OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	CORD FACTOR（結核菌毒性糖脂質）のin vivoでの肝ミクロゾームに及ぼす影響
Author(s)	福山, 興一
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30438
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

【10】

氏名・(本籍)	福山興一
学位の種類	医学博士
学位記番号	第2329号
学位授与の日付	昭和46年4月30日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	CORD FACTOR(結核菌毒性糖脂質)のin vivoでの肝ミクロゾームに及ぼす影響
論文審査委員	(主査) 教授 山村雄一 (副査) 教授 坂本幸哉　教授 北川正保

論文内容の要旨

〔目的〕

結核菌毒性糖脂質であるcord factor (trehalose-6, 6′-dimycolate) の肝ミトコンドリアの膜系に及ぼす影響については、最近加藤によりcord factorがミトコンドリアの膜構造を破壊し、ミトコンドリアの呼吸と酸化的燐酸化の機能的な減少を来すことが報告されている。しかし、肝細胞中の他の膜系に及ぼす影響については未だ不明であり本研究では肝のミクロゾーム特に粗面小胞体に及ぼす影響について研究した。

〔方法ならびに成績〕

実験動物としてはddOマウスを用い、結核菌$H_{37}Rv$よりNollらの方法により抽出したcord factor 100μgをBayol F 0.1mlに溶解し、マウス腹腔内に注射し、48時間後に屠殺し実験に供した。対照としては無処置マウスを用いた。

実験方法は屠殺したマウスより速やかに肝を取出し、氷冷した0.25Mショ糖液で洗い、沪紙でよくぬぐい9倍量の0.25Mショ糖、0.05Mトリス塩酸緩衝液(pH7.8)、10^{-3}M $MgCl_2$溶液中でガラスホモジナイザーを用いてホモジナイズした。ホモジェネートはBeckman L 2超遠沈機を用いNo.40ローターで5,000×g 10分間遠沈し、細胞残渣、核及びミトコンドリアを除いた。この上清をpost-mitochondrial supernatantとし、このsupernatant (sup) 2*ml*を28*ml*の10～30%ショ糖濃度勾配(含0.05Mトリス塩酸緩衝液10^{-3}M $MgCl_2$ pH7.8)上に重層し、swinging bucket typeのローターS W25.1で58,000×g 3時間遠沈、遠沈後チューブの底に孔をあけ、10滴(約0.8*ml*)づつサンプルを滴取した。超遠沈パターンは紫外部吸収260mμで読取り記録した。

はじめに、無処置マウスとBayol F 0.1*ml*を腹腔内に注射し48時間経過したマウス肝のpost-mitochondrial sup. の超遠沈パターンを比較した。両者には差が見られなかったので以後無処置マウス

を対照として使用した。

対照の超遠沈のパターンの型から、画分を大きくA・B・C・DとSに分け、その属性を知るため次の実験を行った。なお画分Dについては、細菌の遊離リボゾームと比較遠沈の結果、ほぼ80Sに相当するリボゾーム画分と考えられた。まずC^{14}－methyl choline chlorideを0.5μCマウス腹腔内に注射し、30分後に屠殺し、超遠沈分画後、画分ごとに回収し、そのphospholipid中の単位タンパク当りの比放射能を測定した所、画分Bに最も高い比放射能が得られた。Cholineの短時間の取込の性格上、画分Bが粗面小胞体を最も多く含む画分と考えられた。ついでpost-mitochondrial sup.をデオキシコール酸ナトリウム(DOC)又はリボヌクレアーゼ (RN ase)で0℃、15分間処理し、超遠沈パターンを取った。この実験ではDOC処理したものでは、画分A・Bが著明に減少し、画分C・Dが著明に増加した。RNase処理のものは画分A・Bには何等の変化を示さずに、画分Cが減少し、画分Dが増加した。以上のことから、画分Bは主として粗面小胞体、画分Cは遊離ポリゾーム、画分Dは遊離モノリボゾームより構成されると考えられた。ついでcord factor 100μgを腹腔内に注射し、48時間後に屠殺したマウス肝の超遠沈パターンを検討した所、画分Bの著明な減少と画分C・Dの著明な増加が見られた。このことからcord factorは、粗面小胞体を崩壊させ付着リボゾームを遊離リボゾームにさせていることが判った。このcord factorの作用の特異性を見るため、結核菌に含まれる他の糖脂質であるarabinose mycolateをマウス腹腔内に注射し、48時間後の変化を見た所、100μg更に1000μgを使用したものでも、対照と全く差のないことが判明し、cord factorの特異性即ちtrehaloseを有するglycolipidの特異性が示された。更に定量的な検討のため、肝をBlobel らの方法で分画し、膜付着リボゾームと遊離リボゾームを得たがcord factorを注射したマウス肝では、対照にくらべ膜付着リボゾームの減少と遊離リボゾームの増加が定量値の上からも対応していることが認められた。

〔総　括〕

結核菌毒性糖脂質であるcord factorの肝ミクロゾームに及ぼす影響について検討した。

cord factorを腹腔内に注射したマウスでは肝において、粗面小胞体が著明に減少し、遊離リボゾームが著明に増加することが、濃度勾配遠沈パターン上から判明した。更にBlobel らの方法により膜付着リボゾーム、遊離リボゾームを分画し、その定量を行い、定量的な増減を確認した。以上のことからcord factorのin vivoでの作用として、肝において粗面小胞体を崩壊させその結果付着リボゾームが遊離リボゾームになることを示した。

論文の審査結果の要旨

結核菌毒性糖脂質(cord factor)がin vivoにおいて、マウス肝ミクロゾームに作用し、その粗面小胞体の構造を破壊し、膜付着リボゾームを遊離させ、遊離リボゾームを増加させることをシヨ糖濃度勾配超遠沈法により示した。更に確立された手法であるBlobel らのシヨ糖重層超遠沈法によって

膜付着リボゾームと遊離リボゾームの増減を定量的に示したことはcord factor の生物学的作用を解明する上に有用であり、結核症の病態生理の一部を明らかにすることに寄与する論文であると考えられる。