The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	リューコザイムCの本態
Author(s)	尾崎, 誠
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28914
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【15】

氏名・(本籍)	尾崎　誠（おざき まこと）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 833 号
学位授与の日付	昭和41年1月27日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**リューコザイムCの本態**
論文審査委員	(主査) 教授 天野 恒久 (副査) 教授 川俣 順一　教授 藤野恒三郎

論文内容の要旨

〔目　　的〕

モルモット多核白血球中に，多くのグラム陰性菌を庶糖高張液中で Spheroplast に変化せしめる活性物質の存在することはすでに天野，深山らによって明らかにされ，leucozyme C と呼ばれて来た。本研究はこの活性物質の諸性状，細胞内分布，作用機作等をより明らかにするために行なわれたものである。

〔実験結果〕

1) 以前より用いられていた leucozyme C 標品中に微量に存在していた lysozyme を gel-filtration で完全に除いたところ大腸菌を Spheroplast に変化せしめる能力が失なわれていた。しかしこの標品に卵白 lysozyme 又は白血球 lysozyme を加えることにより活性が回復するので，leucozyme C が活性を示すためには lysozyme の共存が必要であることが証明された。

2) この活性物質の細胞内局在を知るため白血球を0.34M庶糖液中で破壊し，分別遠沈により，核，顆粒ーミトコンドリア，microsome の各分画に分け，その中の leucozyme C 活性を調べたところ，主として microsome 分画に活性が局在することが明らかになった。又この活性物質を可溶化する試みはいずれも不成功に終った。

3) 本活性物質を大腸菌細胞壁と混合し，10分後遠沈し細胞壁のみを落し上清の活性を調べたところ，活性が消失していた。これは活性物質が細胞壁に吸着され，沈渣に行ったからである。

4) この活性物質の性状を知る手がかりとして各種酵素による消化を行なった。Trypsin 及び phospholipase A により活性が失なわれ，DNase, RNase では影響がみられないので，本物質は蛋白部分と燐脂質の部分をもち，そのいずれもが活性に必要であり，恐らく膜構造由来のものであろうと想像される。

5) 本物質は以前より，溶液状態では易熱性で低温でも不安定であることが知られていたが，蒸溜水に本物質を浮遊すると，100°C10分の加熱に耐え，0°Cで10日間安定である。

6) 各種酵素阻害剤の影響を調べてみたが Dicoumarol が M/4000以上の濃度で leucozyme C 活性を阻害することがわっかた。

7) Dicoumarol はミドコンドリアのＡＴＰ依存性の Ca^{++} のとり込みを阻害することが知られているので leucozyme C に対する Nucleotide の効果をしらべたところ ATP, ADP, GTP, CTP, UTP, いずれも leucozyme C 活性を促進せしめた。AMP は無効であった。

8) leucozyme C の作用機作が，金属イオンの能動的とり込みにあるのでないかと考え，金属イオンの効果を調べたところ，Ca^{++} Mg^{++} Fe^{+++} 等のイオンはかなり低濃度まで leucozyme C 活性を阻害した。しかし leucozyme C 標品の中に含まれている ATPase 量は少なく，Dicoumarol による阻害もＡＴＰで回復されないので，ＡＴＰによる活性促進の原因を能動的な金属イオンの吸着によると考えるのは無理である。又， Ca^{++}, Fe^{+++} Dicoumarol を反応進行中に反応液中に加えた場合 Ca^{++} では直ちに Spheroplast の形成が止るが Dicoumarol, Fe^{+++} では Spheroplast 形成がつづいた。このことは Dicoumarol, Fe^{+++} は leucozyme C が細胞壁に吸着する段階を阻害するものと考えられる。一方，leucozyme C を Ca^{++}, Mg^{++}, Fe^{+++} 等と前もって一定時間反応させ，ついで菌を加え活性を見る。後の反応系では先に加えられた金属イオンは十分に稀釈され阻害効果を示さない濃度である。しかし，前もって金属と反応させた標品は稀釈によっても活性を示さない。この不活化された leucozyme C に ATP を加えることにより活性を回復することが出来る。このことは金属イオンは leucozyme C に吸着し，単なる稀釈では解離しないが，ＡＴＰは吸着した Ca^{++}, Mg^{++} を解離し leucozyme C を再活性化しうることによると考えられる。Fe^{+++} による阻害はＡＴＰによる回復の程度が弱い。又 Dicoumarol による阻害では ＡＴＰ による再活性化は全く見られない。このことは Fe^{+++}, Dicoumarol は，Ca^{++}, Mg^{++} と異なり，leucozyme C の吸着段階の阻害であると考えればよく説明がつく。

〔結　　論〕

以上の事実より leucozyme C は白血球細胞膜又は phagocytic vacuole 由来の lipoprotein で，菌体表面より Ca^{++}, Mg^{++} を吸着し，細胞壁を lysozyme 感受性にし， lysozyme の共存の下で菌を Spheroplast に変化せしめる活性物質である。

論文の審査結果の要旨

生体の感染防禦機構に白血球が重要な役割を果しているとは周知の事実である。当教室では多核白血球，大喰細胞，血小板などから各種の殺菌性，溶菌性物質を抽出し，生体内でみられる現象を，無細胞系として試験管内において再現し，その作用機作を明らかにすべく研究が続けられて来た。leucozyme C もかかる一連の研究において発見された，多核白血球中の，グラム陰性菌に対して溶菌作用をもつ活性物質であった。この様な活性物質の作用機作を解明することは白血球内における溶

菌物質の果す役割を理解する上において，重要な意義を持つものと考える。しかし，グラム陰性菌の表面構造の複雑さ，leucozyme C 標品の不安定さ等の理由のためその作用機作の本態を解明するまでには至らなかった。

1　本研究はかかる目的で行なわれたもので，先ず leucozyme C を精製，安定化せしめることから始めた。leucozyme C を gel-filtration と超遠心法を用いて精製し，蒸溜水中で安定な，白血球中の他の抗菌物質 leucozyme Aα, lysozyme を含まない leucozyme C 標品を得るのに成功した。又この標品を用いて，leucozyme C が活性を示すためには lysozyme の共存が不可欠であることを示した。

2　白血球内における leucozyme C の分布を分別遠心法を用いて調べ，それがミクロソーム分画に局在していることを決定し，又 trypsin, phospholipase A, によりその活性が破壊されることから，leucozyme C は膜構造をもつものと考えた。このことは白血球の膜構造の生理学的意義に新しい知見を加えるものである。

3　大腸菌細胞壁を用いて，この様な活性を有する particle が，細菌細胞表面に吸着することが証明されたが，leucozyme C 活性は金属イオンにより強く阻害され，一方，各種 nucleoside triphosphate により促進されること などの事実から， leucozyme C 活性の本態は細菌細胞壁に吸着した leucozyme C が菌体表面の二価の金属イオンを chelate することにあることを示した。

著者は，これらの研究より leucozyme C の作用機作を明らかにし，同時に白血球内 lysozymeのグラム陰性菌に対する役割をも明らかにした。白血球内において leucozyme C の果す役割を考える時これが特にグラム陰性菌の侵襲に対し，生体の防禦機構に重要な役割を果していることは明らかであり，この研究は感染発症機作の解明に関する新しい知見を加えたものと言える。