

Title	はしかウイルスの赤血球凝集性について
Author(s)	船橋, 修之
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28592
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	船 橋 修 之 ふな はし しゆう じ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 511 号
学位授与の日付	昭 和 39 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	はしかウイルスの赤血球凝集性について (主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 深井孝之助 教 授 釜洞醇太郎 教 授 奥野 良臣

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

はしかウイルスは近縁の牛痘ウイルスと共に myxovirus に似た形態を示すが、その赤血球凝集性は特定の種の猿赤血球によってのみ検出される。ここには検索の一環として、赤血球凝集性を左右する条件、及び凝集素の性状について実験を行なった。

〔実験方法〕

ウイルス材料：はしかウイルス豊島株を KB 細胞に 10 代以上継代し、20%牛血清加 YLH 培養の単層 KB 細胞に M. O. I. 1 の程度で接種し、培養液を 3%牛血清加 YLH とおきかえ、細胞病変効果が最高の時期に凍結保存した。このウイルス材料を低速遠心、カーボワックス (5000 又は 20M) 濃縮、或いは遠心濃縮して用いた。

赤血球凝集 (HA) 試験：ウイルス液の 2 倍階段稀釈列 (各管 0.4ml) に、1%血球 0.1ml づつを加えて混和、37°C、3~4 時間静置後、完全凝集の管底像を示す管の稀釈倍数の逆数を HA 価とした。

感染価測定：試験管培養 KB 細胞を用いて行ない、2 週間観察後、判定した。

血球凝集抑制 (HI) 試験：階段稀釈を行なった血清 0.2ml に 20HA 単位/ml のウイルス液 0.2ml を加え室温 1 時間放置後、1%血率 0.1ml を加え 37°C、3~4 時間静置し完全抑制を示す管の最大稀釈の逆数で抑制単位を表した。血清中の非特異抑制物質及び猿血球に対する凝集素は、カオリン処理と、5%猿血球による吸収によって除去した。

中和状態価 (NT) 測定：KB 細胞を用い 100TCD₅₀ のウイルスを 50%中和する血清量を単位とした。

〔実験成績〕

I はしかウイルスの赤血球凝集の条件

i) 赤血球凝集は PH 7.0-8.0 の間で一定の HA 価を示すが、PH 7.0 以下では PH の低下と共に

HA 価は低下する。

ii) 反応温度：4°C と 37°C での HA 価には差はないが、4°C では沈降に長時間を要する。

iii) 赤血球凝集に対する赤血球の感受性は、カニクイ猿で、ミドリ猿や赤毛猿にくらべて低く、同一ウイルス材料に対して前者では 128 以上の HA 価を示す猿が 3%，後二者では 8%，8/10 であった。高感受性赤血球（ミドリ猿）の HAnin の吸着効率は低感受性（カニクイ猿）の 2 倍である。

iv) 同一種内の猿に於ても感受性には個体差がある。感受性の違いは、猿血清中のはしかウイルスに対する抗体や、血球濃度によるものではない。

II CsCl 濃度勾配平衡遠心法による分析

遠心濃縮試料を比重 1.258 の CsCl 溶液中で 30000rpm, 48 時間（日立 40P 遠心器 RPS 40 ローター）遠心すると HA 活性の大部分は比重 1.215 を中心とした分割に、他の HA 活性は比重 1.190 に局在した。これらの HA 活性分割を更に CsCl 溶液中で再遠心すると、HA 活性はそれぞれの比重の所に回収され、二種の HAnin が存在する事を示唆する。この二種の HAnin の存在比率は継代細胞、ウイルス増殖の程度、収獲の時期等によって異なる。

遠心濃縮材料をエーテル TW80 処理したのち、CsCl 中で同様に遠心すると、HA 活性は比重 1.260 の分割に sharp な山をなす。

III HAnin のエーテル処理

遠心濃縮試料をエーテル処理後遠心すると HA 活性は中間層に集中し、ほぼ、全量が回収出来る。この際 Tween 80 が共存 (2mg/ml) すると、HA 活性は水層にとどまり、HA 価は 2～20 倍に増加した。エーテル処理、エーテル TW80 処理とも感染性を完全に消失させる。

IV HAnin の性状について

i) 熱耐性：遠心濃縮試料の HA 活性は安定であり、56°C, 40 時間では消失するが、4°C, 3 週間、37°C, 9 日間では不活性化しない。試料中には易熱性の HAnin と耐熱性の HAnin を含むものがあり、又エーテル TW80 処理によって得られる HAnin は易熱性である。

ii) トリプシン耐性：何れの方法によって得られた HAnin もトリプシンによって不活化される。

iii) HAnin は KIO₄ 処理で不活化される。

iv) UV 照射：遠心濃縮試料の HA 価は 40 分で 1/4 に、128 分で 1/8 に低下し、エーテル・TW80 処理材料では 128 分照射で 1/8 に低下する。

