



Title	Cowpoxウイルス感染FL細胞の特にその封入体に関する電子顕微鏡的研究
Author(s)	森田, 兼光
Citation	大阪大学, 1963, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28471
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	森 田 兼 光 もり た かね みつ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 408 号
学位授与の日付	昭 和 38 年 3 月 25 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	Cowpox ウイルス感染 FL 細胞の特にその封入体に 関する電子顕微鏡的研究
論文審査委員	(主 査) (副 査) 教 授 藤 浪 得 二 教 授 釜 洞 醇 太 郎 教 授 深 井 孝 之 助

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

Cowpox ウイルス感染細胞の細胞質内にみられる封入体に関しては 1939年 Downie の Eosinophilic body としての記載以来、数多くの研究がなされ、FL 細胞において、メタノール固定、ギムザ染色にて赤紫色、Feulgen 反応陽性、蛍光抗体法により抗原性の証明される B 型封入体とギムザ染色で淡青色、Feulgen 反応陰性、抗原性を有しない (Cowpox ウイルスの抗体に対し) A 型封入体の二種類存在する事は既に知られている。Cowpox ウイルス FL 細胞系において、出現するこれら封入体の電子顕微鏡的検索を行ない、その微細構造を観察する目的で実験を行なった。

〔方法並びに成績〕

ウイルスは Cowpox LB.red strain を使用した。培養ガラス管壁に一層になった FL 細胞に、ウイルスを2時間吸着後、2回 Hanks 氏液にて洗滌し、10%牛血清含有 LE 液にて37°C で維持培養し、吸着後13.15.17.24.72時間後一部メタノール固定ギムザ染色し光学顕微鏡にて A 及び B 型封入体の出現を確認し、ペロナル醋酸緩衝液にて PH=7.2~7.4に補正した1%オスミック酸にて2時間氷室内で固定し、エタノール系列を通し脱水後 Methacrylate 樹脂にて包埋、熱重合した。ブロックの切削には Leitz microtome を使用し、JEM5G 型電子顕微鏡にて観察した。感染後13.15.17時間のもものでは細胞質内に、線維様構造を有する電子密度の高い封入体 (Matrix) が認められ、その内部には、未成熟ウイルスの限界膜及び Viroplasm の形成がみられ、Viroplasm の辺縁部に、更に電子密度の高い円形の Nucleoid を有し、その周辺部には電子密度の低い Halo を有している。Nucleoid のあるものは線維様構造を示すものもみられた。未成熟ウイルスの大きさは約 300mu×220mu 前後の楕円形を呈するもの、及び、ほぼ円形のものも見られた。Nucleoid の大きさは約60mu であった。勿論、内部に未だウイルスの見られない Matrix も観察された。未成熟ウイルス集団及び、Matrix に近接して Matrix よりも電子密度の高い線維

様構造を有する比較的境界鮮明ではあるが、限界膜は認められない封入体が存在するものも観察された。

この封入体では近いものが、互に融合していると考えられる像も見られ、周辺部へ向って、線維様突起の存在するものもあるがウイルスを内部に含有するものは認められなかった。感染後 24 時間のものでは Matrix の線維様構造は認められず、成熟したウイルスの集団が細胞質内にみられ、ウイルスの Nucleoid は細長くなって、その中心部を占め、また、啞鈴形を呈しているものも存在し、細胞外に、細胞に近接して成熟ウイルスが存在する像もみられた。ウイルスを内部に認めない、境界鮮明な線維様構造を呈する封入体はその形を増大し多くは円形乃至楕円形である。感染後 72 時間のものでは円形乃至楕円形の封入体が更に大きくなり核を圧排しているような像も観察された。この封入体が崩壊しているような像は 72 時間迄の観察ではみられなかった。またウイルスを内部に含んでいる像も得られなかった。対照として同時に培養されていた FL 細胞を観察したが上記の如き像は見られなかった。

〔総括〕

経時的に、細胞質内にみられた二種類の封入体の形の変化及び、その構造を観察し、Matrix 及び、未熟ウイルスは光顕での B 型封入体に、内部にウイルスの終始見られなかった電子密度の高い線維様構造を有し、円形乃至楕円形の封入体は A 型封入体に一致すると考えられる。この A 型封入体は限界膜を有せず、内部にウイルスを認めず、その大きさは個々に大きくなるのみならず融合によっても増大する。

論文の審査結果の要旨

Cowpox ウイルスの感染細胞に出現する封入体に関しては 1939 年 Downie が光学顕微鏡にて、その染色性により Eosinophilic body として発表した。その後、釜洞らはメタノール固定、ギムザ染色により、その感染細胞には、A 型、B 型の二種類の封入体が出現することを明らかにした。

本研究は、Cowpox ウイルスに感染せしめた FL 細胞を、経時的に、光学顕微鏡所見と対比しつつ電子顕微鏡により観察したものである。

その結果

A 型封入体は、

1、内部構造は、電子密度の高い粗い線維様乃至顆粒状であった。また、内部にウイルスは終始認められなかった。空胞も存在しなかった。

2、その周辺部には、細胞質へ向う線維様の電子密度の高い突起がみられた。そして限界膜は認められず、ウイルスの附着する像も認められなかった。

3、形は円形、卵形及び楕円形のものが多く、境界は比較的鮮明であった。封入体が、互いに融合している像も観察された。

B 型封入体は、Matrix 及びウイルスの集団であり、ウイルスの形成過程は、他の Pox group ウイルスで、すでに観察されている像とよく一致していた。境界は A 型のもののほど鮮明ではなかった。

Vaccinia ウイルスと通称されるウイルスには Cowpox ウイルス由来と Variola ウイルス由来がありその区別があいまいなままに、研究材料として使われてきた。

本論文は由来の明らかな Cowpox ウイルスを用い、光学顕微鏡のみで観察されていた。その A 及び

B 型封入体を、超薄切片による電子顕微鏡下で初めて観察したものである。その結果、A 型封入体の構造は、他の Pox ウイルスの A 型封入体と異なる独自のものであることが証明された。B 型封入体は、他の Pox ウイルスの B 型封入体と同様、ウイルス素材の形成部位であるばかりでなく、その内部において、ウイルスの成熟過程が行はれていることを証明した。

すなわち、本論文は天然痘群ウイルスの増殖機構に対して極めて有力なる情報を提供したものであり、すぐれた価値ある学位論文と考える。