OUKA
Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 多形核白血球の抗細菌性物質 : Leucozyme Aβ |
| Author(s) | 田中, 修二 |
| Citation | 大阪大学, 1964, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/28722 |
| 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

【 6 】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 田中修二（たなかしゅうじ） |
| 学位の種類 | 医学博士 |
| 学位記番号 | 第 579 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和 39 年 7 月 14 日 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科病理系<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | **多形核白血球の抗細菌性物質—Leucozyme Aβ—** |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 天野 恒久　(副査) 教授 深井孝之助　教授 米田 正彦 |

## 論文内容の要旨

〔目　　的〕

細菌に対する宿主の自然抵抗性の機構の中で宿主の食細胞，とりわけ多形核白血球によってなされる抗菌作用が一つの重要な役割を果すことに注目し，その様な作用を in vitro で再現すると共に，その生化学的機作を追求することを目的とする。

〔方法並びに成績〕

モルモット多形核白血球を滲出液の形で腹腔より採取し凍結乾燥して保存する。このものからまず中性溶液で抽出を行なって後その残渣を醋酸々性で抽出する。この抽出液は，非病原性ブドウ球菌（Staphylococcus epidermidis）に対して殺菌作用を有するが病原性ブドウ球菌（Staphylococcus aureus）に対しては作用しない。前者に対する作用はこの他にグラム染色性が変化し，抽出液を作用させると次第にグラム陰性になり，かつ菌の形も変化し遂には溶菌する。菌浮遊液の濁度は低下し菌の呼吸は停止する。この様な活性物質を Leucozyme Aβ と呼ぶことにする。

Leucozyme Aβ 活性は中性では 100°C 10分の加熱に耐え，凍結保存にも比較的安定である。透析により失活せず Sephadex G-75 による分画では void volume（Vo）の直後に沪出され，このものがかなり大きい分子であることを暗示する。

硫安による塩析では 0.6—1.0 飽和で沈澱する。粗抽出液はかなりの量の Lysozyme 活性を含んでいるがこれは塩析では主として 0.4—0.6 飽和で沈澱し，一部は 0.6—1.0 飽和画分にも存在する。又 Sephadex G-75 では Leucozyme Aβ 活性よりおくれて沪出され相互に異なる画分を作る。Staphylococcus epidermidis と同定され，しかも Lysozyme に軽度に感受性のある菌株，並びにその Lysozyme 耐性 mutant を用いて比較するとこの関係は一層明瞭である。

粗抽出液を硫安で塩析し，沈澱を十分透析して後，燐酸カルシウム・ゲルによる脱吸着を試みて得

た画分は粗抽出液に対して，比活性に於いて約60倍の上昇をみる。活性の測定は，Staphylococcus epidermidis に対する殺菌作用による。

Cohn 及び Hirsch（1960）の方法に準じて多形核白血球をその細胞成分に従って分画し，各画分を前述の方法で抽出したところ，Leucozyme Aβ 活性は白血球顆粒画分に存在する。

なお，この物質は病原性ブドウ球菌，肺炎球菌，連鎖球菌，大腸菌，豚コレラ菌等に対しては活性を持たず，非病原性ブドウ球菌（Staphylococcus epidermidis）にかなり特異的に作用するものの様である。

〔総　　括〕

モルモット多形核白血球より，非病原性ブドウ球菌に対して殺菌作用があるが病原性ブドウ球菌に対しては作用を持たない物質を抽出し，これを Leucozyme Aβ と名づけると共に，その性状のいくつかを明らかにした。この様な物質の存在は，細菌に対する宿主の自然抵抗性に関して白血球が重要な役割を果している事実と併せ考えると甚だ興味深いものがある。

## 論文の審査結果の要旨

細菌感染に対する宿主の自然抵抗性の機構に於いて，宿主の喰細胞の果す役割は古くから認められており，喰細胞のかかる機能は喰細胞中に何らかの抗菌性物質が含まれていることに起因するという考え方が有力である。

著者は著者の属する細菌学教室に於いて，上述の視点からなされた一連の研究のうち特に Leucozyme A と名付けられた白血球抽出液に含まれて居た二つの抗細菌活性が，抽出法を変えることにより，別々の画分として抽出されることを見出し，そのうち抗葡萄球菌作用を示す画分を，改めて Leucozyme Aβ と命名すると共に，本物質の精製，白血球中の所在部位並びに葡萄球菌に対する作用機構の解明を試みている。

まず，白血球の粗抽出液中には Lysozyme 活性が大量に含まれることが，Leucozyme Aβ の作用機構の解明に混乱を生じさせる可能性を考慮し，硫安および燐酸カルシウム・ゲルを用いて粗抽出液の精製を進め，Leucozyme Aβ の比活性に於いて約60倍の上昇を得ると共に，この画分に Lysozyme が全く含まれていないことを明らかにしている。このことは，Leucozyme Aβ が Lysozyme とは関係なく単独に作用する活性物質であることを証明するものである。

Sephadex G-75 による gel filtration でも，この両活性は，明瞭に分離され，上述の結論を再確認すると共に，Leucozyme Aβ が Lysozyme より更に大きい分子で，少なくとも分子量5～6 万程度のものであるとの推論が得られている。

Leucozyme Aβ の作用により菌の呼吸は直ちに停止する一方，生菌濁度の減少は比較的軽度に止り，この時なおグラム陰性に染る構造物を残している等の事実から，本物質の葡萄球菌に対する作用部位は，おそらく cell wall ではないと考えて，更に追求を進め，本物質により Protoplast は溶解すること，並びに本物質作用後の電子顕微鏡的観察では cell wall が残存していることを確認するに

至り，Leucozyme Aβ の作用部位は cell wall にはなく，Protoplasmic membrane にあり，呼吸停止やグラム陰性化は二次的変化であるとの結論に達している。

一方，白血球の Subcellular fractionation により，Leucozyme Aβ は，白血球の顆粒画分に存在することが明らかにされ，in vivo に於ける本物質と細菌との接触に関して示唆を与えている。

本論文は白血球の抗菌物質，Leucozyme Aβ の作用点を cell level で明らかにしたもので，喰細胞による生体の自然抵抗性を in vitro に於ける生化学的現象として捉え，その機構の一端を明らかにしている点で重要な意義があるものと考える。