

Title	HVJの溶血能に関する研究
Author(s)	保坂, 康弘
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28204
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	保 坂 康 弘 やす さか やす ひろ
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1 1 4 号
学位授与の日付	昭和 35 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科病理系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	HVJ の溶血能に関する研究
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教授 奥野 良臣 教授 釜洞醇太郎 教授 天野 恒久

論 文 内 容 の 要 旨

研究目的

HVJ は我国で始めて mouse から分離された virus であって Newcastle Disease Virus や mumps virus 及び Influenza virus と共に同じ myxovirus group に属するが、この中前三者は Influenza virus とはかなり性質が違いその違いの著しい例が溶血能を持つことである。この溶血能は、それ自身興味ある特性を持っているばかりでなくまた此等溶血性 virus を大量に感染させると、適当な細胞では、速かな融解や融合がみられ、而もこの場合の融解能や融合能は virus の溶血能と平行していることが見出されている。然し virus 溶血が細胞に及ぼす化学的变化に関しては virus のその他の性質、一例えば感染性(増殖性)とか、赤血球凝集能とかが比較的良好に解析されているのに反して殆どわかっていない、従って、これら virus の溶血能の化学的性状を明かにすることは、比較的大形の RNA 型 virus である myxovirus の特徴を更に解明するのみならず、此等 virus による細胞病変や virus 毒性の機序を知る上にも重要である。ここに HVJ を用い、その溶血が鶏赤血球に及ぼす化学的变化を磷脂質の性状を調べることによつて追求した。

材料及び方法

virus : 孵化鶏卵の HVJ 感染漿尿液を 22,000 回転、30 分で遠心精製したものをを用い、その量は 0.5% 鶏赤血球 0.5ml に対する凝集単位で表した。

鶏赤血球・磷脂質の paperchromatography : 10% 赤血球浮遊液 60ml に約 20,000 HA/ml の HVJ 24ml を加え、37°C で 120 分反応させた後、遠心して virus を含む上澄液を除き、残る溶血々球からメタノール:クロロホルムの混合溶媒で磷脂質を抽出、Lea 等の方法に従い silicic acid で impregnate した paper を用いて chromatography を行つた。各磷脂質の相対的量は化学薬剤による発色域を比較してきめた。

赤血球 Sphingomyelin の定量的解析 : 10% 鶏赤血球液 10ml に 8,000 HA/ml の HVJ 5ml を混ぜた反

応混合液を 37°C で一定時間後にとり出し、その中 1ml は溶血（放出ヘモグロビン量）の測定に、残りは一旦、冷 T. C. A. で処置した後、冷 T. C. A. 不溶物質からメタノール：クロロホルム（2：1）で磷脂質を抽出、此を二分して一つはそのまま全磷脂質量を測り、他は、この中の alkali-labile lipid 量を測って、その差額を sphingomyelin 量（alkali-stable-lipid）とした。（Schmidt 等の方法）

結 果

HVJ の溶血能は酵素的作用を示すが、他に酵素的溶血として知られているレシチン分解酵素とは違う、然し作用を受ける細胞側の物質としては、同じ磷脂質をとり上げ、赤血球磷脂質が HVJ の溶血によって受ける変化を調べた。

1. 溶血鶏赤血球の磷脂質を paperchromatogram で調べたところ sphingomyelin の著しい減少が見出された。溶血血球を除いた遠心上澄には sphingomyelin 含有物質が増加することはないので、この sphingomyelin の減少は分解によるものであることがわかった。
2. HVJ と鶏赤血球の反応混合液の全 sphingomyelin 量を経時的に定量すると、時間と共に減っていくが、sphingomyelin 以外の磷脂質には変化がなかった。そして sphingomyelin の減少は溶血の進行よりは遅れて進むことがわかった。また溶血と共に冷 T. C. A. 分割に磷脂含有物が増えてくるが、これは sphingomyelin 分解相当量より遙かに多く、分解産物との直接の関係は認められなかった。
3. 凍結融解によって HVJ の溶血能が高められた場合には、sphingomyelin の減少量が多く、Ca イオンで抑制された場合は少い、そして溶血能を失った HVJ の赤血球吸着融出だけでは sphingomyelin の変化は認められなかった。
4. virus 溶血以外の溶血—例えば蒸溜水による溶血では磷脂質の変化はみられなかった。

