

【 23 】

氏名	佐藤明直 さとうあきなほ
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第125号
学位授与の日付	昭和43年1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	理学研究科動物学専攻
学位論文題目	Solubilization and some characterzations of chicken kidney microsomal antigens (ニワトリ腎臓ミクロゾーム分画の抗原の可溶化と定性)
論文調査委員	(主査) 教授 岡田節人 教授 加藤幹太 教授 竹内郁夫

論文内容の要旨

高等動物の諸器官は、それぞれ特有の生理的機能、形態学的特徴をそなえているが、このような器官の分化は各器官に独特な分子の存在に基づくものであると考えられる。このような器官特異的な分子は、いろいろな方法で探求されているが、その中で興味深いものに免疫学的研究がある。各器官が、それぞれ特異的な抗原性分子（器官特異抗原とよばれる）をもち、その存在が免疫学的抗原抗体反応によって検出されることが指摘されたのはかなり古いことである。特にこの種の研究は、アレルギーや、自己免疫病などのような医学的問題の理解のために多くの関心を集めたが、器官特異抗原の本性については、未解決のままに残された。より最近になって、器官の発生、あるいは発生した器官のがん化の分子的基礎を研究するため、このような器官特異的抗原についての知見が強く要求されるようになったのである。

本論文は、ニワトリ腎臓を材料として、腎臓特異抗原の分離を行ない、かつ、その化学的性状を明らかにするとともに、種特異性などについても検討したものである。ニワトリ腎臓をホモジェネートして、これをウサギに注射し、被感作ウサギの血清との抗原抗体反応を、寒天ゲル内沈降法により検すると、多数の抗原抗体系が検出される。その殆んどは腎臓、肝臓、肺臓などにも共通なもので、腎特異的なものは、二、三にすぎない。それで、ホモジェネートを、いくらかの細胞成分に分離してみると、腎特異抗原は、ミクロゾームとよばれる分画に存在する。ミクロゾームは、なお、免疫学的にも複雑な構成をもっているが、腎特異抗原は水、塩溶液に不溶であって、デオキシコール酸（DOC）のように表面活性剤処理によって、はじめて可溶化される。このミクロゾームのDOC可溶成分を硫酸アンモニウムを用いた差次沈殿法によりいくらかの部分にわけ、その各々を寒天ゲル内免疫沈降反応によって検すると、腎特異抗原は、硫酸アンモニウムの20—45%飽和度の間で沈殿する。このようにして分離された試料を化学的に分析すると、RNAは含まず、多量のリピッドを含有したタンパクであって、腎特異抗原は、物質的にはミクロゾームの小胞体膜構造をなすリポタンパクであろうと結論された。

では、抗原としての特異性の決定基は、リポタンパクのリピッド部分に存在するのか、それともタンパ

ク部分に存在するのだろうか。これを明らかにするために、まず、腎のミクロゾーム分画を適当な条件下で、メタノール、エーテルなどの有機溶媒で処理する。この処理によって、ミクロゾームのリピッドの大部分が除去されることを確かめたのち、脱脂試料をトリス緩衝液で処理すると、タンパクが可溶化されてくる。このタンパクには腎特異抗原が含まれていることが寒天ゲル内沈降法で確認され、腎特異抗原の、抗原決定基はリピッドになく、タンパクに存在するとされた。

この脱脂ミクロゾームのトリス緩衝液可溶タンパクから、腎特異抗原を純化する試みがなされた、硫酸アンモニウムを用いた差次沈殿法では、45—67%の飽和度で沈殿する。セフエデックス G100 のカラムによって分離を試みると、腎特異抗原は、単一のピークとして最初に溶出してくる部分にある。

次に、このように分離されたタンパクを超遠心分析法により、その性状の決定が行なわれた。この分析において、21Sの大きさをもった一つの大きなピークと、6Sから15Sまでの大きさにまたがった6個の小さなピークとが分離された。寒天ゲル内沈降反応によると、腎特異抗原は21Sの部分にはなく、6Sから15Sにまたがる小さなピークの部分にある。しかし、特異抗原が、この六つのうちのどれか一つに存在しているのか、それともいずれにもあるのかは明らかにしえなかった。

最後に、ニワトリ腎に存在する特異抗原は、他種の動物の腎臓にも含まれているのだろうか。日本産ウズラ腎臓との比較を試みると、ニワトリ腎臓と共通の数多くの抗原の存在がみられる。しかし、これらは、いずれも腎特異的なものではない。ニワトリ腎特異抗原と共通の抗原はウズラ腎臓には検出されなかった。ネズミ腎臓についても検討されたが、ニワトリ腎と共通なのは、器官としては、非特異的な数個の抗原のみであった。しかし、ニワトリの腎で分離された類似した性質のリポタンパクを、同じ寸法で、ウズラやネズミの腎臓から分離することは可能であった。従って、腎臓特異抗原の免疫学的特異性は、“腎特異的”のみならず、“種特異的”でもであると結論された。

論文審査の結果の要旨

器官特異抗原の概念が提出されたのは半世紀も以前のことである。特に最近では、自己免疫現象、がん化、器官発生などの現象を分子水準で研究するための基礎として器官特異抗原の分離法を確立し、その性状を明らかにしようという要請には大きいものがある。現在、世界的にいくらかの研究室で活発な研究が行なわれており、ミクロゾーム膜成分が、このような器官特異抗原の新しい手として注目されている。

申請者は、この問題を詳細に研究し、DOC を用いる器官特異抗原の分離法は、すでに参考論文によって部分的に公表されているが、最も秀れたものとして、現在、国際的に医学、生物学の多くの分野で普く使用されている。申請論文では、この点をさらに進展させると共に、DOC を使用しない分離法を確立した。また、これによって、抗原決定基の存在場所の推定を可能にしたのである。また、腎特異抗原が同時に種特異性をもっていることを示した結果は、従来、免疫学的な器官特異性と種特異性の関係についての知見がとかく混乱していたから、本研究におけるような詳細な研究が腎臓の例において完成された意義は大きい。

以上の如く、申請者の研究は、動物の器官の特異性を、免疫学的手法によって分子的基礎を明らかにしようとしたものであって、その結果は、高く評価されるべきであり、理学博士の学位論文としてふさわし

いものと考えられる。