



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | HVJ感染初期に誘発される細胞膜のパニックとその解除：細胞膜レセプターの生物学的活性を指標とした解析   |
| Author(s)    | 橋本, 泰三   |
| Citation     | 大阪大学, 1976, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/31567">https://hdl.handle.net/11094/31567</a>  |
| 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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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

### 【3】

|         |  |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 橋本泰三   |
| 学位の種類   | 医学博士   |
| 学位記番号   | 第 3569 号   |
| 学位授与の日付 | 昭和 51 年 3 月 25 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  | HVJ 感染初期に誘発される細胞膜のパニックとその解除<br>—細胞膜レセプターの生物学的活性を指標とした解析— |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 岡田 善雄<br>(副査)<br>教授 北川 正保 教授 坂本 幸哉            |

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

ヒトを含めた多細胞個体を構成する器官は、個々の細胞が見事に組織化された集合体である。単離細胞の接着に始まる種々の生物学的必然性を具体的に認識しようとする立場をとる細胞の社会学的研究は、今後、種々の病理組織学的変化の必然性を考える上で有効な役割を果たしてくるものと考えられる。この立場での主役として細胞膜の動態を把握する重要性は論をまたないところである。この問題に迫る一つの恰好のシステムとして、ウィルス—宿主細胞の系をとり上げ、その相互作用の中から細胞膜の動的性格を認識しようと試みたのが本研究である。

#### 〔考え方〕

1970年以来、細胞膜の *dynamic state* とか、*membrane fluidity* (膜の流動性) という言葉が盛んに用いられるようになってきた。これは、細胞表面糖鎖を、レクチン或は抗体で修飾すると、或る種類の細胞では糖鎖が動くという事実に基づいている。

細胞に HVJ が反応した場合には、之等よりももっと本質的な修飾を細胞膜は受けることになる。

①HVJ のレセプターは、シアル酸を持つ糖鎖である。HVJ 吸着後、ウィルス粒子表面に存在するシアリダーゼによってシアル酸を遊離し、そのレセプターとしての機能を失う。

②HVJ 外膜が細胞膜と融合し、その結果として、ウィルス外膜由来の糖蛋白が細胞膜に植込まれる。このように修飾された細胞膜は、機能的にも何にか変化を受けていてよさそうである。

#### 〔方法と成績〕

①エールリッヒ腹水癌細胞 (ETC) 表面には、無数のウィルスレセプターが分布しており、一細胞当

り HVJ を約17,000個吸着させることができる。ETC を約 100 個のウイルス（最大吸着量の約0.7%）で37° 30分処理すると、細胞膜全体が変化を起こし、細胞表面レセプターの数ほとんど減少しないにもかかわらず、吸着したウイルスが感染、或は細胞融合反応のステップを進むことが出来なくなる事が確認された（抵抗性の獲得）。

以上を表に従って説明する。

ETC に 100HAU の HVJ を加え、0° で 5 分後（この条件下で一細胞当たり約100個のウイルス粒子が吸着している）一方は37° で30分間、他方はコントロールとして 0° で30分間インキュベーションをつづける。30分経た時点で両者共に2000HAU の HVJ を加えると、どちらもウイルスを十分吸着させ、コントロールでは大きな細胞凝集塊を認めることができるが、いったん37° で処理した方は、もはや細胞凝集塊を作らなくなっている。これを更に37° 30分処理すると、コントロールでは細胞融合反応、NaN<sub>3</sub>存在下での細胞融解反応、共に認められるが、37° で処理を行なったものでは両反応とも観察できなくなっている。

②抵抗性を獲得した ETC は数時間培養すると、ウイルス感受性になってくる。この間に、細胞膜に植え込まれたウイルス外膜由来の糖蛋白の細胞表面からの除去反応が進んでおり（細胞内への *endocytosis*）感受性になることとこの除去反応とは相関している。

③レセプターとウイルスの相互反応でシアル酸が遊離され、レセプター機能の失活することがよく知られている。

添加ウイルス濃度をいろいろ変えて、ETC-HVJ 反応に関係する 0° での細胞凝集反応、37° でのシアル酸遊離反応、細胞融合反応、NaN<sub>3</sub>存在下での細胞融解反応を指標に、その相互反応を調べたところ、シアル酸遊離反応のみが 100HAU で *max* に達し、以上プラトーとなる。その他の反応は 100 HAU～2000HAU にわたって上昇を続ける。

以上の結果は、HVJ レセプターとして、シアル酸を遊離する型（シアル酸遊離型）と遊離しない型（シアル酸非遊離型）の 2 種類の存在を推定させるものであり、後者の方が有効なレセプターであると思われる。

一方、100HAU の HVJ で処理後、数時間培養でウイルス感受性に戻した細胞に HVJ を反応させると、凝集反応、融合反応、融解反応は既に観られるのに、シアル酸の遊離は全く無いことが観察された。

結局、シアル酸非遊離型レセプターが感染、融合に必要なレセプターであるらしい。シアル酸遊離型レセプターは感染、融合には進まないレセプターと考えてよさそうだ。

〔現象全体の解釈〕

ウイルス外膜の融合を含む反応で引き起こされた変化がその局所から周囲に拡がって（拡がる速度 37° > 30°）細胞全体が異常な性格を持つようになり、正常なレセプターが膜表面に分布しているにもかかわらず、レセプターとしての正常機能を発揮しないようになる。多分、細胞膜を裏打している蛋白とレセプターとの相互関係に変化がおこっていると推定される。この細胞を培養すると、移植されていた異種糖蛋白が細胞表面から除去され、膜の正常への復帰（裏打蛋白を含めて）が進み、再びレセプター機能が元へ戻ると考えられる。培養下で勿論糖鎖の合成がおこっているであろうが、これが

