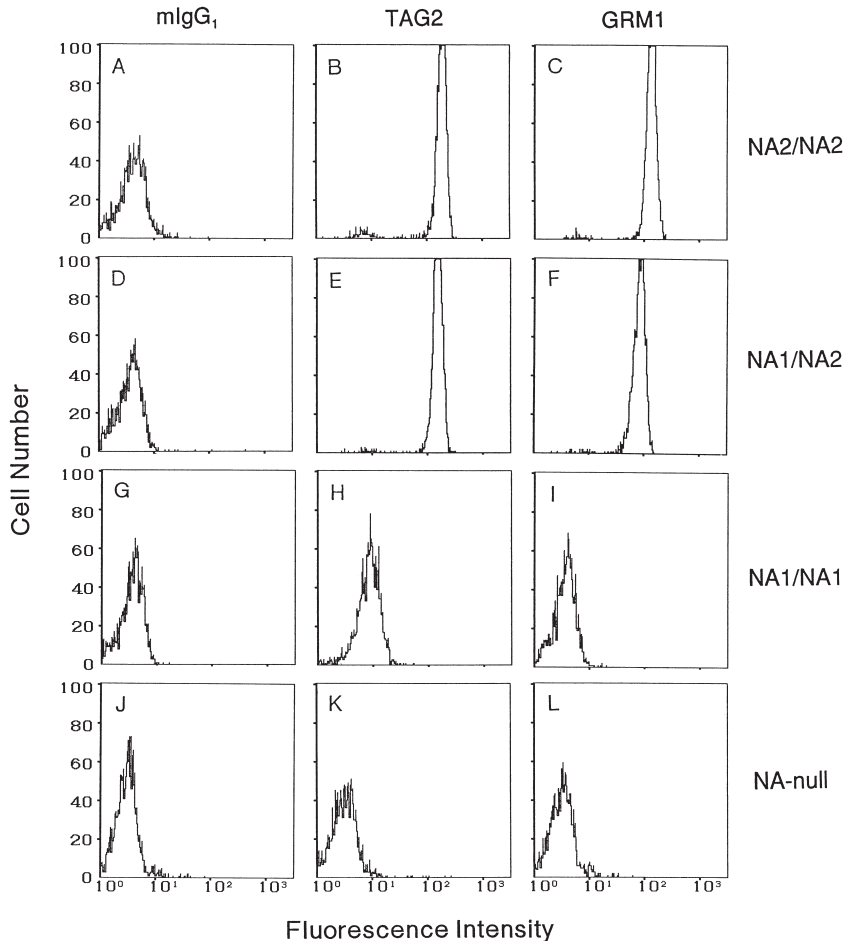


Fig. 1 Flow cytometric analysis of the reactivity of TAG2 and GRM1 with neutrophils.

A, B, C, NA2/NA2 donor ; D, E, F, NA1/NA2 donor ; G, H, I, NA1/NA1 donor ; J, K, L, NA-null donor. A, D, G, J, isotype control (mouse IgG₁).

GRM1 ともに NA2 陽性好中球とは強く反応し、NA1/NA1 好中球、NA-null 好中球との反応とは明らかな差が認められた。NA1/NA1 好中球に対して、TAG2 は弱い反応が認められた点が GRM1 の反応性と異なっていた。

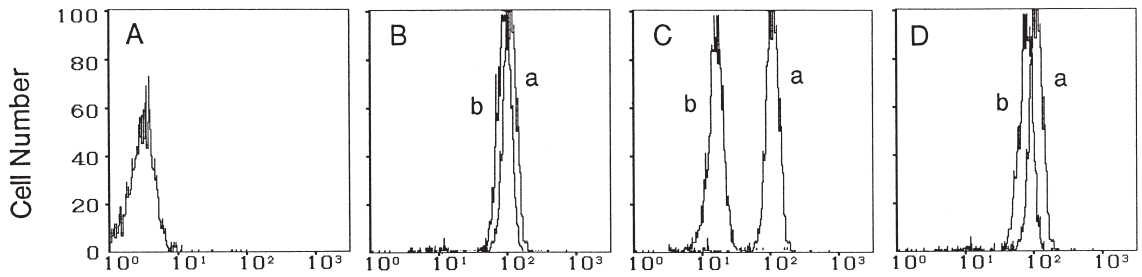
TAG2 は好中球以外の細胞では単球と NK 細胞にのみ反応した。好中球の FcR3b とは異なり、FcR3a は常に NA2 特異性を示すため⁶⁾、単球と NK 細胞に反応したものと考えられた。

