The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	モルモットγ1, γ2抗体間の識別した抗原決定基の異同
Author(s)	脇, 功巳
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30062
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【5】

氏名・(本籍)	脇(わき)　功巳(いさみ)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1936 号
学位授与の日付	昭和45年3月30日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**モルモット γ_1, γ_2 抗体間の識別した抗原決定基の異同**
論文審査委員	(主査) 教授 北川 正保 (副査) 教授 山村 雄一　教授 坂本 幸哉

論文内容の要旨

〔目　　的〕

生体がある物質を抗原と識別して抗体を産生する場合，経時的にクラスの異った抗体が出現してくる場合がある。例えばモルモットでは大部分の抗原に対して体液性抗体の出現順序は，IgM, γ_1, γ_2 である。これらのクラスは異った生物活性を所有しているが，この差異は抗体の Fc の部分の相違に依存すると説明されている。しかしここで疑問が提起される。すなわちこれら経時的に産生されてくるクラスの異った抗体は相互に同一の抗原決定基のみを識別しているのであろうか。本論文の目的はモルモットを例としてこの問題の解明にあるが，その意義は人為的にある生物活性を有する抗体を除去する方法の開発などという応用面とともに，抗原識別機構の解明という基礎面に貴重なる示唆を与えることにある。本研究の遂行にあたり抗原の選択に留意した。抗原決定基の容易さから，生物活性を有する一次構造の確定されたポリプチドを選んだ。インスリン（分子量約5750）とトラジロール（ウシ肺より結晶化された蛋白分解酵素阻害物質，分子量約6500）である。

〔方法ならびに成績〕

(1) 抗インスリン抗体

1. 抗原精製　マッコウクジラ結晶インスリンを八木らの方法に従い DEAE-cellulose でクロマトグラフィーを行ない精製した。精製品は EDTA 存在下寒天電気泳動にて単一である。
2. 感作方法　市販モルモットを精製インスリン 2mg/kg の用量で Freund complete adjuvant とともに2週間毎3回感作した。
3. 産生抗体の検出　インスリン感作モルモット血清を radioimmunoelectrophoresis で検

査したところ全て γ_1, γ_2 抗体が検出された。

4. γ_1, γ_2 グロブリンの分画　5匹の感作モルモットの血清を集めて DEAE-cellulose にてクロマトグラフィーを行ない γ_1, γ_2 グロブリンを分画した。γ_2 グロブリン画分は単一であるが，γ_1 グロブリン画分には γ_2 グロブリンの少量の混入がある。

5. γ_1, γ_2 抗体間のインスリン中和活性の差異　マウス横隔膜法によるインスリンの bioassay において，同一抗体量の γ_1, γ_2 グロブリン画分のインスリン中和活性を比較検討したところ γ_2 抗体が中和活性を所有することが推定された。抗体量の推定は Barson-Yalow 法に従った。

6. インスリン—マウス横隔膜複合体に対する γ_1, γ_2 抗体の結合　10μg/mℓ のインスリン溶液と反応させよく洗滌したマウス横隔膜に放射性同位元素で標識した γ_1, γ_2抗体の結合を検討したところ γ_1 抗体のみがインスリンを介して横隔膜と結合することが示唆された。

7. Immunoadsorbent への放射性 γ_1, γ_2 抗体の結合に対する γ_1, γ_2 抗体の阻害　Immunoadsorbent として polystyrene-N=N-insulin を使用した。I^{125}-γ_1, I^{131}-γ_2 抗体の混合物を用いて結合をみると cold γ_1 抗体の共存下では I^{131}-γ_2 抗体の結合がほとんど阻害されないのに，I^{125}-γ_1 抗体の結合が阻害された。逆も真だった。

8. γ_1, γ_2 抗体と修飾インスリンとの結合　修飾剤として 1) cyanuric fluoride, 2) diazo-1-H-tetrazol, 3) N-ethyl-5-phenylisoxazolium-3′-sulfonate, 4) β-naphthoquinone-4-sulfonic acid, 5) トリプシ，6）キモトリプシを用いた。修飾インスリンと γ_1, γ_2 抗体との結合を比較検討したところ，1)，4)，5）による修飾は両者に結合の差異を生じさせなかった，2）は γ_2 抗体と 3)，6）は γ_1 抗体との結合をより阻害された。

以上の実験事実はモルモット抗インスリン γ_1, γ_2 抗体が識別しているインスリンの抗原決定基に差異があることを推論させる。

(2) 抗トラジロール抗体

1. 市販品のトラジロールを 2mg/kg の用量でインスリンの場合と同様に感作した。radioimmunoelectrophoresis で γ_1, γ_2 抗体が検出されたので分画を行ない，γ_1 グロブリン画分中の γ_2 グロブリンの混入は必要に応じてウサギ抗モルモット γ_2 Fc 血清で吸収除去した。

2. Ouchterlony 法による沈降線の有無　γ_1, γ_2 グロブリン画分のトラジロール結合力を Farr の硫安法によって決定し，同一抗体量で 100μg/mℓ のトラジロールと沈降線が出現するかどうか検討した。γ_2 グロブリン画分は $ABC_{50}^{0.1}$ (0.1 μg/mℓ のトラジロールの50%結合する抗体濃度）の55倍ですでに沈降線を形成するに反し γ_1 グロブリン画分は 340 倍でも沈降線の形成はなかった。

3. 抗原過乗域におけるトラジロール-γ_2 抗体複合体に対する放射性 γ_1, γ_2 抗体の結合を比較したところ，γ_1 抗体の方がより多く結合した。

4. Immunoadsorbent を用いて抗インスリン抗体の場合と同様な手法で検討したところ，cold γ_1 抗体共存下では I^{125}-γ_1 抗体の方が，cold γ_2 抗体共存下では I^{131}-γ_2 抗体の方がより結合が阻害された。

〔結　　論〕

インスリンおよびトラジロールで感作されたモルモットは γ_1, γ_2 抗体を産生する。この時 γ_1, γ_2 抗体が識別している抗原決定基の種類や量に差異があることが示された。

論文の審査結果の要旨

本研究はまずモルモットで2つの異なった免疫性グロブリンのクラスに属するインスリン抗体が産生されること，一方はインスリンのホルモン活性を中和する抗体，他方は非中和性抗体であることを明らかにした。ついて両抗体の相異点を解明し，それぞれの抗体は互いにインスリン分子上の相異なった抗原決定基に向けられたものであることをつきとめた。

クラスの異なった抗体が異なった抗原決定基に向けられていることを示した最初の報告で免疫化学上極めて興味深い発見であり，また生体の抗原識別機構についての問題点を提出したものである。同時に臨床的にも抗体によるインスリンの中和機構の解明に重要な手がかりを与えた研究として価値の高いものである。