

Title	活性及び不活化麻疹ウイルスの組織培養細胞（FL及びL細胞）に及ぼす影響
Author(s)	畑, 清一郎
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28410
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 29 】

氏名・(本籍)	畑 清 一 郎 はた せい いち ろう
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 298 号
学位授与の日付	昭 和 37 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	活性及び不活化麻疹ウイルスの組織培養細胞 (FL 及び L 細胞) に及ぼす影響 (主 査) (副 査)
論文審査委員	教授 藤浪 得二 教授 釜洞淳太郎 教授 奥野 良臣

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

麻疹ウイルスによる巨細胞形成についてはすでに 1954 年の谷口等による動物実験, Enders 等による組織培養実験によって確かめられている。組織培養細胞を用いて観察した場合, 巨細胞形成はウイルス量が多いときにはその出現が極めて早く, 未染色標本でも感染 10 時間で観察可能であるが, この巨細胞形成を主眼として, 活性, 熱および UV 不活化ウイルスの細胞に対する影響を追求した。

〔方法並びに成績〕

FL 細胞継代の麻疹ウイルス豊島株を用い, 凍結融解後, 低速遠沈により細胞残渣を除いた材料を高速遠沈により濃縮し, これを適当に稀釈して使用した。FL 細胞は 15% 牛血清 LE 液で増殖させた。小角型試験管を用い, 培養液 1 ml, 細胞数約 3×10^5 で使用した。一旦培養液をすて, ウイルス液 0.25 ml を加え, 35°C に 2 時間置いたあと, 液をすて洗滌し 3% 牛血清 LE 液 1 ml を加え 35°C に置く。細胞観察には培養液をすて 0.25% トリプシン液を加え 35°C 15 分の後, ピペットにより細胞をはずし, Türk 氏液を加え, 血球計算板で細胞数を読む。L 細胞では巨細胞形成は認められなかった。

熱不活化は 1 ml 入りのアンプルを pH 7.0—8.0, 56°C に置いて行った。ほぼ 1log/5 分の割合で不活化が起るが, 最初の 5 分間の不活化はそれ以後に比し急速に起っている。しかしその原因は不明である。

UV 不活化は 19W 殺菌灯を 41 cm の距離に置き, 直径 9 cm のペトリ皿に 2 ml のウイルス材料を入れ振盪しながら照射を行う。この際は特に色素を除いた液を使用した。不活化は 2 log/15 秒の割合で行われ, 90 秒で完全にその活性を失った。そこで以下の実験には 3 分照射したウイルスを UV 不活化ウイルスとして用いた。なお CF 抗原は 56°C 20 分ではほとんど変化せず, 7.5 cm 3 分の UV 照射にもその価を変えなかった。

活性ウイルス, UV 不活化ウイルスでは巨細胞形成は感染 3 時間まで急速に進行するが, 以後は細胞数

一定となる。一方、56°C 20 分の熱不活化ウイルスでは巨細胞を形成しない。

次にウイルスの吸着時間の影響を見るため、ウイルス接種後所定時間にウイルス液をすて洗滌したあと抗血清を1時間作用させて遊離ウイルスを除き、培養液に交換し、感染後6時間で細胞数を見ると、60分を過ぎる頃までは細胞数は直線的に減少するが90分をこえると一定となり、もはや抗血清の影響をうけていない。この場合にも活性、およびUV不活化ウイルスの間に差異を認めなかった。

ウイルス濃度をいろいろに変えて6時間後に細胞数をみると、ウイルス量と細胞数との間には規則正しい関係が成立している。そして最高濃度では細胞の破壊がみられ、巨細胞の大きさもかえって小さくなる。また最低濃度では巨細胞をみなかった。この場合の巨細胞形成に必要な最低濃度は $10^6\text{TCD}_{50}/0.1\text{ml}$ であった。

重複感染については種々の濃度のウイルスを接種し、2時間後高濃度のウイルス液と交換する。最初の接種から6時間後に細胞数を測定すると巨細胞は最初のウイルス量によっても多少の影響は受けるが、細胞数の減少は後の高濃度ウイルスによって規定された。

熱不活化ウイルスは巨細胞形成能力は失っているが細胞変性の能力は保持している。トリプシン処理を行った細胞に0.1Mクエン酸35°C 20分の処理を2回くり返して行ない、Türk氏比液を加えて核数を測定すると、対照に比し明らかに核数の減少を認めるが、その間、トリプシン処理だけによる細胞数は減少していない。これは熱不活化ウイルスにより細胞が変性した結果、クエン酸処理に対する感受性が増したものと考えられる。

巨細胞の形態そのものを時間をおって観察すると、最初は不規則な多角形をした、細胞が凝集した形をそのまま示しているものが多いが、時間がたつにつれ、巨細胞全体が円味をおび、核が周辺に近い部分に環状に配列したものが多くみられるようになる。この際も活性、UV不活化ウイルスの間には差を認められない。

〔総括〕

1. この実験で、活性および不活化ウイルスは $10^6\text{TCD}_{50}/0.1\text{ml}$ 以上の濃度で巨細胞形成が可能であった。一方、熱不活化により巨細胞形成能力は失われた。
2. トリプシン-クエン酸処理に対する感受性は熱不活化によっては変化し難く、UV照射により容易に変化した。
3. 巨細胞形成能力は活性ウイルスとUV不活化ウイルスの間に差はなく、巨細胞出現は3時間で最大となった。
4. L細胞では巨細胞形成はみられなかった。

論文の審査結果の要旨

麻疹ウイルスの巨細胞形成は、動物実験においては釜洞等、組織培養においては Erders 等によって認められているが、その後のこの問題に関する研究は少なく、その成立機構については、釜洞等の細胞融合によるものであらうとする意見はあるものの、現在まで、ほとんど研究が行なわれていないといつてよい。

著者はこの問題を取り上げ、組織培養細胞を用いて実験を行なった結果、麻疹ウイルスの直接作用により、

細胞融合によって巨細胞が形成されること、ウイルス濃度は 10^6 TCD₅₀/0.1ml 以上を要すること、巨細胞形成はウイルス接種後1時間ですでに認められ、3時間以降は巨細胞形成にともなう細胞数の減少は停止すること、一旦ウイルスを接種した細胞に後から高濃度ウイルスを加えると、後からのウイルス濃度が巨細胞形成を規定すること、巨細胞形成に対する抗血清の抑制作用は90分以降は消失すること、巨細胞形成能力は紫外線照射に安定で、熱に不安定なこと、加熱による部分不活化ウイルスはもはや巨細胞形成能力は失っているが、細胞に対する毒作用は依然として保有していることを証明した。

麻疹ウイルスの巨細胞形成がウイルス自体の作用による細胞融合によるものであることを立証したことは、ただにウイルス学の分野における寄与のみならず、他の分野における巨細胞形成現象の機構についても示唆する所大なるものがあると考えられる。