

氏 名	小 島 洋 子 こ じま よう こ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	論 医 博 第 839 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	Immunohistological studies of metallothionein (メタロチオネインの免疫組織学的研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 早 石 修 教 授 糸 川 嘉 則 教 授 濱 島 義 博

論 文 内 容 の 要 旨

メタロチオネインは、重金属を含むシステインに富む低分子量の蛋白質であり、哺乳動物の主として腎臓、肝臓に含まれている。重金属の解毒や移送に関係すると考えられている興味深い蛋白質である。

従来、その性質や構造に関する探索は行われていたが、低分子量のため抗体作製が困難であった。

著者は、馬腎メタロチオネイン-1Bに対する抗血清を作製することに成功し、その抗血清を使って、免疫蛍光抗体法により、臓器内のその分布を明らかにすることが出来た。更に、今まで知られていなかった人胎児の腎臓のメタロチオネインを証明し、その結合金属が成人腎の場合と異なることを見出した。

純化した馬腎メタロチオネイン-1Bにメチル化牛血清アルブミンと Freund Adjuvant を混じて抗原活性を高め、家兎に免疫して抗血清を作製した。この抗血清はオクタロニー法及び免疫電気泳動法にて馬腎メタロチオネインとの間にのみ band が形成された。

この抗血清を精製し、免疫蛍光抗体法を用いていろいろの種属、各種臓器について、メタロチオネインの局在を調べた。馬、人、猿の腎臓皮質の尿細管、特に近位尿細管及びヘレン係蹄の胞体内にびまん性に存在することを証明した。核や糸球体には認められなかった。

抗馬腎メタロチオネインは、馬、人、猿の臓器において、腎臓のメタロチオネインとは反応したが、肝臓では反応が認められなかった。すなわち、腎臓のメタロチオネインと肝臓のそれとは抗原性が異なるという新しい事実を見出した。

馬腎、成人腎のメタロチオネインは含有金属が主としてカドミウムであることが知られているから、蛍光を証明し得た組織と同じ組織のカドミウム濃度を原子吸光法を用いて測定した結果、蛍光が見られなかったものに比してはるかにカドミウム含量が多く、カドミウムの含量と蛍光の間には相関関係が認められた。

続いて、この抗血清を用いて、胎生4カ月から10カ月の人胎児腎臓において、同様に免疫蛍光抗体法でメタロチオネインの検索を行った。メタロチオネインは胎生4カ月以後の腎臓で皮質尿細管の胞体内に証明された。

原子吸光法による胎児腎の重金属の分析を行ったところ、成人腎と異なってカドミウムはほとんど存在せず、銅と亜鉛が含まれていた。

蛍光の強さは、胎生の月数の進むほど、腎臓の銅の含量の多いほど強い傾向が認められた。

他方、胎児腎臓の homogenate をつくり、馬腎のメタロチオネインの精製法と同様に、0.02 M Tris-HCl buffer, pH: 8.60 にて抽出、Sephadex G 75, Sephadex G 200 にてカラムクロマトグラフィーを行ない精製すると、分子量約1万の銅・亜鉛・システインに富む分画が得られた。これはメタロチオネインと考えられる。

以上の結果より、胎生4カ月以後の胎児腎臓にはメタロチオネインが存在し、その結合金属は成人腎と異なって銅と亜鉛であろうと推測される。胎生期には、カドミウムはほとんどなく銅と亜鉛を含有するメタロチオネインが、生後、有害金属が体外より取り入れられた際、これらとの間に重金属の置換がおり、成人ではカドミウムに富んだメタロチオネインとなり、重金属の解毒、移送を荷っていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

metallothionein は重金属を含むシステインに富む低分子量の蛋白質であり、生体内の重金属の解毒や移送に関係すると考えられ、近年注目されている蛋白質である。

従来、その抗体作製が困難であった。小島は Adjuvant を使用し、抗原活性を高める事により、はじめて抗体作製に成功した。その抗血清を用いて免疫蛍光抗体法により metallothionein の臓器内分布を調べ、腎尿細管の胞体内に存在することを明らかにした。また、肝臓と腎臓の metallothionein はその抗原性が異なるという事実を見出した。又、蛍光抗体法及びカラムクロマトグラフィーによる抽出、精製によって胎生4カ月以後の胎児腎の尿細管に metallothionein が存在する事を明らかにした。これは、現在まで胎児腎における metallothionein の存在に関する報告はなく、新しい事実である。しかも、胎児腎の metallothionein は成人腎の metallothionein が Cd と Zn を含有しているのに比して、Cu と Zn を結合していることも証明した。

生体内における重金属の解毒、移送に関してこの metallothionein が重要な意義を持っていることを裏づけている画期的な仕事である。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。