

氏名	熊 沢 義 雄 くま ざわ よし お
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	論 医 博 第 753 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 9 月 25 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	A water-soluble adjuvant from <u>Mycobacterium tuberculosis</u> (結核菌水溶性アジュバント)

論文調査委員 (主査) 教授 伊藤洋平 教授 桂 義元 教授 安平公夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

結核菌の加熱死菌を鉱物油と界面活性剤とに加えた Freund's complete adjuvant (FCA) が各種蛋白抗原に対する抗体産生を昂めると同時に、抗原に対する遅延型過敏反応 (DH) を惹起することは、よく知られており、結核菌のアジュバント活性成分を分離しようとする試みが長年続けられて来た。結核菌の脱脂菌体を接触還元し、その処理菌体から得られる水溶性画分中のアジュバント活性成分を分離し、各種抗原に対するモルモット免疫応答に及ぼす効果を明らかにするため本研究を行った。

水溶性画分は Sephadex G 100 を用いたゲル濾過により少くとも4分画に分かれる。分子量がおよそ16,000ダルトンの第3番目に溶出する画分(以下 MAF 3 と略)は他の画分と比べ、卵白アルブミン(OA)に対する抗体、特に IgG 2 クラスの産生を著明に促進すると同時に、抗原に対する強い DH 惹起能を示した。この MAF 3 は76~79%の中性糖、1.8~2.1%のアミノ糖及び17.5%のアミノ酸を含むヘテロポリマーであった。MAF 3 を構成する中性糖はアラビノース、ガラクトース、マンノース及びグルコース(0.7:1.0:5.5:8.2, モル比)でありアミノ糖はムラミン酸とグルコサミン(1.0:1.1, モル比)であった。アミノ酸は細胞壁ペプチドグリカンを構成するグルタミン(酸)、アラニン及びジアミノピメリン酸の3種に加え更に11種のアミノ酸を含んでいた。

MAF 3 のモルモット免疫応答に及ぼすアジュバント作用を明らかにするため、次の3種の担体に結合したジトロフェニル(DNP)基に対するMAF 3の効果を調べた。用いた抗原はDNP<sub>13</sub>-BSA(DNA-Bovine Serum Albumin, T細胞依存抗原)、DNP<sub>31</sub>-デキストラン(T細胞非依存抗原)及びDNP<sub>8</sub>-GPA(DNP-Guinea Pig Albumin, 同種抗原をキャリアーとしたもの)である。抗DNP抗体価はDNP<sub>13</sub>-OAを塩化クロムにより半赤血球に結合させた感作赤血球を用い、補体結合反応により主に測定した。免疫抗原に対するDHは主として皮膚反応によって測定した。免疫はすべて Freund's incomplete adjuvant (FIA) を用いて油中水型としてモルモット足蹠に行った。MAF 3 の使用量は全て100 $\mu$ gであった。

T細胞依存抗原に対するモルモット免疫応答は、MAF 3 により免疫2週から著明な抗DNP抗体産生

を昂めると同時に、免疫抗原に、対する DH 惹起能を有するのは、OA を抗原とした時と同じであった。T細胞非依存抗原 (DNP-デキストラン) に対する抗体産生においても、MAF 3 は強いアジュバント活性を示し、免疫3週後から著明な抗体産生の促進となった。この事は、MAF 3 がT細胞の関与しない抗体産生機構においても、アジュバントとして作用していることを示している。しかし DNP-デキストランに対する DH 惹起は、MAF 3 を使用しても認められなかった。同種抗原を担体とした時の MAF 3 の効果は用いた抗原量によって異ったが、100  $\mu$ g の DNP-GPA を用いた時、最も強いアジュバント効果が、とくに DH 惹起にみとめられた。

MAF 3 はアジュバント活性の他に、アジュバント関節炎誘起能、リンパ球幼若化活性、インターフェロン誘発能などを有し、その活性中心は、MurNAc-L-Ala-D-isoGln サブユニットであろうと推察している。

### 論文審査の結果の要旨

結核死菌のアジュバント活性は、細胞壁成分であるロウ D、更に言えばロウ D の peptido-glycan の muramyl dipeptide (MDP) にあることが知られてきた。しかしロウ D には、adjuvant 活性の他に、多発性関節炎惹起能、類上皮細胞肉芽形成能等の多彩な生物活性がある。それ故、ロウ D 低画分の化学構造と活性との関連を調べることは、今後共必要である。

この意味で、申請者の抽出精製した MAF 3 なる菌体画分は、水素添加処理を施した結核菌より得た水溶性のアジュバントであって、化学的には76~79%の中性糖、1.8~2.1%のアミノ糖、17.5%のアミノ酸を含む glycoprotein であった。免疫応答に及ぼす効果をモルモットで調べたところでは、本物質はT細胞依存性抗原に対しては、抗体産生、遅延型皮膚反応共に著明な促進効果を有し、T細胞非依存性の抗原に対しては、抗体産生促進効果はみとめたが、遅延型皮膚反応は誘起出来なかった。この物質の強い類上皮細胞肉芽形成能は、引続き報告される。

以上表記論文は、結核菌水溶性アジュバント MAF 3 が、菌体ロウ D と細胞壁 peptid-glycan との間間に位する重要な菌体成分であることを明らかにしたもので、医学博士の学位論文として価値あるものと認める。