

Title	宿主核のDNA性動物virus感染に及ぼす影響
Author(s)	柳田, 隆穂
Citation	大阪大学, 1961, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28303
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	柳 田 隆 穂 やなぎ た たか ほ
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 191 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	宿主核の DNA 性動物 virus 感染に及ぼす影響
論文審査委員	(主 査) 教授 釜洞醇太郎 (副 査) 教授 足高 善雄 教授 奥野 良臣

論 文 内 容 の 要 旨

目 的

DNA 性 virus の感染増殖に、核が関与する可能性が漠然と考えられて来た。ectromelia virus 及び variola virus を用いて、細胞質内 DNA 性封入体形成に及ぼす宿主細胞核の影響を研究した。

方 法

組織培養：人羊膜細胞固定株 FL 細胞を用いた。Leighton tube 内に cover slip を入れ、その上に単層培養を行った。

Virus：ectromelia virus (Hampstead株)、Variola virus (山本株)を用いた。

Cold shock：Newton & Wildy の方法に従って 4°C 1 時間に培養細胞を保った後、37°C に保ち、細胞数の推移を検討した。

Autoradiography：H³-Thymidine (以後 H³-T と略す。specific activity 180mc/mM) を 2 μc/cc の濃度になる如く培養液に加えた。実験材料を充分洗滌の後乾燥、methanol 固定後 autoradiographic plate AR-10 (Kodak) で stripping method によって露光現像した。後染色のためには Giemsa 染色を行って銀粒子の部位と比較対応させた。

X線照射：Westinghouse 製照射装置。2 次電圧 180KVP, 2 次電流 15mA, Filter 0.7mmCu + 0.5 mmAl, FHD30cm で約 500~1000r 照射

実 験 成 績

1. 生体各種細胞の virus 感受性の検討

Ectromelia virus の DNA 性 B 型封入体の形成は、最初 Ehrlich 癌細胞、吉田肉腫細胞の如き増殖の旺盛な細胞に於て見出された。生体各種細胞の感受性を研究した結果、上記の如き細胞分裂能の旺盛なる細胞はもとより、通常細胞分裂を行わないと考えられる各種細胞、例えば肝細胞、小リンパ球様細胞にも

著明なる DNA 性封入体の形成を認めた。

2. 宿主核 DNA 合成の状態と細胞質内 DNA 合成との関係。

先に *ectromelia virus* の B 型封入体が H^3-T の取り込みによる銀粒子出現の部位であることが明らかにされたが、B 型封入体形成に於ける宿主核 DNA 合成の状態との関連をしらべた。非感染細胞を H^3-T 含有培養液に保って経時的に H^3-T の取込細胞をしらべると、10 時間では 47.5%、後連続的に増加して 24 時間では 92.0% の細胞が著しく label されている。即ち 10 時間では 52.5% の細胞が全く核 DNA 合成を行っていない。cold shock によって非 label 細胞を更に増加せしめることが出来る。一方 *ectromelia virus* 感染細胞では、cold shock をするとせざるに拘らず常に殆んど 100% 近く細胞質内 DNA 合成を行うことがわかった。即ち宿主細胞核の DNA 合成が一時的にせよ停止しても細胞質内 virus DNA 合成には全く無関係である。

3. 宿主核構成 DNA と細胞質内 virus DNA との関係

Milovidov, 藤野は別箇に *variola virus* の Gurnieri 小体 (B 型) が Feulgen 反応陽性であることを見出した。爾来 Guarnieri 小体の核由来説は漠然とした形で今日迄続いている。

非感染 FL 細胞を H^3-T 含有培養液で 24 時間培養し、大部分の核に充分 label させた後、*variola virus* 又は *ectromelia virus* を感染せしめ H^3-T を含まない液で培養した。20 時間後の標本を autoradiography によりしらべると、銀粒子は核に一致して出現しているが細胞質内には認めることができない。Giemsa 後染色によって B 型封入体形成は略々全細胞に著名に起っていることが分った。即ち宿主核を構成する DNA は、少くともそのままの形で封入体 DNA に移行しない。又宿主核 DNA を構成する Thymine 又は Thymidine が virus DNA 合成の材料として使用される可能性も低いと考えられる。

4. 奇形細胞内に於ける virus DNA 合成

X 線照射又は無血清培地培養は、組織培養細胞に屢々異常を誘起し、垂鈴状細胞、細胞質の一部が細い橋によって有核部と連なるもの、核 chromatin の一部のみを含む異常小細胞、更に細胞質の断裂したと思われる無核細胞片等を発生せしめる。此等の細胞群に *ectromelia virus* を感染せしめ H^3-T の培地で培養した。autoradiography で調べると上記何れの奇形細胞中にも B 型封入体形成と H^3-T の取り込みを示すものがある。正常核としての形態の有無が virus DNA 合成の発現には少くとも直接的関係がないことを示すものと思われる。

総 括

1. 宿主細胞の分裂能、核の DNA 合成能は、pox virus DNA 合成発現に本質的影響をもたらさない。
2. pox virus DNA は宿主核 DNA の移行したものではない。
3. pox virus DNA は核を合成の場としない。

論文の審査結果の要旨

Pox group virus により細胞質内に形成される B 型封入体の本態については、近年、釜洞、加藤等によりこれが virus 抗原蛋白と DNA の集積部位であることが明らかにされたが、その DNA 物質の由来に

については未だ定説がなかった。pox group virus の一つ、variola virus の封入体である Guarnieri 小体に関しては、1892年の Guarnieri の原虫説以来種々の学説があったが、1935年阪大藤野教授によってこの小体が Feulgen 反応陽性であり DNA を含むことが初めて明らかにされた。この時以来、本小体の宿主核由来の概念が今日に至る迄一般的になっている。

著者は、かかる virus-host interaction の解析の上で、極めてユニークな特徴をもつ pox virus である ectromelia virus と variola virus、之に動物細胞である培養羊膜細胞固定株 FL 細胞を用い、更に DNA の specific な precursor である、 H^3 -thymidine による autoradiography を利用して、この問題の形態学的な検討を行った。その結果、殆んど DNA 量の変化分裂のないマウス体細胞中にも、又、cold shock により一時的に DNA 合成が停止している細胞に於いても著しい B 型封入体の形成とその中への H^3 -thymidine の取込みを認めた。又、あらかじめ H^3 -thymidine を充分核に取込ませておいてから、 H^3 -thymidine を含有しない培地に移して ectromelia virus を感染せしめると、形成される B 型封入体には H^3 -thymidine の取込みを認めないことから、封入体 DNA は核を合成の場とはしないし、又その素材が核から由来したものでもない、全く新しく細胞質内に合成されたものであることを知った。又 X 線照射により異常を生じた、核物質の一部のみを含む異常小細胞や、核を含まない細胞片に於ても B 型封入体の形成と、 H^3 -thymidine の取込みを認めたことから、正常核としての形態の有無が関係しないことを知った。

著者の業績は、DNA 性動物 virus と動物細胞との system を用いて、この分野には初めて導入された H^3 -thymidine の autoradiography を利用して、極めて巧妙に、B 型封入体の virus DNA が宿主核 DNA とは無関係に新生されることを立証して、1892年来の論争に終止符を打ったものであるが、動物 virus 研究の分野に於いて一つの転機を画したものと考える。