主役とは思われない。

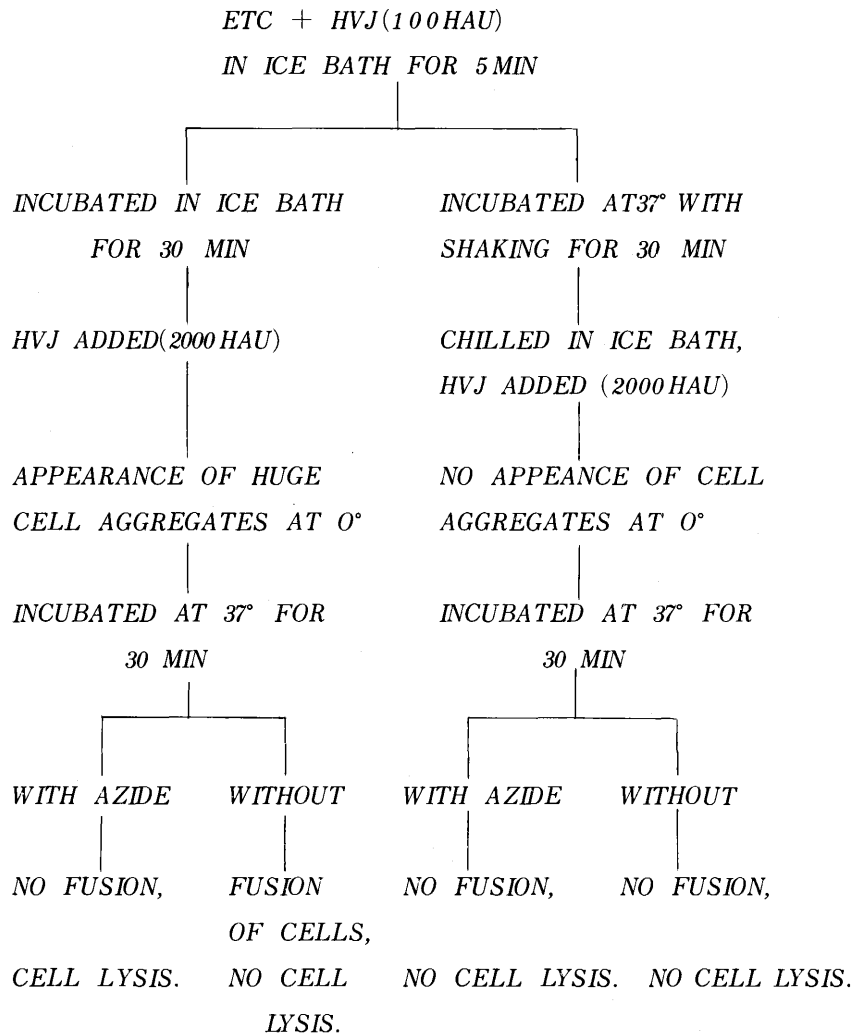
[総括]

①最大吸着量の約0.7%のウイルス粒子を用いて37°で処理することにより ETC 細胞膜面は全体として修飾され、ウイルスによる細胞膜の変化に抵抗性を示すようになる。

この現象はウイルスレセプターの減少といった *static* なレベルの問題ではない。おそらく膜の *dynamism* に直接関係した現象と考えられる。

②HVJレセプターとして、シアル酸遊離型とシアル酸非遊離型の2種類がある。後者が感染、融合等に必要なレセプターと考えられる。

③抵抗性という現象は、ウイルス外膜と細胞膜の融合によってもたらされるシアル酸非遊離型レセプターの正常機能失活という形でとらえることが出来る。その解除は、ウイルス外膜由来の異種糖蛋白の除去と相関している。



## 論文の審査結果の要旨

ウイルスの宿主細胞への感染初期過程については、〔ウイルスの吸着〕→〔侵入〕→〔外殻構造の解離〕→〔ウイルス遺伝子の露出〕という大まかな考え方の下ですでに解決済み、と一般に理解されている現象であった。橋本氏の研究は、1970年に生まれた生体膜の膜流動性をその生物活性と対応させようとする新しい思想の上に立って、HVJウイルスの感染初期に、ウイルス外膜の細胞膜への組込みを引金として宿主細胞膜にある種類のパニックが誘起されることを明らかにした。この現象は一面では、感染ウイルスの宿主細胞占有—2次感染への抵抗性獲得—を許す機構に細胞膜の変化が関与している事を示したものである。がもっと重大なことは、細胞膜のパニックがウイルス外膜融合部位から細胞膜全体に波動のように拡がり細胞膜全体が変化をうけるようになること、及びこのパニックが約6時間の培養で、細胞表面糖鎖の大きな変化なしに回復することを示したことである。これは細胞膜の裏打ちタンパクがこのパニック及びその回復に重大な役割をもつことを示唆しており、非常に興味深い。

以上、橋本氏の論文は大学院卒業論文として満足すべきものと判断できる。