

(27)

氏名(生年月日)	木 村 寿 子 キ ュラ トシ ヨ
本 籍	
学位の種類	医学博士
学位授与番号	乙第 138号
学位授与の日付	昭和47年12月15日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	熱, 放射線および酵素の Phytohemagglutinin に及ぼす影響について
論文審査委員	(主査) 教授 三神 美和 (副査) 教授 田崎 英生, 教授 野本 照子

論 文 内 容 の 要 旨

I. 目的

Phaseolus vulgaris 等の豆種子抽出物は **Phytohemagglutinin** (以下 **PHA** と略す) と呼ばれ, **hemagglutinating agent** として知られていたが, 近年 *in vitro* でこの **PHA** を添加培養することにより小リンパ球に芽球化現象をおこすことが発見されて, むしろ **blastogenic agent** として注目されるに至った. 最近ではこの **PHA** の **blastogenic activity** を利用してヒト染色体の研究, 再生不良性貧血治療の試み, 或は免疫学的見地よりの研究等が広く行なわれている. 一方, **PHA** の成分は高分子蛋白質であることは多くの研究者のほぼ一致した見解であるが, **Hemagglutinin** ないし **Blastogen** としての本態, 或は作用機序については未だ充分解明されず議論の多いところである. 著者は **PHA** につき熱, 放射線等の物理的及び各種酵素等による化学的処理を加え **PHA** のもつ芽球化機能及び赤血球凝集素価の変化を観察し, この本態について若干の考察を試みた.

II. 検索材料及び方法

対照群として健康成人血液に **PHA** を添加し 37°C 72 時間培養後, 塗抹標本を作製し May Giemsa 染色を行ない, 芽球化細胞, 核分裂像及びリンパ球の百分率を算定し, また ³H-thymidine を用いオートラジオグラフィによる各細胞内銀粒子とりこみ率も算定した. 次いで, 1) 40°C 及び 60°C より 100°C まで 10°C 差で加温処理した **PHA**, 2) テレコバルトで 30×10⁴rad より 100×10⁴rad まで 10×10⁴rad 差の線量を照射した **PHA**, 3) Trypsin, α-chymotrypsin, Pepsin, Serratia peptidase 及び Snake venom (*Crotalus adamanteus*) 等の酵素処理をした **PHA**

等を用い対照群と同様の実験を試みた. 更に各種処理 **PHA** に赤血球浮遊液を添加し赤血球凝集素価の変化を検索した.

III. 検索成績及び考按

熱処理 **PHA** の **blastogenic activity** は 75°C で芽球化細胞出現率が 55.4% と対照の 87.9% に比しかなりの低下がみられるが, 100°C でも 5.5% の出現率を示した. **Hemagglutinating activity** は対照 2¹² に比し 80°C で 2⁷ と低下し 90°C ~ 100°C で 2° 以下となつた. 放射線処理の場合芽球化細胞は対照 68.3% に比し 40×10⁴rad で 19.3% と著しい低下を示し 75×10⁴rad で殆ど消失した. 赤血球凝集素価は対照では 2¹² であるが 80×10⁴rad 照射により 2° と半減し 100×10⁴rad に於ても変らなかつた. すなわち **Blastogen** と **Hemagglutinin** は全く別個の蛋白質, 或はいずれも **radiosensitivity** の異つた 2 種の蛋白質, ないしはこれに吸着している物質が関与しているものと考えられる. 酸素処理の場合 **Blastogen** は Trypsin, α-chymotrypsin 及び Serratia peptidase には殆ど反応を示さず, Pepsin では対照の 67.6% に比し 1 時間処理で 14.0%, 24 時間処理で 6.0% と著しい低下を示した. また **PHA** のみで培養を開始し 0, 6, 24 時間と経時的に Pepsin を添加した場合 58.9%, 62.5%, 67.4% と対照にほぼ一致していた. *Crotalus adamanteus* (Phosphodiesterase) では 1 時間処理 **PHA** の芽球化細胞は 28.7%, 24 時間処理で 32.0% と低下をみたが処理時間とは関係なく, また経時的に添加した場合それぞれ 42.0%, 55.5%, 及び 67.0% と 0 時間添加群で低下がみられるのみであつた. すなわち Pepsin は **PHA** に何らかの変化を惹起

し, *Crotalus adamanteus* の場合はこれが DNA, RNA 分子中のリン酸デンステルを分解する酵素であることからリンパ球への toxic factor と考えられる。また各酵素処理により赤血球凝集価には変化がみられず, すなわちこれに関与する蛋白質はこれら酵素の影響をほとんどうけていないものと考えられる。

IV. 結語

Phaseolus Coccineus より抽出した PHA につき熱,

放射線等の物理的処理, 及び蛋白質分解酵素等の酵素化学的処理を行ない, PHA のもつ blastogenic activity 及び hemagglutinating activity の変化について検討した。すなわち Blastogen 及び Hemagglutinin はいずれも異つた蛋白質ないしはその Subunit で, 前者では蛋白質に吸着するある種の物質の関与が考えられ, 後者は高分子蛋白質としての PHA そのものの直接作用とも考えられる。

論文審査の要旨

Phaseolus vulgaris などの豆種子の抽出液である Phytohemagglutinin (PHA と略す) は高分子蛋白質であることはすでに知られているが, この PHA のもつ芽球化能と赤血球凝集能とは同一物質によつて惹起されるものかどうかはいまも議論されているところである。著者はこの点を明らかにする目的で, PHA に熱, 放射線照射などの物理的処理と, また種々な酵素による酵素化学的処理を行ない, 芽球化能と赤血球凝集能への影響を検索し, この2つの Activity は明らかに異なる物質によつて起るものであることを明らかにした。更に芽球化能は pepsin によつてのみ強い影響をうけることから蛋白質の subunit か或はこれと強く結合する物質であること, 赤血球凝集能を示すものは加水分解酵素の影響を全然うけないことから, 高分子蛋白質である PHA そのものであることの可能性を示唆した。

本論文は学術上価値あるもので学位に値するものと考える。

主論文公表誌

熱, 放射線および酵素の Phytohemagglutinin に及ぼす影響について。

東京女子医科大学雑誌 第42巻 9号 頁 672
~ 683 (昭和47年9月)

副論文公表誌

- 1) 生検肝と肝機能検査に関する臨床病理学的知見補遺 (第2報)
臨床病理 20巻 補冊 頁 259 (1972年10月)
- 2) 生検肝と肝機能検査に関する臨床病理学的知見補遺。
臨床病理 19巻 補冊 頁 497 (1971年9月)
- 3) 心内膜欠損症手術後にみた 溶血性貧血 の一症例,
東京女子医科大学雑誌 41巻 1・2号 頁
123~ 128 (昭和46年2月)

- 4) 当科における血液疾患診療状況 (1969年度),
東京女子医科大学雑誌 40巻 8号 頁 532~
542 (昭和45年8月)
- 5) 内科的疾患における線維素溶解現象の臨床的研究 (第4報),
東京女子医科大学雑誌 40巻 6号 頁 358~
368 (昭和45年6月)
- 6) コレラ様症状を呈したネズミチフス菌感染による
急性急性胃腸炎の一部検例,
東京女子医科大学雑誌 39巻 10号 頁 810~
814 (昭和44年10月)
- 7) 関節リウマチに随伴した全射生アミロイドーシスの一部検例,
内科 21巻 1号 頁 173~ 178 (昭和43年1月)