

## モノクローナル抗体とクローンについて

玉川病院 検査科病理

笠原 健弘

### <はじめに>

1975年、Köhler と Milstein によりモノクローナル抗体の作製法が世に紹介されて以来、多くのモノクローナル抗体が作製され、今や検査や研究に使用する抗体と言えばほとんどがモノクローナル抗体の時代になった。これに伴い抗体名を称する場合、抗原性物質（検出目的物）の名前、たとえば抗ケラチン抗体ならば、クローン名の AE1/AE3（抗体）や CAM5.2（抗体）を用いた方が当該抗体の使用目的が明確になる事を経験済みかと思う。

抗体名を用いる場合、正確な表現はどうあるべきかの議論はさておき、ここでは抗体のクローンとは何かについて考えてみたい。

### <ポリクローナル(コンベンショナル)抗体とモノクローナル抗体>

かつて試薬として使用された抗体（polyclonal や conventional などと呼ばれている）の作製法は、①検出目的物を抗原（antigen）として動物に接種し、②一定期間の後に当該動物の血液を採取して血清分離後、③血清をそのまま使用したり、 $\gamma$ グロブリン（免疫グロブリン含有）分画や、さらに IgG 分画まで精製して抗体試薬を得ていた。抗体精製にあたっては非特異性反応成分の吸収操作を行って反応特異性を上げ、抗体を使用する検出系の優位性を最大限にする努力を行った。これが昔からの伝統的な抗体作製方法（conventional method）である。抗原として使用する物質もまた接種前に十分に精製しておく必要があり、精製度合いの低い物質を使用する事は非特異反応を助長し、抗体の使用価値である特異性を十分に引き出せない危険性につながった。

これに対しモノクローナル抗体の作製は、精製した抗原を動物に接種するところまでは conventional method と同じだが、採取するのは血液（血清）では無く脾臓であり、その本態はリンパ球である。脾臓にはリンパ球が多く含まれ、生体が抗体を産生するにあたり、その主役となるのは B リンパ球が分化した形質細胞だからである。

できた産物を回収するのではなく、作り出すおおもとの細胞を回収し、細胞融合と細胞培養技術により目的とする細胞の選択（クローニング）と増殖を行い、*in vitro*（または *in vivo*）で抗体産生をさせて作られる。

換言すると、モノクローナル抗体とは特定の抗原決定基（epitope）に反応する抗体を作り出す細胞だけを選び、増やし、抗体産生させて、それを回収したものである。この“特定の抗体を作り出す細胞”がクローンである。

モノクローナル抗体として得られる抗体は、従来法では力価が弱いために回収できなかった小さな分子や epitope に対する抗体も作製する事が可能である。また粗雑な表現をするならば、適当な精製状態の抗原物質であっても、モノクローナル抗体作成過程の一工程であるクローニング操作過程で非特異反応成分が排除され、特異性と力価の高い抗体を得る事ができる。

### <抗原(antigen)と抗原決定基(epitope)>

Conventional 時代の古い清書には antigen としての定義が 3つ記載されており、その中の一つに『分子量が 1 万以上の蛋白質』と書かれていた。その antigen には多くの epitope が存在するため、antigen を接種するとそれぞれの epitope に対する抗体が作られる。

従来『antigen』と称していた表現は、モノクローナル抗体では『epitope』と表現した方が適切である。しかしながら、antigen としての名称はある程度既知であっても epitope となると無名であるものが多く、特定蛋白やペプチドの場合は N-末、C-末、と言った表現を用いる事もある。epitope mapping を行い、特定のアミノ酸配列や糖鎖配列まで確認している市販抗体は非常に少ない。名称がはっきりしない epitope を抗体名称とするのは非常に扱いにくいいため、その抗体を産生しているクローン名を用いる事は、利便性にかなった名称使用方法と言えよう。

### <抗体はすべてモノクローナル>

1 つの **epitope** に呼応する細胞集団は、細胞個々の発現遺伝子が全く同じであるためクローン (**clone**) と呼ばれる。モノクローナル抗体とはこうした同じ遺伝子発現を持つ 1 つの細胞集団から作り出された抗体を指し、多数のクローンが作り出した抗体を含む血清から得られた **conventional** 抗体をポリクローナル抗体という。

しかし、ポリクローナル抗体と言う表現は抗体試薬に対する呼称であり、抗体本態は全てモノクローナルであると言う事を認識しよう (ポリクローナルは、いくつものモノクローナルの集合体である)。

1 つの **epitope** に反応する抗体を作り出しているのは 1 つのクローンである。

### <モノクローナル抗体の非特異反応とは>

検査・研究用試薬に抗体を用いる利点は、通常の *in vitro* で行う生化学反応や化学反応と比較し、特定の物質を識別する能力が優れている事、すなわち特異性が高いと言う事である。**Conventional** 時代、非特異反応を示す抗体成分は、吸収操作によってある程度取り除く事ができた。しかしながら、モノクローナル抗体による非特異反応は、本来は特異反応であるため吸収除去ができない。すなわち、反応成分を吸収すれば抗体が全てなくなるためである。

我々は **antigen** の名称で抗体を呼んでいるので、目的とする **antigen** 以外の物質に反応が見られると非特異反応と認識するが、そうとは言えない事もある。それは **antigen** 上にある **epitope** のいずれかが、または立体構造の類似した **epitope** が別の物質に存在する場合である。当該抗体は特異反応としてその物質 (**epitope**) と反応することになる。

