The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Rous sarcoma virus誘発マウス線維肉腫の腫瘍拒絶抗原の精製
Author(s)	須田, 貴司
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36017
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

【8】

氏名・(本籍)	須田貴司（すだ たかし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8085 号
学位授与の日付	昭和63年3月25日
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Rous sarcoma virus誘発マウス線維肉腫の腫瘍拒絶抗原の精製
論文審査委員	(主査) 教授 坂本 幸哉 (副査) 教授 濱岡 利之　教授 岸本 進

論文内容の要旨

［目　的］

一般にウイルス誘発腫瘍では，同種のウイルスにより誘発された腫瘍間に共通の腫瘍抗原が発現し，腫瘍拒絶免疫においても交差反応性を示す。これらの共有抗原は，大きくヴィリオン抗原と非ヴィリオン抗原に分類される。特に後者は腫瘍形質発現との関連が示唆されており，発癌と腫瘍抗原発現の関連性を考える上で興味深い。一方，マウス等哺乳類のRous sarcoma virus（ＲＳＶ）誘発腫瘍では，ウイルス癌遺伝子（ｖ－src）は発現され，癌化を引き起こし，またＲＳＶ誘発腫瘍間に共通な抗原も発現されるが，ウイルス粒子は産生されないことが知られている。従って，マウスＲＳＶ誘発腫瘍は，既知の癌遺伝子（ｖ－src）によって引き起こされる癌化の分子機構と，その過程で発現される非ヴィリオン抗原タイプの腫瘍抗原の関連を解析する上で，有用な系を提供する。そこで本研究では，ＢＡＬＢ／ｃマウス由来のＲＳＶ誘発腫瘍ＣＳＡ１Ｍに発現され，腫瘍拒絶を惹起し得る抗原（tumor rejection antigen：ＴＲＡ）に注目し，その免疫学的，化学的性状の解析及び精製を試みた。

［方法ならびに成績］

免疫は一貫して，試料を等量のcomplete Freund adjuvantと共に乳化し，100μℓをマウス仙尾部皮下に投与することにより行った。腫瘍拒絶抗原の免疫原性（ＴＲＡ活性）は，免疫の２週後，2×10^5個のＣＳＡ１Ｍ腫瘍生細胞を接種し，その後の腫瘍増殖の抑制によって評価した。

先ずＣＳＡ１Ｍ固形腫瘍より細胞膜画分と細胞質画分を分取し，各々同系ＢＡＬＢ／ｃマウスに免疫したところ，ＴＲＡ活性は主に細胞膜画分に存在した。そこで細胞膜画分を種々の界面活性剤を用い可溶化した。その結果，イオン性界面活性剤（Sodium dodecyl sulfate（ＳＤＳ），Sodium deoxycholate）

では，ＴＲＡ活性はほぼ100%回収されたが，非イオン性界面活性剤（Nonidet P40，Octyl－β－glucoside）では，可溶化画分へのＴＲＡ活性の回収率は20%程度であった。そこで以下ＳＤＳ可溶化画分を主に用いた。

次にＣＳＡ１M腫瘍のＴＲＡの特異性を検討した。ＳＤＳ可溶化ＣＳＡ１M細胞膜画分をＢＡＬＢ／ｃマウスに免疫し，種々の同系腫瘍を接種したところ，同じＲＳＶ誘発腫瘍ＣＳＡ９Ｆの増殖は完全に阻止したが，化学発癌剤誘発腫瘍Meth A，Colon 26及び放射線誘発腫瘍ＲＬ♂１の増殖は全く抑制されなかった。また逆に，ＣＳＡ９Ｆの細胞膜画分をＢＡＬＢ／ｃマウスに免疫すると，ＣＳＡ１Mの攻撃接種に対する強い抵抗性が誘導されたが，Meth AやColon 26の細胞膜画分にはそのような活性は検出されなかった。これらの結果より，ＣＳＡ１MのＴＲＡはＲＳＶ誘発腫瘍に共通して発現され，他の腫瘍に発現されない抗原であると考えられる。

次にＣＳＡ１MのＴＲＡの化学的性状について検討を加えた。ＳＤＳ可溶化ＣＳＡ１M細胞膜画分をproteinase Kで処理することによりＴＲＡ活性は完全に消失した。一方，ＣＳＡ１M細胞膜画分をglycosidase mixture（サザエ）で処理した後，ＳＤＳで可溶化したところ，可溶化画分のＴＲＡ活性はほとんど影響を受けなかった。以上より，ＣＳＡ１MのＴＲＡ活性はタンパク分子に担われることが示されたが，ＴＲＡ活性への糖鎖の関与は認められなかった。

さらに，ＳＤＳ可溶化ＣＳＡ１M細胞膜画分より，ＴＲＡを精製することを試みた。ＴＲＡ活性は20%飽和硫安で沈殿する画分に回収され，この画分を還元条件で，ＳＤＳを含む緩衝液で平衡化したSephacryl Ｓ－300カラムで分画した。その結果，ＴＲＡ活性は主に分子量50－90ＫＤのタンパクを含む画分に回収された。この分画をさらにpreparative ＳＤＳ－ＰＡＧＥで分画したところ，ＴＲＡ活性は56～68ＫＤのタンパクを含む画分に回収され，このＴＲＡの分子量は約60ＫＤと推定された。これらの精製操作により，ＴＲＡ活性は比活性で約18倍に精製された。

［総　括］

ＲＳＶ誘発マウス線維肉腫ＣＳＡ１Mの腫瘍拒絶抗原の免疫学的，化学的性状を解析し，その精製を試みた。その結果，１）ＣＳＡ１MのＴＲＡは主に細胞膜画分に存在し，ＳＤＳ等のイオン性界面活性剤により効率よく可溶化されること，２）このＴＲＡはマウスＲＳＶ誘発腫瘍の共有抗原と考えられること，３）このＴＲＡ活性を担う分子は，分子量約60ＫＤのタンパクであること，等が示された。ＣＳＡ１MのＴＲＡの分子量はＲＳＶの癌遺伝子産物（pp 60^{v-src}）と非常に近いことが明らかとなった。今後このＴＲＡ分子の精製を進めることにより，ＴＲＡとｖ－src産物の異同も含め，発癌とＴＲＡ発現の関連性を明らかにしていく上でも有用な知見がもたらされるものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

哺乳類由来のRous sarcoma virus（ＲＳＶ）誘発腫瘍には，同種ＲＳＶ誘発腫瘍間に共通で，しかもヴィリオン抗原とは異なる腫瘍拒絶抗原（ＴＲＡ）が存在することが知られている。しかし，その分

子レベルでの実体については，全く不明であった。

本研究ではＢＡＬＢ／ｃマウス由来ＲＳＶ誘発線維肉腫のＴＲＡの免疫学的，化学的性状を解析し，このＴＲＡがいわゆるＲＳＶ誘発腫瘍の共有抗原に属し，かつ分子量60ＫＤの膜タンパクであることを明らかにした。また，本研究は癌遺伝子の活性化とＴＲＡ発現の関連を解析するうえでも，有用な系を提供すると考えられる。

よって，本研究は医学博士の学位論文に値すると認定した。