

氏名	漆原秀子 うるし はら ひで こ
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第569号
学位授与の日付	昭和54年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物物理学専攻
学位論文題目	チャイニーズハムスター細胞の細胞間接着に関与する表面分子の免疫学的手法による同定

論文調査委員 (主査) 教授 岡田節人 教授 大西俊一 教授 吉澤透

論文内容の要旨

多細胞生物の個体においては、いうまでもなく細胞同士は接着しており、細胞のもつ接着性という性質があればこそ、多細胞生物という体制の存在が可能となっている。では、その接着の機構はどのようなものであろうか？ おそらく細胞の表面に接着基分子が存在しているものと想定される。この研究は接着基分子の存在の検出を免疫学的方法によって試み、そのうちの少なくとも一種類のものについては同定、単離するに成功をみたものである。

まず、チャイニーズハムスターの V79 細胞を、そのままウサギに注射し、細胞表面分子に対する抗体を準備した。抗体をパペイン分解して得た単価抗体は、単離した細胞の集合を強く阻害する。特に、集合経過のうちで Ca^{2+} に依存しない場合を特異的に阻害するので、細胞表面にある接着基分子のうちで Ca^{2+} なしに作用するもの (CIDS と名づけられている) に対する抗体が得られたことになる。従って、この抗体を試薬として用いるにはことによって、細胞表面における CIDS の同定・分離を進めた。

細胞をトリプシンで処理した上澄中には、抗体による細胞集合阻害を中和できる物質が含まれている。この中和活性はプロナーゼ処理によって先活した。つまり、この上澄中には抗体と反応すべき CIDS 分子が含まれており、かつこの分子は蛋白質であるらしい、ということになる。

それで、このトリプシン処理上澄に対する抗体を準備した。この抗体の単価抗体は予想通り、 Ca^{2+} に依存しない細胞の集合を強く阻害し、抗 CIDS 抗体の作られたことを示す。

次に、トリプシン処理上澄を出発材料として、その中に含まれると予想される CIDS 分子の分離、精製が行なわれた。これはあらかじめ細胞表面の全蛋白質を ^{125}I でラベルしてから、上澄を得、セファテックス G-100 を用いて分画し、各分画の抗 CIDS による集合阻害の中和活性をみる、という手続きによった。一方、各分画を電気泳動し、オートラジオグラフィーによって、そこに含まれる蛋白質の同定を行なった。

また、 ^{125}I で細胞表面の全蛋白質をラベルしたのち、活性剤で溶解したサンプルについても、上のトリプシン上澄の場合と同じ方式のテストを行なった。そして、これらの諸結果を総合して、細胞表面に存在す

る 130K の蛋白質が CIDS として、 Ca^{3+} のない条件下で細胞間の接着基としての働らきをもつ分子であることを示すことができたのである。

以上の他、蛍光抗体法、補体結合法などと組合わせて、いくらかの補足的な実験を行なって、確かにこの 130K 蛋白質が細胞表面に存在し、かつ直接に細胞間の接着に機能していることを繰返して確認することに成功した。

以上の諸結果にもとづいて、細胞間の認識作用も含めて、細胞間接機構が総括的に論議されている。

論文審査の結果の要旨

多細胞生物において、細胞間の接着がどのような機構によって起こっているかについては、現在までにいくらかの重要な仮説が提唱されてきたが、なお未解決の大きな問題である。本研究は、疑いもなく、この問題の解決に大きい貢献をなすものである。

細胞間接着について、最近竹市雅俊らは細胞の表面に、2種類の細胞接着基の存在を仮定すれば一般的な説明が可能であるとする仮説を提唱した。申請者の研究は、この仮説に立脚してこれらの接着基が実際に分子として別のものであることを明らかにし、その一つを分離、同定することに成功したものである。

現在まで、細胞間接着の機構は生物物理学的、生化学的側面からなり多くの研究者によって研究されてきている。接着に関係する分子である、として報告されてきたものも数少なくない。しかし、それらの多くは、確かにその分子が接着に直接関係していることの証明を欠いているか、或は分子としての同定、精製がなお不十分なものであった。

本研究では、免疫学に一つの接着基分子と特異的に反応する抗体を得ることに成功し、これを試薬として駆使することによって所期の目的を達成した。一方、接着基分子を、細胞集合という生物学的テストに用いるのと同じ細胞の表面から分離することを試みることにより、分離、同定された分子の機能の直接の証明を可能とした。申請者の同定し得た 130K 蛋白質が、接着基分子そのものであることは殆んど疑う余地はなく、この研究分野における画期的な成功をおさめた研究であるといえる。

この研究では、細胞生物学的技術が免疫学、免疫化学的、生化、的技術と総合的に駆使されている。いずれも技術的に秀れ、再現性の高い結果が得られており、結論は信頼度の高いものとなっている。

以上の審査結果から、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。