

令和元年度 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	新規グリオーマ幹細胞表面マーカー分子の探索	
新規・継続の別	新規・継続	
研究代表者	所属	九州大学 生体防御医学研究所 病態生理学分野
	職名・氏名	准教授・今野大治郎
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	
	職名・氏名	
	所属	
	職名・氏名	
受け入れ教員	職名・氏名	近藤 亨
概要 (100～150 字程度)	<p>本研究はグリオーマ幹細胞の免疫および 1 細胞ラビットモノクローナル組換え抗体作製技術の組み合わせにより、これまでのマウス/ラットモノクローナル抗体作製法では見出されなかった、新規細胞表面抗原マーカー分子の探索に挑戦するものである。</p>	
研究目的 (300 字程度)	<p>細胞表面抗原を認識するモノクローナル抗体を用いた細胞識別法は、現代の医学研究に欠かすことの出来ない基盤技術である。しかしながら、従来の齧歯類を用いたモノクローナル抗体作製法では、高親和性・高選択性抗体を産生するハイブリドーマの取得が難しいことなど、様々な困難が伴っていた。そこで本共同研究では、貴研究所の近藤亨博士が樹立に成功したマウス人工グリオーマ幹細胞を免疫抗原として用い、我々が開発を進めてきた 1 細胞ラビットモノクローナル組換え抗体作製技術とを組み合わせることにより、従来のモノクローナル抗体作製法では見出されなかった、グリオーマ幹細胞の分化成熟過程をより高精度に識別可能な新規細胞表面抗原マーカー分子の探索に挑戦することを目的とする。</p>	
研究内容・成果 (1000 字程度)	<p>免疫試験の抗原として用いるマウス人工グリオーマ幹細胞 (NSC61L) の準備、さらに予備実験としてこれら GIC 細胞を抗原としたラット腸骨リンパ節法によるモノクローナル抗体産生ハイブリドーマの樹立を試み、本研究に用いる GIC 細胞が細胞免疫法に適しているかの検討を行った。また、近藤博士がこれまで樹立に成功している脳腫瘍形成能の有無により選択された NSC 由来 GIC 細胞および non-GIC 細胞 (6B および 8B : GIC、9G および 10A : non-GIC) の培養を進め、GIC に特異的に反応する抗体をスクリーニングするための基盤整備を行った。その結果、生細胞 FCM 解析を用いた 1st スクリーニングにより、GIC 細胞を用いた生細</p>	

	<p>胞染色において強い反応を示す 1 クローンを得た (clone 5A10)。 5A10 抗体を用いた GIC 細胞の免疫染色では、全細胞の細胞膜表面に染色シグナルが認められた。興味深いことに、これらの染色は全細胞において均一ではなく、一部の細胞で非常に強いシグナルが認められた。これらの結果は均一と考えられていた GIC 集団においても何らかのサブタイプが存在することを示唆しており、現在 CD133 など他のがん幹細胞のマーカー分子群との発現の相関性を検討している。また、現在この陽性クローンを用いた 2nd スクリーニングによりハイブリドーマの樹立を試みており、樹立後は精製抗体を用いた抗原分子の同定を試みる予定である。加えて、これらの予備試験から、近藤博士の樹立した GIC 細胞が細胞免疫法に適していることが示されたことから、当初の目的であるラビット組換えモノクローナル抗体の取得を目指し、免疫およびスクリーニングの準備を進めている (本共同研究の継続研究として令和 2 年度においても引き続き実施の予定)。</p>
成果	<p>【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと無し</p> <p>【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと無し</p> <p>【新聞報道】 無し</p>