

氏 名	松 本 正 昭 まつ もと まさ あき
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	論 医 博 第 870 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 3 月 23 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	Further studies on inhibition of Epstein-Barr virus release by bovine serum : Partial purification and characterization of the inhibitor (牛血清の EB ウイルス遊離阻害に関する研究 : 阻害因子の部分精 製と性状)
論文調査委員	(主 査) 教 授 伊 藤 洋 平 教 授 田 中 春 高 教 授 日 沼 頼 夫

論 文 内 容 の 要 旨

動物ウイルスに対する阻害因子が正常な血清中に存在するということはすでにいくつか報告されている。これらの阻害因子の多くは、直接にウイルスの感染性を中和するかあるいは不活化することで阻害作用を有している。

1975年我々は感染性をもつ EB ウイルス (EBV) 産生株のひとつである P3HR-1 細胞の培養に際して牛血清 (成牛血清) を用いると、仔牛血清や牛胎児血清を用いた場合に比べて培養液中に遊離してくる感染性 EBV が著しく減少することを見出した。この中で牛血清は細胞の増殖を阻害したり、ウイルスの感染性を中和したりせず、感染性 EBV の遊離だけを阻害することを明らかにすると共に、牛血清中にこの阻害作用を有する、ある物質の存在を強く示唆した。

本研究は、阻害活性を持つ牛血清から EBV 遊離阻害因子、(antivirus release factor, AVRf) を分離、精製し、AVRf の物理化学的性状と生物活性を明らかにすることと、更に、AVRf の EBV 産生細胞に対する作用機作を電顕的に観察することを目的とした。

AVRf の牛血清からの分離、精製は、硫酸塩析、セファデックス G-200 クロマトグラフィー、DEAE-セファデックスクロマトグラフィーで行った。その結果 AVRf 活性は最初の牛血清から約 160 倍に精製され、活性因子は IgM に極めて近い分子量であることが推測された。次に部分精製した AVRf の物理化学的性状をみると、トリプシン、エチルエーテル、UV 照射及び 56℃30 分間加熱に対しては極めて安定であるが過ヨード酸処理で完全に失活することがわかり AVRf の糖蛋白である可能性を示唆した。生物活性では、EBV 遊離を阻止する濃度 AVRf は P3HR-1 細胞の増殖、細胞内ウイルス合成、ウイルスの感染性に対して全く阻害はみられなかった。また AVRf は P3HR-1 細胞以外の EBV 産生細胞である B95-8 細胞及び QIMR-WIL 細胞からのウイルスの遊離を阻止した。このことから EBV 産生細胞一般において AVRf は効果的にウイルス遊離阻害を有することが推定される。次に AVRf 存在下で培養した P3HR-1 細胞を超薄切片法で電子顕微鏡観察を行ったところ、細胞質内に多数のウイルス粒子を内

包した空胞が認められ、空胞内には典型的なウイルス粒子の他にエンベロープに付着した尾状構造がみられた。これは、AVRF が出芽以後のウイルスの遊離段階に作用していることを強く示唆するものである。

本研究によって、牛血清中にヒト腫瘍ウイルスである EB ウイルスを感染性に影響を与えることなく産生細胞からウイルスの遊離する過程を阻害する極めてユニークな作用をもつ阻止因子が存在することの確証を得た。牛血清中に存在する AVRF と同様のものが EB ウイルスの自然宿主である人間の血清中にも存在することを示唆し、事実、その後の我々の研究でこれが証明された。

そしてこれが EB ウイルスの増殖伝播の非免疫的制御機構の存在を示す端緒となった。

論文審査の結果の要旨

本研究は牛血清中に存在する EB ウイルス遊離阻碍因子 (antivirus release factor, AVRF) と称する因子を分離し、部分精製し、そのおよその物質としての性状とその生物活性を明らかにすることを目的としたものである。その研究成績は次のように要約される。1. AVRF は牛血清から、硫酸塩析、セファデックス G-200 及び DEAE-セファデックスによるクロマトグラフィで分離精製された。その活性因子は IgM に近い高分子物質であることが示唆された。2. 生物活性としては次のことがみられた。EB ウイルスの細胞からの遊離を阻止するが、その作用は可逆的である。この阻止濃度では細胞増殖を阻止しないしまたウイルスの細胞内合成も阻止しない。またウイルスの感染性も阻止しない。3. AVRF 存在下で培養された EB ウイルス産生細胞を電顕でしらべたところ、細胞質内に多数のウイルス粒子を含む空胞が見出され、これらのウイルス粒子のエンベロープが尾状にのびている像がみられ、その一部は空胞の細胞質膜に連続しているのもみられた。これは生物活性としてとらえられる AVRF のウイルス遊離阻止作用を更に確認させる証拠であろう。

本研究は現在までしられてきたところのウイルスに対する種々の血清インヒビターとはちがって、ウイルスの細胞からの遊離阻碍という点で極めてユニークなインヒビターの存在を明らかにしたものである。牛血清中に存在する AVRF と同様のものが EB ウイルスの自然宿主である人間の血清中にも存在することが予想されたが、事実著者等はその後の研究でその予想を実証することに成功している。

以上の研究は EB ウイルス感染を制御する抗体以外の血清中因子の存在をはじめて明らかにしたものであり、ウイルス感染の病理機構、生体の非特異的防制機構の解明に寄与するところが多い。

したがって本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。