FcR3 関連 MoAb による抑制試験で、NA2/NA2 好中球を用いた TAG2 の反応は GRM1 の前処理で明らかな抑制が認められたが、TAG1, 3G8

の前処理ではほとんど抑制が認められなかった (Fig. 2-I)。NA1/NA1 好中球を用いた検討では、弱い TAG2 の NA1/NA1 好中球への反応は TAG1 の前処理で抑制が認められたが、GRM1, 3G8 の前処理ではほとんど抑制が認められなかった (Fig. 2-II)。これらより、TAG2 は NA2 抗原を認識するとともに、弱いながら NA1 抗原も認識していることが推測された。

今回作製した TAG2 が NA2 抗原を明瞭に認識することは、MoAb を用いた各種検査法への応用とともに、複雑な NA 系抗原および FcR3 の構造を明らかにするのに有用な抗体と考えられる。

I NA2/NA2



II NA1/NA1

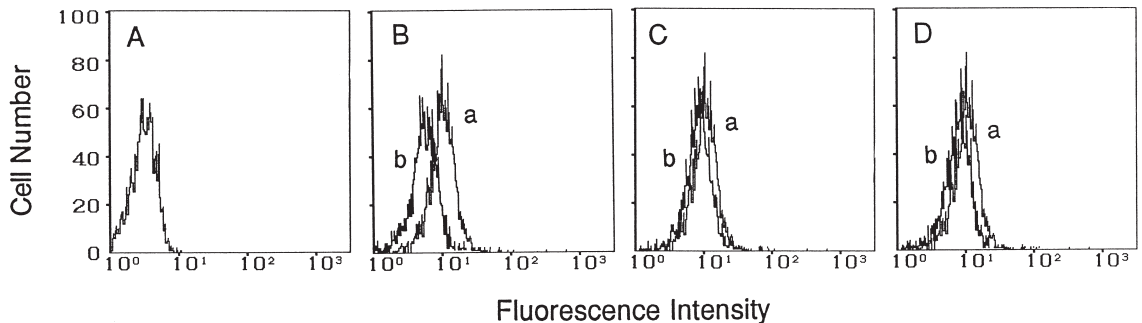


Fig. 2 Effect of FcRIII antibodies on the binding of TAG2 to NA2/NA2 and NA1/NA1 neutrophils.
 NA2/NA2 (I) or NA1/NA1 (II) neutrophils were preincubated with mouse IgG₁ (B-a, C-a, D-a), TAG1 (B-b), GRM1 (C-b) or 3G8 (D-b). After washing twice, cells were stained with FITC-labeled TAG2 and then analysed. A (I, II), isotype control (mouse FITC-labeled IgG₁).

今後、多くの種類の好中球抗体の作製は、血清抗体の反応性の検討や、好中球抗原の特性や機能を明らかにしていく上で必要と思われる。

文 献

- 1) Kobayashi M, et al. : Autoimmune neutropenia in infancy due to anti-NA1 antibody : Detection of antibody with immunofluorescence and agglutination test. *Pediatr Res*, 26 : 246—249, 1989.
- 2) 佐藤 篤, 他 : 抗 NA2 抗体による同種免疫性好中球減少症の一例. *日小血会誌*, 10 : 194—198, 1996.
- 3) Satoh T, et al. : Genotypical classification of neu-

trophil Fcγ receptor III by polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism. *Blood*, 83 : 3312—3315, 1994.

- 4) Bux J, et al. : NA gene frequencies in the German population, determined by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Transfusion*, 35 : 54—57, 1995.
- 5) 谷口菊代, 他 : 好中球特異抗原 NA1 に対するモノクローナル抗体の作製. *日輸血会誌*, 44 : 309—316, 1998.
- 6) Ravetch JV, et al. : Alternative membrane forms of FcγRIII (CD16) on human natural killer cells and neutrophils. *J Exp Med*, 170 : 481—497, 1989.