

【 24 】

氏 名	武 藤 正 弘 む とう まさ ひろ
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 247 号
学位授与の日付	昭 和 47 年 5 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 物 理 学 第 一 専 攻
学 位 論 文 題 目	マウス骨髓腫細胞の γ -globulin messenger RNA に関する研究
論文調査委員	(主 査) 教授 加藤幹太 教授 寺本 英 教授 加藤 勝 教授 白上謙一

論 文 内 容 の 要 旨

高等脊椎動物は多種多様の特異性をもつ抗体分子を合成するが、その際一つの抗体産生細胞は単一の特異性を示す一種類の抗体分子のみを合成し、それぞれ遺伝子 DNA が対応しているといわれている。この場合一つの抗体産生細胞には、その動物体が合成しうる抗体のすべてを指令する遺伝子が含まれていて、そのうち一つのみが活性化されているのか、あるいは各細胞はそれぞれ異った抗体遺伝子をもつことによって抗体の多様性を示しているのか、という問題が存在している。また、抗体は細胞中で非常に高い速度で合成されているので、抗体産生細胞では抗体遺伝子 DNA の増複があるかもしれないことも一つの可能性として考えられている。

これらの問題解明に当って申請者は C3H 系マウスの X5563 株骨髓腫細胞をモデル系として用いた。この細胞株は抗体産生細胞（プラズマ細胞）の腫瘍であり、C3H 系マウスに継代移植することによって無限に増殖を続けるので多数の細胞が採取でき、また元来は一つの細胞から由来したものであるため、どの細胞も同じ遺伝子組成をもち、無制限に合成分泌される抗体分子はどれも単一のアミノ酸配列より成っていると考えるべき。これらの均一な細胞集団から、抗体グロブリン合成用の伝令 RNA を精製し、細胞よりとり出した DNA と接合 (hybridization) させることによって、その伝令 RNA と対応および類似した DNA の量を測定でき、更に抗体産生に無関係な細胞（申請者は C3H マウスおよびニワトリの腎細胞を用いている）の DNA と接合させた場合と比較することにより、骨髓腫細胞すなわち一般の抗体産生細胞で遺伝子増複が起こっているかどうかを判定することができる。

申請者は骨髓腫細胞より伝令 RNA を精製するために2つの方法を用いた。一つは、抽出した全 RNA をメチル化アルブミンカラムによって伝令 RNA を分画する方法であり、この場合には得られた伝令 RNA は抗体分子用のものと他の蛋白質用のものが混在している。他は、抗体分子を合成中のポリリボソームを取り出し、これをウサギの抗骨髓腫蛋白抗体で処理し、抗体分子をもったポリリボソームのみを沈降させ、そこから伝令 RNA を調製する方法であり、その結果、抗体分子用の伝令 RNA が純粋に得ら

れる。これらの RNA と DNA を接合させた結果を判定するために、申請者は反応方程式を解くことによって反応の速度定数や DNA と相補的および類相補的 DNA の比較的な量が求まることを示した。DNA としては骨髓腫細胞 DNA と腎細胞 DNA を用意し、それぞれと上述の伝令 RNA を接合させた結果、両 DNA は骨髓腫細胞の伝令 RNA との接合の能率に差がないこと、メチル化アルブミンカラムによって精製した伝令 RNA と特異抗体を用いて得た伝令 RNA では、後者の方が DNA との接合速度が高いことが認められた。これらのことから、抗体を盛んに合成している細胞でも DNA 中に組みこまれる形で遺伝子増複は考えにくいこと、抗体用の DNA は一細胞中に多数あって、その量は抗体産生細胞でも腎細胞でも等しいことが確かめられている。

参考論文の第 1 部は主論文に用いた細胞における RNA 代謝を経時的に調べたものであり、第 2 部はこれらの細胞に RNA に指図されて DNA が形成されるのに必要な DNA ポリメラーゼが存在することを示したものである。

論文審査の結果の要旨

申請者は、マウス骨髓腫細胞より抗体分子合成のための特異的伝令 RNA を、骨髓腫蛋白に対する抗体を用いて抽出精製し、その伝令 RNA と接合 (hybridization) する DNA 量は、骨髓腫細胞のゲノムでも腎細胞のゲノムでも両者に差がなく、また、骨髓腫細胞では抗体分子に対応する DNA は、その細胞でつくられている抗体以外の蛋白質に対応する DNA の約 3 倍の量であることを明らかにした。また、この伝令 RNA はニワトリ腎細胞 DNA とは接合しないので、この接合反応はマウスの DNA と RNA に特異的であるといえる。

現在、抗体の多様性と抗原に対する特異性の決定に関してバーネットの提唱したクローン選択説が指導理念となっていて、抗体産生のみならず、種々の免疫現象をもっともよく説明するものとして評価されている。この説によれば、抗体分子に対応する遺伝子は各細胞に一つあるいは少数しか存在せず、各リンパ系細胞はその細胞のもつ遺伝子にそれぞれ指令されて細胞ごとに異った特異性をもつ抗体を合成することになり、細胞間の遺伝子の多様性はリンパ系細胞がたえず増殖分化している際に生ずる体細胞突然変異に起因すると考えられている。ところが、申請者の研究では、抗体分子に対応する遺伝子は一つの細胞に多数存在するという結論を出しているので、この結果はクローン選択説と一見矛盾するようにも見える。しかし、クローン選択説でも 1 つの細胞に複数の抗体遺伝子の存在を否定しているわけではなく、また申請者の研究でも遺伝子 DNA の量を正確に測定したわけではないので、両者は大きい矛盾なく両立しうると考えられる。

申請者の研究によれば、抗体産生細胞では抗体に対応する遺伝子の増複は認められていないので、ある抗体産生細胞では、他の細胞と同じ組成の遺伝子群からある一つの遺伝子のみが活性化あるいは脱抑制され、その状態はその細胞クローンでは分裂をくり返しても安定であることになる。現在の免疫生物学においては、抗体産生前駆細胞は、その細胞の子孫細胞が形成するであろう抗体と同じ特異性をもった抗体を細胞表面に抗原受容体として備えており、抗原はその受容体と適当に結合することによって細胞の増殖分化を刺激し、それによって受容体 (抗体) の過剰生産が起こることが明らかになっている。このことを考

え合わせると、申請者の研究結果から次のような仮説が考えられる。すなわち、リンパ系細胞も他の体細胞も抗体遺伝子の量は等しく、リンパ系細胞は抗体産生前駆細胞へ分化していく段階においてそれらの遺伝子のうちランダムに1つが脱抑制され、その遺伝子の指令によって受容体が形成され、抗原は自分の構造と相補的な受容体をもった細胞を選択して刺激する。抗体産生は抗原の刺激によってはじめて起こるのではなく、抗原刺激は抗体産生の増強をもたらすのであって、その際にはとくに遺伝子の増複を必要としない。

参考論文の第1部では、抗体産生細胞の伝令 RNA はまず核内で高分子 RNA として合成され、低分子となった後あるいはなりつつ細胞質へ移行することが示されており、第2部では、そのような細胞では、RNA を鋳型として相補的な DNA が形成されるべき酵素が存在することが見出されている。これらのことが、今直ちに抗体産生の分子的機構のすべてを解決したとはいえないまでも、この方面の今後の理解に大きく貢献していることは確かであろう。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。