

Title	MECHANISM OF MEMBRANE FUSION BY HVJ GLYCOPROTEINS
Author(s)	Nakanishi, Mahito
Citation	
Issue Date	
oaire:version	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/27703">https://hdl.handle.net/11094/27703</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・(本籍)	なか 中	にし 西	ま 真	ひと 人
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	5971	号	
学位授与の日付	昭和58年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科 生理学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	HVJによる膜融合の解析			
論文審査委員	(主査) 教授	柴岡 弘郎		
	(副査) 教授	岡田 善雄	教授	小川 英行

## 論文内容の要旨

本研究は、HVJ (Sendai virus) による細胞融合の過程で見られる膜融合現象を解析すること、さらにその結果を細胞工学的技法の基礎とすることを目的として進められた。本研究では、膜融合のモデルとしてジフテリア毒素のフラグメントAを内部につめたりポゾームと細胞膜との融合に焦点をあてて解析を進めた。フラグメントAは細胞膜の外にあれば毒性を示さないが、細胞質中に入るとEF2を不活化し毒性を示すので、りポゾームの細胞膜に対する融合能を細胞毒性という指標で見ることができる。本研究は以下の3部より成る。

### 1. 精製HVJ糖蛋白質と脂質から構成したりポゾームと細胞膜との融合。

精製したHVJ糖蛋白質 (F, HN) と脂質から表面にスパイク様構造を持つりポゾームを再構成することができた。この再構成は定量的で、F/HN (w/w) がウイルス外膜に近い時、細胞膜への融合活性が最大を示した。

### 2. HVJで処理した細胞とりポゾームとの融合

脂質のみから構成したりポゾームや、その表面にレクチンをつけて細胞膜への結合活性を持たせたりポゾームは細胞膜と融合できず細胞毒性を示さないが、細胞の側をHVJで処理しておくとう毒性を示すようになる。Endo-cytosisを介した毒素の侵入はHVJによって影響を受けず、ジフテリア毒素の細胞内侵入の阻害剤でもりポゾームの毒性は阻害されないで、この現象はりポゾームと細胞膜の融合がHVJの影響で起ったためと考えられる。

### 3. SSPE細胞とりポゾームの融合

変異麻疹ウイルスが持続感染して起るSSPE (亜急性硬化性全脳炎) 患者組織由来の細胞(SSPE

細胞) はリボゾームと融合しやすいことが知られているが、精製したHVJのHV蛋白質をリボゾームに組み込むことでその活性を50~200倍上昇させた。この融合現象をHNに対するモノクローナル抗体を使って解析した。

以上の結果から、HN蛋白質は単にシアル酸への結合活性だけでなく、Fとの協同的作用やシアル酸以外の部分への結合能を持つものと推測される。また、細胞膜がHVJの作用の結果、リボゾーム等他の膜系と非常に融合しやすい状態に変化することが実証され、SSPE細胞を細胞融合解析のモデルとして扱える可能性が示唆された。さらにここで示したリボゾームと細胞膜との融合は、高分子の細胞内への導入や膜移植、さらにSSPEの治療等細胞工学的技法として応用可能である。

### 論文の審査結果の要旨

HVJ (Sendai virus) による細胞の融合においては、ウイルス外被と細胞膜の融合 (envelope fusion) と細胞相互の融合 (cell-cell fusion) の2種の異った膜融合が存在することがMiyakeらによって報告されているが、中西君はリボゾームと細胞という簡潔な系を用い、この両者の融合を、リボゾーム内のジフテリア毒素のフラグメントAの細胞内導入という生理学的意味のはっきりした指標を使って研究した。

その結果、通常では起らない、リボゾームと細胞膜の融合が、(1)リボゾームに単離精製したHVJのenvelope 糖蛋白である F, HVを組み込ませた場合、(2)細胞をHVJで処理した場合というように、リボゾームまたは細胞膜のどちらかの変化により引き起こされることが明らかにされた。さらに亜急性硬化性全脳炎患者組織由来のSSPE細胞がリボゾームと結合しやすいことが知られているが、この結合しやすさが、SSPE細胞の膜がHVJによる細胞膜の変化に対応する変化をおこしていることにもとづく可能性が示され、さらにこの系を用いて、HVJのHN蛋白質が単にウイルスのシアル酸への結合部位以上の機能を持つことを示唆する結果を得た。

以上の結果は生きた細胞では、ほとんど進んでいなかった細胞融合における膜変化についての研究を大きく進めるもの、すなわち初めて膜変化を直接的に証明するもので、膜融合現象の解析や、リボゾームによる細胞工学的手法の開発等に大きく貢献するものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。