従って我々が非特異反応と認識してしまうモノクローナル抗体の反応は、実は特異反応に他ならない。

昨今の抗原賦活法により目的物以外に見られる反応を経験した人は多いと思うが、抗原賦活法により目的物質以外に存在する配列の高次構造が再変性した結果、目的とする **epitope** の高次構造に類似してしまった可能性も否定できない。これは免疫組織 (細胞) 化学的手法の **pit fall** である。モノクローナル抗体の使用にあたっては、これらの点を充分理解して結果解釈をお願いしたい。

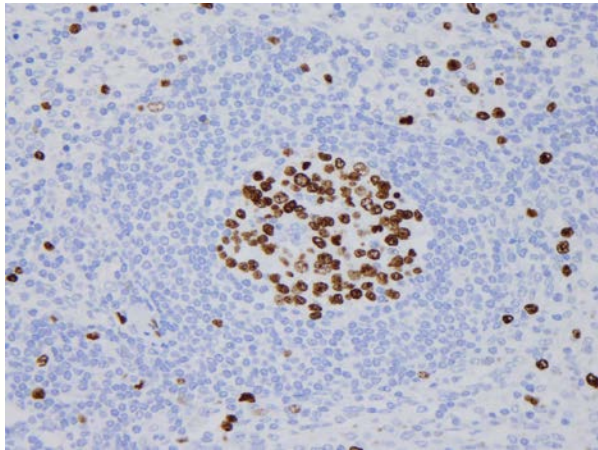
### <まとめ>

良く知られている『MIB-1』は、**Ki67** 抗体が認識する増殖マーカーの 1 つである抗原を認識する抗体のクローン名であり、**Ki67** 抗体はもともと白血病患者の血液中に発見された自己抗体である。**Ki67** 抗体が認識する抗原は **mki67** がコードする蛋白質で **G0** 期以外の細胞核に存在し、リボゾーム **RNA** の転写にも関わっていると考えられている。ホルマリン固定パラフィン切片で使用できるため、病理検査では多用されている増殖期マーカーである。

また、高分子ケラチン抗体の 1 つ、クローン名 **34βE12** (**CK1**、**CK5**、**CK10**、**CK14** に反応すると言われていた) は、前立腺の基底細胞を染色する為、前立腺病変の良悪鑑別に用いられる抗体の 1 つである。

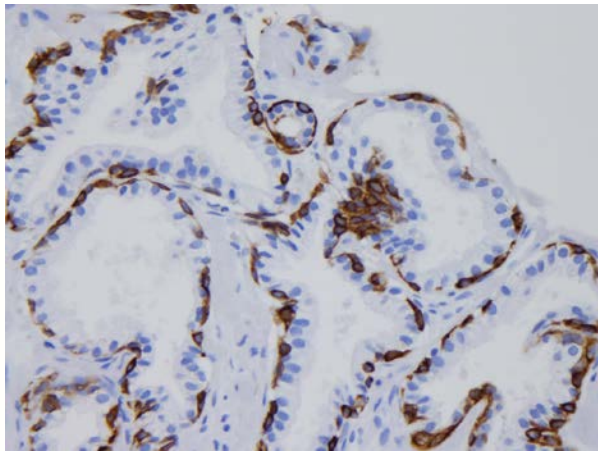
モノクローナル抗体はクローンの違いにより、その抗原分子に乗っている異なる **epitope** を認識する事があり (市販抗体では普通の事である (**Fig 3 & Ref 2**))、合目的なクローンの選択と共に、クローン名イコール抗原名と考える事が重要である。





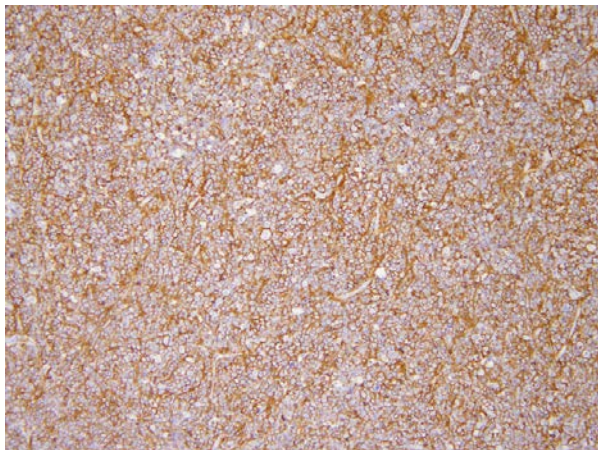
**Fig 1**

Ki67 抗体 (クローン名 MIB-1) によるリンパ節の染色  
胚中心の細胞の核が陽性



**Fig 2**

高分子ケラチン抗体 (クローン名 34  $\beta$  E12) による前立腺の染色  
基底細胞の細胞質が陽性を示す非腫瘍性腺管



**Fig 3a**

CD20N (クローン名 4-6H:2C) による Raji cell の Xenograft  
4-6H:2C は CD20 分子の N 末端にある epitope を認識している (Ref 2)



**Fig 3b**

CD20 (クローン名 L26 / Nichirei Biosciences Inc.) による Raji cell の Xenograft  
L26 は CD20 分子の C 末端を認識する

## 参考文献

1. 岩崎辰夫・安東民衛・市川かおる・保井孝太郎 著：単クローン抗体；ハイブリドーマと ELISA、講談社サイエンティフィック、1982 年
2. Mishima Y, Terui Y, Takeuchi K, Matsumoto-Mishima Y, Matsusaka S, Utsubo-Kuniyoshi R, Hatake K. The identification of irreversible rituximab-resistant lymphoma caused by CD20 gene mutations. *Blood Cancer J.* 2011 Apr;1(4):e15.