

Title	Polyoma virusによる耳下腺腫瘍の発生とウィルスの消長について
Author(s)	金井, 利彦
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28929
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 4 】

氏名・(本籍)	金 井 利 彦 かな い とし ひこ
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 9 1 4 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 3 月 28 日
学位授与の要件	歯学研究科歯学臨床系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Polyoma virus による耳下腺腫瘍の発生とウィルスの 消長について
論文審査委員	(主査) 教授 永井 巖
	(副査) 教授 寺崎 太郎 教授 小谷 尚三

論 文 内 容 の 要 旨

1957年 Stewart 及び Eddy により発見された Polyoma virus は、AK 系マウスの白血病材料より得た無細胞抽出液を培養細胞に接種して分離されたもので、新生児マウスの皮下に接種すると、数カ月を経て耳下腺をはじめ種々の臓器に上皮性或いは間葉性の多種類の腫瘍を発生させる興味ある腫瘍ウイルスである。しかし、このように Polyoma virus によって発生した腫瘍組織中に通常の方法でウイルス粒子を見出すことは困難とされ、ウイルス感染によって組織の腫瘍化が起ると、その組織からウイルス粒子は消失するといわれている。しかしながら、これらウイルス粒子の消失した腫瘍組織の無細胞抽出液は、マウス胎児培養細胞に数代通過させたのち、その培養液上清を Polyoma virus に感受性のある動物に接種すると造腫瘍性を示すことが報告されている。以上の知見を背景に、著者は、腫瘍が発生するまでにこのウイルスがどのような過程を経て消失して行くか、またこのウイルスによって発生した腫瘍組織を *in vitro* で培養した場合いかなる態度を示すかなどの点を知る目的で、本ウイルスの接種により腫瘍が最も高率に発生する耳下腺組織においてウイルスの消長を追求した。

実験には、生後24時間以内の ddO 新生児マウスを用い、その顎下部皮下に赤血球凝集価 1024の Polyoma virus (2609株) 浮遊液 0.05 ml を接種し、4日、7~14日、30~47日、2~6カ月の各時期の接種マウス(総数約120匹)についてその耳下腺組織におけるウイルスの消長を *in vivo* 及び *in vitro* において検索した。すなわち蛍光抗体法を用いてウイルス抗原の存在を検するとともに、補足的に電子顕微鏡の観察を平行して行なった。なお *in vitro* での観察は、腫瘍細胞を Leighton tube に入れた cover slip 上に培養して行なった。さらにこれら培養された腫瘍細胞における H³-thymidine のとりこみの状態を autoradiography により、また核酸の分布を acridine orange

染色により観察するとともに、耳下腺腫瘍細胞の培養液上清についてもその赤血球凝集作用の有無、程度、感染性をしらべた。

著者の研究の結果明らかにされた諸点を要約すると次のようである。

1 *in vivo* での観察において、ウイルス接種後47日目までの耳下腺組織ではそのすべてにウイルス抗原の局在を示す特異蛍光が見られた。個々の耳下腺におけるウイルス抗原含有細胞は接種後4日目頃では僅かであり、ついで接種後1～2週間目頃になると抗原含有細胞は著しく増加し、さらに接種後30～47日を経ると抗原含有細胞は再び少なくなり散在性となった。ウイルス接種後2～6カ月を経たマウスでは約70%に耳下腺腫瘍の発生が認められたが、これらの腫瘍の大半はウイルス抗原の存在を示さず、一部の腫瘍にのみ極く僅かな抗原含有細胞が認められた。他方2～6カ月の観察期間中腫瘍化の見られなかった耳下腺においてはその約半数に抗原含有細胞が認められたものの、この場合にもその数は僅かであった。なお腫瘍形成の潜伏期が長くなるにしたがい、抗原含有細胞の証明される耳下腺の数及び抗原含有細胞の数は少なくなる傾向が認められた。ちなみに、これらウイルス抗原は腫瘍細胞、非腫瘍細胞ともに主として核内に認められた。一方 Polyoma virus 感染組織を電子顕微鏡的に観察したところ、ウイルス接種後1～2週間目の耳下腺組織細胞ではその核内にウイルス様粒子の集合像が見られた。しかし腫瘍化した耳下腺組織細胞では、そのような像をみとめることができなかつた。以上の結果は、新生児マウスに接種された Polyoma virus は耳下腺組織内で一旦急激に増殖し、その後は次第に減少ないしは消失すること、この傾向は腫瘍組織において著明であることを明らかにするものである。