総括及び討議

HVJ の溶血の機序を知るため、溶血の鶏赤血球磷脂質に及ぼす影響を調べたところ他の磷脂質は変りがないが sphingomyelin の減少を伴うことが見出された。この sphingomyelin の減少は HVJ の溶血能に平行すること、溶血なしの単なる virus の血球吸着融出では見られないので、HVJ の溶血能に特有の変化であると思われる。然し、sphingomyelin の減少は溶血より遅れて進むことや、その後の検索でわかったことであるが、ヒトやモルモット赤血球では、HVJ による溶血は sphingomyelin の変化を伴わないので、この場合の変化は溶血の原因ではなくその結果と思われる。

論文の審査結果の要旨

Myxovirus group の中で、HVJ（Hemagglutinating virus of Japan）ウイルスを特徴づける一つの大きな性質が、その溶血能である。

岡田は著者らと共に、大量の HVJ によってマウスのエールリツヒ腹水癌細胞が融合して巨大多核細胞を作ること、そしてこの現象は、HVJ の溶血能に支配されることを見出した。これらの細胞病変の機構を解明するため、著者は HVJ の溶血能の一般的性質を詳しく調べて（第一報）、溶血能が酵素的作用をもつことに着目し、その化学的性状を追求した。

まず、他に酵素的溶血として知られる蛇毒のレシチン分解酵素による溶血とは違うことを認めたが、作用を受ける細胞側の物質としては、同じ磷脂質類をとり上げ、HVJ の溶血によって鶏赤血球磷脂質の受け

る変化を調べた。その結果は次の如くである

1. 溶血鶏赤血球の磷脂質を paperchromatogram で調べたところ Sphingomyelin の著しい減少が見出された。そして溶血々球を除いた遠心上澄には Sphingomyelin 含有物が増加することはないので、このスフィンゴミエリンの減少は分解によるものであることがわかった。

2. HVJ と鶏赤血球の反応混合液の全 Sphingomyelin 量を経時的に定量すると Sphingomyelin は時間と共に減っていくが、Sphingomyelin 以外の磷脂質には変化がなかった。そして Shingomyelin の減少の速さは溶血の進行よりは遅い。

また、溶血とともに、冷 TCA 可溶分割に磷脂含有物が増してくるが、此は Sphingomyelin 分解相当量より遙かに多く、分解産物との直接の関係は認められなかった。

3. 凍結融解によって HVJ の溶血能が高められた場合には Sphingomyelin の変化は大きく、Ca イオンで抑制された場合には少い。そして溶血能を失った HVJ の血球吸着、游出だけでは Sphingomyelin の変化は認められなかった。

4. Virus 以外のものによる溶血—例えば蒸溜水による溶血では、磷脂質の変化はみられなかった。

以上の結果から、HVJ による溶血鶏赤血球の磷脂質 Sphingomyelin の減少は、HVJ の溶血能に特有の変化であると思われる。

従来、動物ウイルスによる細胞膜の化学的变化に関しては、Influenza virus 吸着に伴うレセプター破壊 (mucoprotein 分解) だけしか知られていなかった。著者は HVJ の作用によって或る種の細胞—恐らくその細胞膜の磷脂質が分解すること及びこれが HVJ の溶血能に支配されることを発見した。この知見は HVJ による細胞融合 (巨細胞形成) や細胞融解の機作の解明に重要であるのみならず、広く一般のウイルス感染に伴う細胞病変の生化学的変化の解明にも役立つものである。そしてまたウイルス学にとってばかりでなく、細胞磷脂質の生物学的機能の面からも示唆にとむものである。