

Title	腹水癌細胞におけるエクトロメリア、ウイルスの紫外線不活化同種ウイルスによる干渉
Author(s)	豊島, 久真男
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/28170">http://hdl.handle.net/11094/28170</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 9 】

氏名・(本籍)	豊島久真男 とよしまくまお
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 36 号
学位授与の日付	昭和 34 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科病理系 学位規則第 5 条第項該当
学位論文題目	腹水癌細胞におけるエクトロメリア、ウイルスの 紫外線不活化同種ウイルスによる干渉
論文審査委員	(主査) 教授 釜洞醇太郎 (副査) 教授 藤野恒三郎 教授 天野 恒久

論 文 内 容 の 要 旨

1) 目 的

従来干渉実験は組織乃至個体単位で行われ多くの疑点を残して来た。

そこで今まで行い得なかった細胞単位における干渉現象の定量的研究を行い、その機序について考察した。

2) 方 法

ウイルス (VA) : Ectromelia virus (Hampstead strain)

宿主細胞 : Ehrlich Ascites Tumor Cell を P.B.S. で洗滌せるもの  
(ETC)

紫外線 (UV) による不活化 : 19W紫外線殺菌燈を用い、2ml の VA を直径 9cm のシャーレに入れ、10cm の距離で照射を行った。

封入体出現率の決定 : 指定時間に腹水の塗抹標本を作り、Giemsa 染色後算定

3) 結 果

○ ウイルス不活化 に要する UV 照射時間

10<sup>7.2</sup> LD<sub>50</sub>/ml の VA が 2 分照射により完全に不活化されていた。

1 分ではなお活性が残る。

○ 不活化ウイルス (VI) が活性ウイルス (VA) 感染によるマウス死亡率に及ぼす影響。

2 分照射による VI を用い、マウス腹腔内注射により古典的干渉実験の追試を行い、死亡率の低下を確認した。

○ VA-ETC 系におけるウイルス感染の動的実験

実験細胞群の封入体出現率の変化をもって活性ウイルスによる初感染の割合を判定しうるか否かを確かめた。

ETC に2倍段階希釈を行った VA を混合し、感染18時間における封入体出現率を算定し、Poisson 分布に従って計算し、1 ウイルスの感染によっても封入体が出現するという結果を得た。

○ VI による封入体出現抑制効果

試験管内で VI と ETC を種々の割合で混合後30分以内に VA を追加、マウス腹腔内に注射し、18～22時間後その封入体出現率を算定した。この方法により、干渉群 (VI を用いた方) の封入体出現率は常に対照群のものより低い値を示した。

対照として正常マウス肝乳剤遠沈上清 (UV 照射をしたもの、しないもの)、メチレン青を用い光力学作用により不活化したウイルス材料、UV 1時間照射を行った VI 等を用い、封入体抑制効果を調べたが抑制はおこらなかった。

○ UV 照射量と干渉能の関係 1分乃至1時間の範囲の UV 照射による不活化ウイルスを用い、封入体抑制効果を見た。

1～3分照射材料が高い抑制効果を示し、以後急激に減退し、30分では本 System においては殆ど干渉能を認め得なくなる。

○ 干渉と免疫の関係

本系の実験も動物を用いるため、免疫の影響を考慮しなければならない。VI を前日注射したマウスを用いても VA-ETC 系の封入体出現率は低下しない。また微量でも存在すれば之を除くため、実験細胞群をウイルスの潜伏期に引出し、洗滌を行っても干渉群における封入体抑制効果は低下しない。従って抗体の影響でない事は明らかとなった。

○ ウイルス混合の時間的問題

VI と ETC を先に混合した場合には、VA を短い間隔で challenge すると十分な干渉が行われるが、時間と共に急速に干渉は減退し、2nd Cycle 以後では干渉は認められない。VAがVIに先行した場合には干渉は殆ど認められない。

○ VA 濃度の変化が干渉能に及ぼす影響

VA を段階希釈し、VI を調べた結果 VA 濃度の増加により、見掛上ウイルス感染は強くなるが、干渉能は変化しない。

干渉能は VI の濃度に従って変化するものである。

○ 細胞当りの不活化ウイルス量と干渉能の関係

予め活性ウイルスを用いて細胞当りのウイルス数を決定後、同材料を不活化したVIと、同じ細胞材料を用いて干渉実験を行い、Poisson 分布に従って不活化ウイルスの入った細胞の割合を計算し、これと実際の干渉能を比較した所、1細胞に、1不活化ウイルス粒子が入る事によりその干渉が成立すると推定し得る結果を得た。

