



Title	Variola virus, Alastrim virus, Cowpox virus及びEctromelia virus感染細胞の形態学的研究
Author(s)	岩瀬, 正臣
Citation	大阪大学, 1961, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28292
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	岩瀬正臣
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 164 号
学位授与の日付	昭和 36 年 3 月 23 日
学位授与の要件	医学研究科外科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	Variola virus, Alastrim virus, Cowpox virus 及び Ectromelia virus 感染細胞の形態学的研究
(主査)	(副査)
論文審査委員 教授 釜洞醇太郎	教授 足高 善雄 教授 奥野 良臣

論文内容の要旨

目的

variola, alastrim, cowpox 及び ectromelia virus 感染細胞の形態学的変化を比較研究し, 夫々の封入体の virus の増殖における意義を, virus 抗原蛋白及び virus DNA 合成の立場から追求した。

実験方法

組織培養により, 宿主としては人羊膜細胞固定株 FL を用いた。

Leighton 管に coverslip を入れ, その上に単層培養を行なった。

virus 材料としては, variolavirus (山本株), alastrim virus (Butler 株), ectromelia virus (Hampstead 株) を用いた。

形態学的研究のためには, Giemsa 染色, hematoxylin-eosin 染色及び Feulgen 反応を用いた。

variola virus 及び, cowpox virus の螢光色素結合抗体法のためには, myxoma virus での高橋等の方法に従がい variola virus 及び cowpox virus の免疫家兎血清の globulin 分画に Fluorescein-isothiocyanate を結合せしめた。ectromelia virus のためには間接法を用い, ectromelia virus 免疫 hamster 血清を中間抗体にし, 螢光色素は, 抗 hamster 家兎血清の globulin 分画に coupling せしめた。

Autoradiography には, H^3 -thymidine (specific activity 180 mc/m M) を $2\mu c/ml$ の濃度で使用した。

coverslip をよく洗滌した後乾燥, methanol 固定後, autoradiographic stripping plate AR10 (Kodak) を接触せしめ, 一定日冷暗所に保った後に現像した。後染色のためには Giemsa 染色を用いた。

実験成績

a) Methanol 固定, Giemsa 染色による研究

FL 細胞を培養後, virus 材料を medium に与えると, 初期 4 時間頃より, 4 種のいずれの virus の場

合にも、細胞質内に、赤紫色に染まる封入体の発現を認める。形態学的には、従来記載されている B型封入体である。alastrim virus の場合も、他の 3 者の B型封入体と Giemsa 染色上の差異を認めるることはできない。

B型封入体は次第に大きさを増し、構造は粗になってゆく。10時間頃より、cowpox virus と ectromelia virus の場合のみ、第 2 の封入体 A型が、別個に発現してくる。cowpox virus にあっては、A型封入体は全く空虚であるが、ectromelia virus の A型封入体には virus 粒子の充満せるものがある。A型封入体を発生しない variola virus と alastrim virus の B型封入体の形態学的所見及び発展過程は全く同様である。ectromelia virus の場合にのみ円形多核巨細胞形成が著しい。

b) Bouin 固定、hematoxylin-eosin 染色による研究

上記の実験材料を Bouin 固定後、hematoxylin-eosin 染色により観察すると、いずれの細胞質内封入体も周囲に暈を形成し、B型封入体は不規則な形状で、hematoxylin の色調を主としてとり、A型封入体は明瞭な円形で、単に eosin の色調のみをとることがわかった。

c) Feulgen 反応による研究

感染材料を Feulgen 反応によって観察すると、いずれの virus の B型封入体も明らかに陽性を呈しており、cowpox virus 及び ectromelia virus の A型封入体は殆んど陰性である。

d) Fluorescein-isothiocyanate 結合抗体による研究

感染材料を acetone 固定後、variola virus, cowpox virus は夫々の抗 virus 家兔血清 globulin に結合した蛍光色素により、直接法で、ectromelia virus は実験方法に示した間接法により、alastrim virus の場合は variola virus の抗体結合蛍光色素により反応せしめた。いずれの感染細胞にも、特有な蛍光部位を細胞質内に見出したが、後染色によってその部位が、いずれも B型封入体に一致することが明らかになった。A型及び核には著明な蛍光を認めるることはできない。

e) H^3 -thymidine による autoradiography

まず virus 感染 1 時間後に、 H^3 -thymidine 含有の培養液で保ち、20 時間後に標本をよく洗滌した後、stripping 法による autoradiography を行なった。

いずれの virus の場合も、細胞質内に著明な銀粒子の集積を認める。後染色により、銀粒子の集積部位は、常に B型封入体に一致しており、A型には殆んど認めることが出来なかった。ectromelia virus を用いて経時的に観察すると、B型封入体 1 ケ当りの銀粒子数は、初期 compact なものに少なく、発展につれて数を増している。

総括

variola virus, alastrim virus, cowpox virus 及び ectromelia virus の感染細胞の形態学的変化を研究した。いずれの virus 感染細胞にも、全く共通の形態学的性格を有する B型封入体が形成される。

cowpox virus 及び ectromelia virus には第 2 の封入体 A型が発現する。蛍光色素結合抗体法により、B型封入体は、virus 抗原蛋白の部位と全く一致することが明らかになった。又、 H^3 -thymidine のとりこみによる銀粒子も細胞質内 B型封入体に一致していることを明らかにした。一方 A型封入体は抗原蛋白及び DNA 合成の点においても殆んど関係が認められない。

B型封入体は、これら4種のvirusの増殖におけるvirus抗原蛋白及びDNA合成の部位と考えられる。

論文の審査結果の要旨

Pox group virus 感染細胞の、細胞レベルの病理形態学的変化として特有な細胞質内封入体が報告されている。

釜洞、加藤等によって、これらの封入体が、染色上2つの型（A型及びB型）に分類されること、及びB型封入体形成がpox virusに共通の性格であることが明らかにされている。

これらの封入体と、virus増殖の関連性については、尚お多くの不明の点が残されている。

著者は、pox groupに属する、variola virus, cowpox virus, ectromelia virusの封入体と、variola minorと考えられるalastrim virusの封入体を、Giemsa染色、hematoxylin-eosin染色、Feulgen反応を用いて比較検討すると共に、蛍光色素結合抗体法及び H^3 -thymidineによるautoradiographyを併用して、pox virusの封入体と、virus抗原蛋白及び核酸との関係を、形態学的に追求した。

その結果、variola virus及びalastrim virusの封入体の性格は、pox virusのB型封入体と全く一致し、A型封入体を形成しないことを明らかにした。

更に、蛍光色素結合抗体法を用いて、特異な蛍光部位は、B型封入体に一致すること及び H^3 -thymidineがB型封入体に一致して、細胞質内にとりこまれることから、これらvirusのB型封入体は、いずれも、pox virus抗原蛋白の局在部位であり、virus性DNA合成の行われている場であることを明らかにした。

A型封入体は、病理学的変化の著明さにもかかわらず、機械的に、virus増殖上の意義をもたないことを明らかにした。

更に、virus性封入体の研究に始めてautoradiographyを導入する等、virus感染病理学に極めて意義深い貢献をなしたものと考える。