

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | STUDIES ON THE VIRUS-INDUCED FUSION OF HUMAN ERYTHROCYTE GHOSTS                   |
| Author(s)    | 関口, 清俊  |
| Citation     |   |
| Issue Date   |   |
| Text Version | ETD   |
| URL          | <a href="http://hdl.handle.net/11094/27735">http://hdl.handle.net/11094/27735</a> |
| DOI          |   |
| rights       |   |
| Note         |   |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

[ 7 ]

|         |   |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 蘭 口 清 俊   |
| 学位の種類   | 理 学 博 士   |
| 学位記番号   | 第 4 2 1 0 号   |
| 学位授与の日付 | 昭 和 53 年 3 月 25 日                                     |
| 学位授与の要件 | 理学研究科 生物化学専攻<br>学位規則第5条第1項該当                          |
| 学位論文題目  | 赤血球ゴーストを用いた細胞融合反応の解析                                  |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 佐藤 了<br>(副査)<br>教授 殿村 雄治 教授 岡田 善雄 助教授 浅野 朗 |

論 文 内 容 の 要 旨

HVJ(センダイウイルス)による細胞融合反応の分子機作を、細胞融合としては最も単純なヒト赤血球ゴースト系を用いて検討した。ヒト赤血球は、低張溶血して赤血球ゴーストにするとHVJによる融合活性を失うが、内部にウシ牛清アルブミン(BSA)などの高分子物質を封入することにより再び融合活性が回復することを見出した。この、BSA封入ゴーストの融合反応の諸性質を無傷赤血球と比較しながら検討した。その結果、(1)融合に必要なウイルス量は無傷赤血球に比べ約10倍ほど高い。(2)細胞膜間融合に先行するウイルス膜融合の能率も無傷赤血球に比べて低下している。(3)融合反応に伴って生じる膜内粒子の分布の変化(タラスター形成)の程度も無傷赤血球に比べると低い。以上の結果は、ゴーストではHVJに対する感受性が全体に低下していることを示すが、これは溶血操作の際に細胞膜の構造がかなり損傷をうけることに起因するものと考えられる。(4)融合反応の際、反応液中に種々の高分子物質を添加すると融合反応が著しく阻害された。無傷赤血球でも同様の阻害が観察されるが、阻害に必要な濃度はゴーストの場合に比べ10倍近く高く、これはみかけの両者の細胞内蛋白濃度の差によく対応する。BSAのほか、卵白アルブミンやデキストランなどの高分子物質を封入してもゴーストの融合活性が回復することと考えあわせ、細胞内外の高分子物質の濃度差が細胞融合反応に重要な役割を果していることが推定される。

次に、細胞融合反応における膜内粒子の分布の変化の役割について検討した。赤血球膜では膜内粒子の易動度や分布が膜の内側にゆるく結合したスペクトリン網目構造によって制御されているものと考えられているので、精製したスペクトリン抗体をゴーストの内部にBSAとともに封入し、その融合反応への影響について調べた。その結果、一連の融合反応の素反応のうち、凝集反応とウイルス膜

融合までは抗体によって影響をうけなかったが、細胞膜融合はほぼ完全に阻害されることがわかった。一方、抗体をパパイン消化して得たFabフラグメントではまったく阻害はみられなかった。また、融合がほぼ完全に抑えられている条件での抗体のスペクトリンへの結合比は、溶液中での抗原抗体反応の等量域での結合比にほぼ一致した。これらの結果は、抗体によってスペクトリン網目構造が架橋されることが融合反応の阻害に必要であることを示唆する。さらに、膜内粒子の分布を調べたところ、抗体を封入したゴーストではHVJを作用させたのちも粒子のクラスター形成はみられなかった。以上の結果は、膜内粒子のクラスター形成が赤血球の融合反応に直接関与することを強く示すものである。

### 論文の審査結果の要旨

HVJ (センダイウイルス) は赤血球を含む多くの動物細胞を融合させる能力をもつが、この場合の融合の分子機作は明らかでない。関口君の研究は細胞融合としてはきわめて単純なヒト赤血球ゴーストの融合系を開発し、これを用いてこの問題を解明しようとしたものである。

ヒト赤血球はいったん溶血させてゴーストにすると融合活性が失われてしまうが、関口君はゴースト内部にウシ血清アルブミンなどの高分子物質を封入すると融合活性が回復することを見出し、この系の一般的特徴を明らかにした。その結果、高分子物質封入ゴーストの融合効率がかなり低下していることを除けば、いろいろの点で無傷のヒト赤血球のHVJによる融合と基本的には同様に進行し、モデル系として適当なものであることが明らかになった。なおこのような封入ゴーストはHVJによる凝集とそれに続くウイルス膜と細胞膜の融合までの反応は、その効率において無傷赤血球と大差はないが、最後の細胞膜同士の融合効率が低下していることも明らかとされた。

赤血球の融合において細胞膜の膜内粒子がランダムな分布からずれてクラスターを形成することが知られている。一方、赤血球膜の膜内粒子の分布や動きは、膜の内側にゆるく結合しているいわゆるスペクトリン網目構造によって制御されていると考えられている。そこで関口君はスペクトリン抗体をウシ血清アルブミンとともにゴースト内に封入したところ、このようなゴーストはHVJによる凝集とそれに続くウイルス膜と細胞膜の融合は抗体を封入しないときと同様に行なうが、融合反応そのものと膜内粒子のクラスター形成はともに著しく阻害されることがわかった。一方抗体をパパイン処理して1価のFab断片にしたものでは、このような阻害効果が見られなかった。これらの結果は、抗体が膜の内側からスペクトリン網目構造を架橋したため、膜内粒子のクラスター形成が抑えられ、それによって融合が阻害されたことを示しており、クラスター形成が赤血球の融合に必須であることを強く示唆するものである。

これらの結果は細胞融合という細胞生物学上重要な現象の機作について大きな寄与をしたものであり、本論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。