

Title	BCG細胞表層成分の段階的分離、および得られた成分の免疫学的性状に関する研究
Author(s)	下野, 勉
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31930
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

[5]

氏名・(本籍)	下の野勉
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 3973 号
学位授与の日付	昭和 52 年 4 月 22 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	BCG細胞表層成分の段階的分離、および得られた成分の免疫学的性状に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 小谷 尚三 (副査) 教授 土谷 裕彦 教授 鈴木不二男 助教授 中村 亮 講師 長谷川 清

論 文 内 容 の 要 旨

細菌の、見方によれば全“Social” life (Tomasz) が依存している細胞表層部の構築と機能、ならびにこれら両者の関連は、病原細菌学の立場からも、また細菌を生物一般のモデル細胞として取り扱う観点からも、興味のある、しかも多くの実りが期待される研究対象である。さて、細菌細胞表層研究の主要な部分は、表層を形作る構造単位あるいは成分を、本来の特性を損うことなく、分別、純化することに始まる。この研究では、菌令のそろった材料が得難く、また疎水性の成分を多量に含み、遠心による分別がむずかしいなどの理由で、表層研究が特に立ちおけているミコバクテリア (BCG) を研究対象として選び、その細胞表層構成成分を段階的に分別、採取し、得られた画分の化学的および免疫学的性状を調べた。

1. 細胞表面抗原: 米田の研究を参考にして、BCG竹尾株を1% Tween 80加カザミノ酸培地に振盪培養して均等に増殖させ、増殖曲線の種々の時期に培養上清を採取し、抗BCG免疫ウサギ血清、およびこれをBCGの intact な全菌で吸収したものと寒天ゲル内で反応させ、抗原分析を行った。その結果、対数増殖期から定常期初期の細胞表面には、少なくとも3種の抗原が存在し、これらの表面抗原は対数増殖期中期より培地中に遊離しはじめ、さらに培養をつづけると、菌体内部の抗原も培地中に漏出してることが示された。

2. デタージェント処理による表層成分の抽出: 定常期初期に収獲した全菌体 (WC) を1% Triton X-100で処理し、表面物質 (WC/Tr 画分) を溶出させた。ついで菌体を Ribi の装置にかけ、破裂させた。40,000× g で1時間遠沈し、細胞壁とこれに“associate”した細胞質とからなる細胞エンベロップ (CE) 画分を沈査として、上清 (CP) から分離した。CE画分を1% Triton X-

100, ついで0.2%ドデシル硫酸ナトリウムによって処理し、それぞれCE/TrとCE/SDS画分を抽出し、細胞壁(CW)画分を残渣として得た。上記CP画分は、100,000×gで1時間再遠沈し、細胞質を主とする上清(CP10S)、および主として細胞質膜破片よりなる沈渣(CP10P)とに分別した。

3. 菌体構築各成分の抗原分析： 抗BCG免疫血清、およびこれを全菌あるいは細胞壁で吸収したものをを用い、寒天ゲル内沈降反応により抗原分析を行った。供試BCGには前述の3種の表面抗原のほかに、少なくとも、細胞壁に1種、細胞質膜に2種、細胞質に1種の、それぞれの部分に特異な抗原が分布していることが示された。ちなみに細胞壁の上述の抗原はアラビノガラクトンであり、またCP10PとCP10Sの両画分は、上述の抗原以外にアラビノマンナンに相当する沈降線を与えた。なお免疫電気泳動による抗原分析も行ったが、試みた限りでは上記以外の抗原は検出できなかった。

4. 菌体構築各成分の化学分析： CE画分をデタージェント処理して分離したCW画分は、ムラミン酸や2,6-ジアミノピメリン酸(A2pm)などの、細胞壁ペプチドグリカン(PG)に特異なアミノ糖、アミノ酸を主な構成成分とするのに対して、他の画分には、これらは検出されなかった。またプロテアーゼ消化を行う通常の方法で純化した細胞壁標品は、ペプチドグリカンに固有とされているAla, Glu, A2pm, およびGly以外のアミノ酸をほとんど含まないのに対して、デタージェント処理により精製したCW画分には、無視できない量のAsp, Thr, Ser, Val, Leuなどのアミノ酸が検出された。

5. 菌体構築各成分の免疫学的活性

(1)免疫アジュバント活性： WC, CW, CP10P, CP10Sの各画分を卵白アルブミンと共に油中水滴型乳剤の形でモルモット足蹠に注射し、アルブミンに対する遅延型アレルギーの惹起を角膜テスト、体液性免疫の強化を血中沈降素価の上昇を指標として調べた結果、WCが示すアジュバント作用が、もっぱらCW画分のそれによることが確認された。

(2)肺空洞形成実験： 国立療養所刀根山病院の山村好弘博士の協力を得て、デタージェント法で得たCW画分のウサギにおける実験的空洞形成能をプロテアーゼ処理精製細胞壁のそれと比較した。すなわち、これらをウサギの肺内に油中水滴型乳剤の形で注射し、6週間後にト殺剖検したところ、従来の方法で精製した細胞壁では、肉芽腫はできるが空洞や壊死は生じなかったのに対し、デタージェント法で純化した細胞壁の注射では、全例に明確な壊死巣ないしは空洞の形成が認められた。すなわち、デタージェント法で得られた細胞壁には、アジュバント活性を担うペプチドグリカンに加えて、遅延型アレルギーの惹起抗原として作用し得る、恐らくは蛋白質が存在することが示された。

論文の審査結果の要旨

下野勉君の研究は、デタージェントを巧みに利用することによって、細菌細胞の表層成分を段階的に分別、分離することに成功したもので、その方法論には見るべきものがある。また、この方法で純化された細胞壁には、従来見落されがちであった細胞壁に固有で、かつ細胞の他の部分とは異なる化学的、生物・免疫学的特性を有すると考えられる蛋白質成分が良く保存されていることが明らかにさ

れた。

要するにこの研究は、なお検討の余地が残されているとしても、ミコバクテリアに限らず、細菌細胞一般の表層研究に寄与するところがきわめて大きいと考えられ、歯学博士の学位申請に十分値する優れた業績であると認める。