V エーテル処理 HAnin と未処理 HAnin を抗原として、恢復期血清の HI 価を比較測定すると、エーテル・TW80 処理 HAnin は 2～4 倍高い HI 価を示した。HI 価との間には双方共に逆比例の定量的関係がある。

エーテル・TW80 処理試料を遠心分割し、モルモットを免疫すると、HI 抗体は HA 分割での免疫群で良く上昇し、NT 抗体も同様である。

この HA 活性の高い分割は、抗血清中の HI 抗体及び NT 抗体を各々 77%, 63% 吸収した。

〔総括〕

はしかウイルス試料中の赤血球凝集活性は CsCl 濃度勾配平衡遠心にて、比重 1.119, 1.240 の 2 分割に分たれる。

エーテル TW80処理によってウイルス試料中の HA 活性は 2~20倍に増加し、その活性は CsCl 中では比重1,260を示す。これらの処理を行なった HAnin と無処理の HAnin との同一血清での HI 価は常に処理された HAnin に於て 2~4 倍高く示される。

エーテル・TW80 処理 HAnin は、又、その耐熱性、UV耐性によって無処理のものとは異っている。

以上の事実は、はしかウイルスの赤血球凝集性は、本来はウイルス粒子の荷なう性質であるが、エーテル TW80 処理によってウイルス粒子から遊離する事を指示している。無処理試料中の比重1.240のHAnin は可溶性として感染細胞に介在するものであろう。

はしかウイルスの赤血球凝集が特定の猿の種及び個体に 限られることが赤血球自体のウイルスとの結合能力の差による事、更に又、エーテル・TW80処理 HAnin によって HI 抗体がより敏感に検出される事、及び中和抗体産生抗原が HAnin 分割に伴って存在する事等は興味ある事実である。

論文の審査結果の要旨

この論文は近年予防医学的に重要性を加えて来たはしかの疫学に寄与することを目的とし、はしかウイルスの性状を知る一環としてこのウイルスの猿赤血球凝集性に着目し、ウイルス赤血球凝集素の性状を明かにせんとしたものである。

得られた結果は

1) はしかウイルスの赤血球凝集反応は、用いる猿赤血球の種間および個体間の差に注意し、媒質のpH 7.0-8.0, 反応温度37°C, 3時間判定の条件を用いれば、再現性あり、かつ又定量性も高く測定することができる。

2) はしかウイルス感染材料中には、CsCl 平衡遠心による分析の結果、比重1.240および1.190の2種の赤血球凝集性粒子が含有され、感染性は比重1.190の分画に存在し、この分画はウイルス粒子分画である。

3) 比重1.190の赤血球凝集素(ウイルス粒子)はエーテル・Tween 80 処理によって感染性を失うが、赤血球凝集性は2~20倍上昇する。比重1.240の赤血球凝集素の活性は同様の処理によっても変化しない。(遊離赤血球凝集素)

4) 比重1.190の赤血球凝集素は、エーテル・Tween 80 処理の結果、比重1.260を示すことが CsCl 平衡遠心の結果明らかになった。この際、抗原性の変化はなく、ウイルス粒子はエーテル・Tween 80 処理によって分割され、遊離した赤血球凝集素がえられることが推論された。

5) 赤血球凝集性はトリプトシンおよび KIO_4 によって不活化されるが、熱および紫外線に対しては比較的安定である。

6) エーテル・Tween 80 処理によってウイルス粒子から遊離された赤血球凝集素の CsCl 遠心分画でモルモットを免疫すると、分画の赤血球凝集活性度に比例して凝集抑制(HI)抗体および中和抗体が産生された。

7) 遊離赤血球凝集素を抗原として用いれば、回復後患者血清中の血球凝集抑制抗体価(HI抗体価)はウイルス粒子自体を抗原として用いた場合よりも2~4倍高く、敏感に定量される。

以上船橋は、はしか疫学上有用な成果として、赤血球凝集およびその抑制反応の信頼性ある実施条件を確立し、更に抑制反応の抗原としてエーテル・Tween 80 処理（遊離）赤血球凝集素を用いれば、より敏感に抗体を検出できることを証明した。

また、はしか感染材料中に存在する比重を異にする2種の赤血球凝集素の一方はウイルス粒子であり、他の一方は遊離赤血球凝集素であって、ウイルス粒子のエーテル・Tween 80 処理によって赤血球凝集素が遊離され、一個のウイルス粒子はその表面に20個以上の凝集素を保有することを証明し、はしかウイルスの構造およびその赤血球凝集素の本態に関しての多くの知識を得ることに成功した。又、赤血球凝集素免疫によって凝集抑制抗体と共に中和抗体も産生されることは興味ある点であり、はしかの防疫上注目すべきであろう。

以上の結果は、はしかウイルスの性状に関する数少い報告の中でも有用なものであり、かつ又ははしかの疫学の展開のためにも重要な基礎をあたえるものであって、ウイルス学およびその応用分野に貢献する所大なるものがあると考えられる。