

氏 名	篠 原 利 明 しの はら とし あき
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 332 号
学位授与の日付	昭 和 46 年 11 月 24 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	血液型活性糖質の生化学的研究

(主 査)
論文調査委員 教 授 小野寺幸之進 教 授 満 田 久 輝 教 授 千 田 貢

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトの血液型を示す型式は数種類知られているが、その代表的な型式は ABO 式, Lewis 式, Rh 式, MN 式である。これらの血液型は一般に赤血球表面に結合する複合多糖類の抗原性によって発現される。現在までに ABO 式および Lewis 式型物質については活性部位の化学構造がほぼ明らかにされているが、MN 式については明らかでなかった。

MN 型活性物質はシアル酸を含有するのが他の型活性物質と異なる点である。そこでまず型物質の主要な構成糖であるヘキソサミンおよびシアル酸の分析法についていろいろな条件で検討したところ、定性分析法として、ろ紙クロマトグラフ法およびろ紙電気泳動法とがもっともすぐれていることがわかり、その方法を確立した。

ヘキソサミンの定量には一般にモーガン・エルソン反応が用いられているが、この方法を血液型物質の分析に応用するには、難点があった。そこでこの方法について定量時の諸条件、特異性および再現性などについて検討して改変定量法を設定した。この方法は血液型物質のヘキソサミン定量法として簡便で正確な分析値を与える実用的な方法として使用できる。

MN 型活性物質の化学的解明にはシアル酸の定量が必要である。そこでまずヒト卵巣ノウ腫液からシアル酸を単離精製し、これを用いて定量条件を設定した。ついで MN 型活性をもつシアロ糖ペプチドの検出および分離方法を検討したのち、ヒト赤血球からプロナーゼ処理によってシアロ糖ペプチドを単離し、その化学的性質および生物活性をしらべた。いろいろなクロマトグラフ法および薄層プレート法などによって、MN 型活性糖ペプチドをいくつかの成分に分画することができたが、M, MN N 型の活性の異なった糖ペプチドの相互分離は困難であった。したがって血清学的に異なった性質を示すこれらの物質は化学的にはきわめて類似した構造をもつものと考えられる。これらは、いずれも、ろ紙電気泳動的には均一で 33~35% のシアル酸と 15% 前後のヘキソサミンを含有している。

一方、生物活性をしらべてみると、ヒト血球にプロナーゼを生理条件下で作用させた場合、M 型と MN

型はいずれもN型に転換し、N型は変化を受けない。しかしプロナーゼをさらに強く作用させるとN型活性も消失することがわかった。このことから血球表面ではN型活性をもつシアロ糖ペプチドが基本となつて、より複雑な糖ペプチドを形成し、MN型、M型などの型活性物質を作るものと考えられる。

マメ科植物の種子にはヒト赤血球と作用して凝集反応を示す抗体様の活性をもつ物質の存在が知られ、血液型をしらべる目的で古くから研究されて植物凝集素と呼ばれていた。そこでエンドウ種子を材料として非型特異性凝集素を単離し、その化学的性質ならびに生物活性をしらべた。

エンドウ種子を生理食塩水で抽出し、硫酸分画した粗たんぱく質を、カラムクロマトグラフ法で精製し、活性画分を単離した。さらにこれをセファデックスゲルろ過法で精製した。このとき凝集素とデキストランとの間に強い吸着現象がみとめられた。このエンドウ種子凝集素はヒト A, B, O 型血球に対していずれも 0.06 mg/ml で凝集活性を示した。このたんぱく質は熱に安定でディスク電気泳動法で均一性を示し 1.3% のヘキソースを含有する。

つぎにこの精製凝集素に対して単糖類およびオリゴ糖類による凝集阻止試験を行なった結果、この凝集素はこれらの糖と結合して、ヒト血球 A, B, O 型に対してほぼ非特異的に凝集阻止能を示すことがわかった。なおこの凝集素と結合する糖類の化学構造とその作用との間に規則性がみとめられる。

上記の凝集素を精製する過程で共存する酸性多糖を単離精製し、その糖組成を決定し、その部分構造を明らかにしたが、この酸性多糖は血球凝集阻止能を示さない。

論文審査の結果の要旨

今世紀のはじめに Landsteiner によってヒトの血液型が発見されて以来、型物質の研究は応用面ばかりでなく生化学の観点からも重要な意義をもっている。血液型の表現には数種類の方式があるが、それらの型活性は、いずれも、赤血球表層の複合多糖類の抗原性によって発現されることがわかっている。現在、ABO 式、Rh 式などの型活性物質は糖化学の面からほぼ明らかにされているが、MN 式型活性物質については未知の点が多かった。

著者は MN 式型活性物質および ABO 式型活性物質の化学的実体をしらべるため、まず、ヘキソサミン、シアロ酸などの主要構成糖の分析方法を検討して、これら型物質に適用できる実用的な分析方法を設定した。

つぎに赤血球表面からプロナーゼ処理によって得られた MN 型活性糖たんぱくを、いろいろなクロマトグラフ法を用いて精製した結果、MN 型活性糖ペプチドをいくつかの成分に分画した。しかし、M型、MN 型、N型など活性の異なる糖ペプチドの相互分離は困難であった。これら3種の型活性物質は、いずれもシアロ酸の含量がほぼ等しく (33~35%)、またヘキソサミン含量は 15% 前後を示した。これらの結果から、血清学的に異なるこれらの型物質は、化学的にはきわめて類似した構造をもつものと結論した。またM型、MN型、N型をもつヒト赤血球をそれぞれ生理条件下で処理すると型転換が起こることを明らかにし、血球表面でN型が基本となつて、より複雑な糖ペプチドが形成され、MN型活性が発現されるものと推論した。

血液型作用は抗原抗体反応であるが、マメ科植物種子には抗体性の凝集素の存在が知られていた。著者

はこの反応の本質についての知見を得るため、エンドウ種子に存在する血球凝集作用をもつ物質を追求した。

エンドウ種子から抽出、単離精製した凝集素は糖ペプチドで、1.3%の糖含量を示した。この凝集素と反応してヒト A, B, O 型に対して凝集阻止作用を示す糖類にはその化学構造とその作用との間に規則性が見とめられる。また、この植物性凝集素を単離する過程で、共存する酸性多糖体の化学的性質および凝集素との関連性を明らかにした。

このように本研究は血液型活性物質について重要な新知見を加えたもので生化学の分野に貢献するところがきわめて大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。