4) 総括

エクトロメリア・ウイルスは UV 照射により急速に不活化されるが、尚同種活性ウイルスを干渉し得る。更に UV 量を増すと、干渉能も低下し、遂に認められなくなる。

上記系内は、細胞のレベルにおいておこり、免疫とは関係なく、恐らく、1VI 粒子により1細胞に

おける干渉が成立する。

同系においては、干渉の解除が他の場合に比し非常に速いが、これは用いたのが癌細胞であるという特殊性によるものと推定される。

尚、同時に、ETC 1細胞に1個以上の活性エクトメリア・ウイルスが感染すると、一定時間内に必ず封入体が出現する事が初めて証明された。

### 論文の審査結果の要旨

腹水癌細胞におけるエクトメリア・ウイルスの紫外線不塩化同種ウイルスによる干渉

- 大阪大学医学雑誌 第10巻第10号に掲載
- 昭和32年9月 西日本ウイルス学会に発表
- 昭和32年12月 微研集談会に発表

干渉現象、特に同種不活化ウイルスによる干渉はウイルスの細胞内増殖過程と密接な関連があると考えられる。しかし動物ウイルスにおける同現象の研究は、従来組織乃至個体単位で行われ、干渉が成立するためには大量の干渉ウイルスが必要であり、大量を用いても Challenge ウイルスの量が増加すれば干渉は成立しなくなるとされて来た。又、干渉の成立する場合でも干渉ウイルスと Challenge ウイルスの間に免疫の交叉がある場合、特に同種不活化ウイルスを干渉ウイルスとして用いた場合には抗体の影響が大きな問題として残されて来た。ここで用いているエクトメリア・ウイルスは全くその通念の範囲にあり、最も進んでいるインフルエンザ・ウイルスにあいても細胞のレベルにおける干渉の観察は行われていない、一方 Pox Group のウイルスの増殖機構に関しては、同教室に於て得られたエクトメリア・ウイルスが Ehrlich 腹水癌細胞内で2種類の封入体を形成しながら増殖するという新発見により急速に明らかにされてきた。

先に上記 System の詳細な分析からウイルスの形態学的な増殖周期が発表されているが、著者等は副論文2においてラッテ腹腔内での上記 System の実験から、形態学的なウイルスの増殖周期が、初感染ウイルスにおいては18時間を要する事を確認した。主論文においてはこの事実に基いて Ehrlich 癌細胞の感染実験を行い、1個又はそれ以上のウイルス粒子の感染により、1細胞における封入体が出現する事実を示した。従って干渉現象も封入体を指標として細胞のレベルで観察し得る事が判った。

この System を用い紫外線不活化エクトメリア・ウイルスの同種活性ウイルスに対する干渉を追求し先づ、定性的に、活性ウイルスによる細胞感染を抑制するが、他の方法で不活化したウイルスや、ウイルスのない材料ではこの様な効果のない事を示した。この効果はウイルスに対する紫外線照射量によって変化する。即ちウイルス不活化に要する最少量乃至はそれに近い紫外線照射量においては高い干渉能を有する不活化ウイルスが得られるが3分向上照射すると干渉能は漸次減少し、30分以上の照射ではもはや干渉能は認められなくなる。又感染抑制効果が干渉のみによるのか、或は免疫の影響があるのかと云った点に關しても実験を進め、実験細胞群の洗滌、不活化ウイルスによるマウスの前処置等によっても干渉が影響されない所から免疫の影響を否定した。更に本 System における干渉の成立のための、不活化ウイルスと

活性ウイルス感染の時間的關係を追跡し、不活化ウイルスに続いて非常に短い間隔で活性ウイルスが感染した時、最も高率に干渉のおこる事を認めた。

このような干渉のおこるには何個の不活化ウイルス粒子が必要なのかという問題が残る。

この点に関して、先づ一種の不活化材料が種々の濃度の活性ウイルス感染に及ぼす影響を追求し、干渉のおこる割合は活性ウイルス量に関係なく、不活化ウイルス量によって定まるものである事を認め、更に1細胞当り、1個又はそれ以上の不活化ウイルスが吸着されたとき、その細胞における干渉が成立するとの結果を得た。

以上この論文はエクトメリア・ウイルスにおける干渉現象を免疫効果から分離して確認し得たのみならず、干渉を細胞のレベルで観察する事によって、干渉の機構解明の上に重要な価値を有するものと確信する。

尚同時に記載された1ウイルス感染によってもB型封入体が出現するとの事実は、同ウイルスの増殖に対するB型封入体のもつ役割の重要性を認識せしめるものであり、他のウイルスにおいても、現在までこのような報告はなされていない。