OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ワクチニアウイルス感染によるL細胞の巨細胞形成について
Author(s)	加来, 弘臣
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28607
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

【10】

氏名・(本籍)	加来弘臣（かく ひろおみ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第493号
学位授与の日付	昭和39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1項該当
学位論文題目	**ワクチニアウイルス感染によるL細胞の巨細胞形成について**
論文審査委員	(主査) 教授 釜洞醇太郎　(副査) 教授 奥野 良臣　教授 川俣 順一

論文内容の要旨

〔目　　的〕

L細胞の単層組織培養細胞に活性ワクチニアウイルスを感染させると，細胞は形態学的に，先づ Cell rounding を起し，次いで相互に凝集し，巨細胞を形成するウイルス株が感染した場合は，感染後10時間を過ぎると，細胞は融合しはじめ，16時間頃迄に巨大多核細胞を完成する。著者は最近 Vaccina IHD の中に細胞融合を起す亜株と，起さない亜株がある事を認めた。これらの性質を比較検討し，更に進んで，細胞融合の機作を追求しようとするのがこの実験の目的である。

〔方法並びに成績〕

材料と方法：使用ウイルスは Vaccina IHD。細胞はマウス由来のL細胞を5％子牛血清を含む YLH で培養した。薬剤は 5 Bromodeoxyuridine (以下 BDU と略す) Actinomycine S (ACM), Mitomycin C(MM) 及び Puromycin (PM) と p-Fluorophenylalaine (FPA) を用いた。

ウイルス感染の操作は，細胞を Hanks 液で洗い，ウイルス液を重層吸着させた後，Hanks 液で洗滌して増殖培養液を加えて 37°C に置いた。薬剤は感染前又は感染後の一定の時間に加えて，巨細胞形成を顕微鏡下に見た。ウイルス感染価は Plaque 法で測定した。

成　　績

1) 巨細胞形成能の差異のある亜株の分離。Vaccinia IHD は武田薬品 KK 研究所より分与を受けたものである。数年前，我々の研究室でマウスの Ehrlich's ascites tumor cell に通した株は，L細胞に感染すると巨細胞を形成するが，ニワトリの赤血球は凝集しない。それで Hemagglutinine を産生する株を更に求め，著者は，この中から巨細胞を形成する亜株と，しないものがある事を認めて cloning を行なった。3者を巨細胞形成能と血球凝集能の有無を marker にして夫々順に G^+HA^-, G^+HA^+, G^-HA^+ と略称する。

これら3者は，紫外線と熱に対する抵抗性及び，免疫学的に CF 試験と， G^+HA^+, G^-HA^+ の間の HI 試験の成績で差異は認められない。

同一の Vaccinia IHD の中に巨細胞形成をするものと，しないものがある事は，ウイルス DNA の中に巨細胞形成に関する異なった遺伝子が含まれている事を暗示している。

2) 巨細胞形成の機作の追求。

a) ワクチニアウイルスでは活性ウイルスだけでなく紫外線不活化ウイルスでも 巨細胞を形成する事が知られている。しかし活性ウイルスでは Adsorbed multiplicity が0.5から20以上の間で同じ様相で巨細胞を作るのに反して，紫外線不活化ウイルスでは，15以下では巨細胞が出来にくい。この事実は両者の巨細胞形成の機作には差異があることを示しているが，著者は先づ活性ウイルスによる巨細胞形成の機作を追求した。

b) 上記薬剤は夫々細胞の核酸及び蛋白の合成を阻害するものでいずれも活性ウイルスの増殖を抑える。薬剤で細胞を前処置した場合には ACM のみが巨細胞形成を抑制する。

感染後，時間を追って薬剤を加えていくと，興味ある結果を得た。即ち DNA 中の thymidine と置き代って正常 DNA の合成を阻害する BDU は感染後4時間迄に加えた場合は巨細胞形成を抑えるが，5時間以後に加えても BDU 存在下で巨細胞は対称と同じように出来てしまう。ACM は DNA と結合し複合体を作り，RNA（特に DNA-dependent-RNA）の合成を阻害する興味ある抗生物質であるが，これでは5時間迄巨細胞形成を抑える。PM（或いは FPA）は蛋白合成を特異的に抑えるが，これにより巨細胞形成は7時間迄は抑えられるが8時間以後では非常に高濃度に加えても巨細胞形成を見る。MM ではウイルスの増殖は抑えられても，巨細胞形成は抑えられない。以上の結果は BDU ではウイルス DNA (gene) を侵すため，ACM では DNA-ACM complexes が出来て，gene の情報発現が阻害されるか，RNA（それは蛋白合成に必須不可欠である）の合成が阻害されるために巨細胞は形成されない。更に PM によって蛋白合成が阻害された時巨細胞形成は最も遅く迄抑えられてしまう。細胞融合がウイルス感染に伴う細胞膜の変化によると言う事は現在一般的に推測されてきた事だが，著者は，それに加えてウイルス感染により細胞内に新らたに惹起される蛋白合成が細胞融合に重要な役割を果している事を この実験で明らかにした。

c) BDU と ACM を感染後6時間目に加え，PM は8時間目に加えて，16時間後に巨細胞形成が完成しているのを確めた後薬剤を除くと PM 及び BDU（この場合 Thymidine を25倍量加える。）処理の細胞ではウイルスは再び増殖をはじめる。ACM で処理した細胞では RNA 合成が止められているから勿論ウイルスは増えない。即ち活性ウイルス増殖と巨細胞形成は分離出来る事，更に薬剤存在下に出来た巨細胞もウイルス増殖に関して正常と変わらぬ生物学的活性を持つている事を明らかにした。

〔総　　括〕

ワクチニアウイルスの中から巨細胞形成能が違う亜株を分離し，ウイルス感染によるL細胞の巨細胞形成は，感染に伴う細胞内蛋白合成が重要な役割を演じている事，又，成熟ウイルスの増殖が巨細胞形成と直接的な関係をもたず分離出来る事を明らかにした。

論文の審査結果の要旨

論文は，先づ第1段階の実験で，Vaccinia IHD の中に，感染細胞に巨細胞形成を惹起する変異株と，惹起しない亜株がある事を明らかにしている。そして，この性質の相異はウイルスの遺伝学的性質に基づくという見地より，第2段階で，巨細胞形成の機序を明らかにしようとする目的で実験を進めている。即ち，DNA 合成を選択的に阻害する 5-bromodeoxyuridine と，DNA と結びついて RNA 合成を阻害する actinomycin，及び，蛋白合成を選択的に抑制する puromycin を，夫々感染細胞に作用させると，感染後一定の時間内に薬剤を加えた場合のみ，巨細胞形成を抑制する事，しかもその抑制時限が，上述薬剤の順に順序正しく並んでいる事が分った。そして，puromycin が最も遅く迄，巨細胞形成を抑える事から，巨細胞形成は，ウイルスの遺伝子に基づいて，感染後比較的早期（この実験では感染後8時間迄）に作られる蛋白合成が重要な役割を演じている事を明らかにした。更に薬剤によるウイルス増殖の抑制と，巨細胞形成との関係を解析した結果，成熟ウイルスの増殖が，巨細胞形成に直接的関係を持っていない事を明らかにした。巨細胞形成のために必要なある種の物質が，ウイルス感染により細胞内に生ずると言う仮説は，従来より言われて来たが，この論文は，その実証のために一歩を進めたと言う意義をもっている。