2 *in vitro* での観察では次の所見がえられた。すなわち上記の腫瘍化した耳下腺組織細胞を培養し蛍光抗体法で観察したところ、培養後急激にウイルス抗原含有細胞が増加して全培養細胞の88%に達し、その後細胞変性が進むにしたがい次第にウイルス抗原含有細胞のしめる割合は低下した。正常マウス胎児培養細胞が Polyoma virus に感染した場合、ウイルス抗原の存在を示す特異蛍光は感染初期には核内に、ついで細胞が変性する頃には細胞質に見られるが、この腫瘍細胞を培養した場合には、ウイルス抗原は細胞質に見られ、核内では全く証明し得なかつた。なおこの所見に一致して、 H^3 -thymidine を添加して培養した耳下腺腫瘍細胞の autoradiography では、DNA 合成が行なわれていることを示す銀粒子が、また acridine orange 染色では DNA の存在を示す緑色蛍光が細胞質にみられた。一方腫瘍細胞の培養液上清を赤血球凝集反応でしらべたところ、培養4日目に赤血球凝集素が出現し、培養日数が長くなるにしたがい赤血球凝集価は上昇するのがみられた。しかしその値はマウス胎児培養細胞に Polyoma virus を感染させた場合に比べると常に低値であった。さらに上記の腫瘍細胞の培養液上清をマウス胎児培養組織に加え蛍光抗体法で観察したところ、核内にウイルス抗原を含有する細胞がみられ、数日後には細胞変性効果もみとめられた。これらの結果は *in vivo* でウイルス粒子を見出し得なかつた腫瘍細胞にも *in vitro* で培養することによって完全ウイルスを証明し得ることを示すものといえよう。

in vivo 並びに *in vitro* での以上の実験結果から、Polyoma virus は腫瘍細胞においては粒子形態をとらず、抗原性にも乏しいが、なおウイルスの genome は保持され、特異な宿主とウイルスとの関係の下にいわゆる masked された状態で存在するものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

人腫瘍の発生にウイルスが関与するかどうかということは癌研究における重要な課題の一つであり、多数の研究者によって活発な研究が行なわれているが、いまだに明確な結果が得られていないのが現状である。一方実験動物に関してはいくつかの腫瘍ウイルスの存在が確認されており、なかでも Polyoma virus は数種の動物に多種類の腫瘍を発生させる興味ある腫瘍ウイルスである。すなわち、このウイルスによって発生した腫瘍組織中には通常の方法によってウイルス粒子を見出すことは困難とされており、腫瘍発生とこのウイルスの消長とを追求することは実験動物におけるウイルス性腫瘍の発生機序の解明に役立つばかりでなく、人腫瘍ウイルスの検索にも重要な示唆を提供するものと考えられる。

本論文に述べられている金井の研究は、上述のような考えの下に、Polyoma virus の接種によって腫瘍が最も高率に発生するマウスの耳下腺組織について、腫瘍が発生するまでにこのウイルスがどのような過程を経て見られなくなるのか、さらにこのようにウイルスが見掛け上消失した Polyoma 腫瘍組織を *in vitro* で培養した場合いかなる態度を示すかなどの点を明らかにせんとしたものである。

本論文で著者は、ウイルス接種後 1～2 週目頃には多数のウイルス抗原含有細胞が観察されるが、その後次第にその数を減じ、腫瘍化した組織では著しく減少するか或いは全くみられなくなること、また Polyoma virus 感染組織を電子顕微鏡的に観察した場にも、非腫瘍組織にみられるウイルス様粒子が腫瘍化した組織では認められないことから、新生児マウスに接種された Polyoma virus は耳下腺組織内で一旦急激に増殖し、その後は次第に減少ないしは消失すると述べ、またこの傾向は腫瘍組織において著明であることを指摘している。さらに本ウイルスによって発生した耳下腺腫瘍細胞を *in vitro* で培養した場合、次第に変性の傾向がみられるが、その際多数のウイルス抗原含有細胞がみられる点、またこの所見に一致して細胞質内に DNA の存在が認められること、さらにまた培養上清に赤血球凝集能および感染性が認められることなどから、*in vivo* でウイルス粒子を見出し得ない腫瘍細胞にも、*in vitro* で培養することによって完全ウイルスを証明し得ると論じている。

本論文に示された以上の実験成績は、Polyoma virus は腫瘍細胞においては粒子形態をとらず、抗原性にも乏しいが、なおウイルスの genome を保持し、宿主とウイルスとの特異な関係の下にいわゆる mask された状態で存在することを示唆するものであって、この事実は実験動物におけるウイルス性腫瘍さらには人腫瘍の研究に新たな手がかりを提供し、今後この方面の研究の進展に大きな貢献をなすことを期待しうる誠に有意義な論文であると考えられる。