



Title	III型ポリオウイルス (Saukett株) の鶏胎児細胞通過による弱毒化に関する研究
Author(s)	岡部, 正二
Citation	大阪大学, 1965, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29001">https://hdl.handle.net/11094/29001</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	岡 部 正 二
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 816 号
学位授与の日付	昭和40年12月13日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Ⅲ型ポリオウイルス(Saukett株)の鶏胎児細胞通過による弱毒化に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 奥野 良臣
	(副査) 教授 釜洞醇太郎 教授 天野 恒久

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

弱毒生ポリオウイルスワクチンは、Koprowski, Cox, Sabin らの研究によって漸く実用化をみるに至った。しかしこれらワクチンに関しても尚研究改良すべき点が多く残されており、殊に人腸管通過によりマーカー試験に変化を示すものがある。この点ポリオワクチンⅠ型及びⅡ型に関しては、かなり安定した成績を示すのであるが、Ⅲ型については殆んどがマーカーの変化即ち毒性復帰を示し、危険性が考えられるのでその改良が要望されている状態である。著者は発育鶏卵、猿腎組織培養及び鶏胎児組織培養を利用することにより、弱毒株が得られるのではないかと考えこの研究を行なった。

#### 〔方法並びに成績〕

##### 1 発育鶏卵培養

組織培養で増殖させたFL細胞を培養液に浮遊させ、孵化7日卵に作った人工気室の漿尿膜上にその0.5mlをピペットで滴下し、その上に組織培養継代のポリオウイルスⅢ型(Saukett株)を0.5ml接種した。7日間孵化した後開卵し、漿尿膜及び尿液を採取乳剤とし、3,000 r.p.m 20分間遠心しその上清0.5mlを同じ様にFL細胞と共に次代漿尿膜上に継代した。

##### 2 猿腎組織培養及び鶏胎児組織培養の交互継代

1の方法で5代継代したポリオウイルスⅢ型Saukett株を、猿腎組織培養と鶏胎児組織培養とを交互に用い継代した。即ち、ウイルスを接種した後、猿腎組織培養の場合は通常接種後3~4日目に一定の細胞変性を示してから培養液を採集し次代継代に接種し、また鶏胎児組織培養では、接種後3~4日目に培養液を交換し7日目に細胞変性の見られる頃培養液を採集し次代継代に接種した。猿腎組織培養第7代通過後的小ブラックよりブラック純化株を得た。

##### 3 神経病原性試験

神經病原性の試験は、ウイルスを含んだ培養液 0.2ml を猿の脊髄又は脳内に接種し、麻痺の有無を判定した。即ち発育鶏卵培養 5 代のウイルスを、鶏胎児組織培養ならびに猿腎組織培養を交互に通過させたウイルスと、Saukett 株ウイルスについて、猿の脳内接種により神經病原性を比較した結果、Saukett 株では 2 匹何れも麻痺を認めたが、6 回の交互継代によるウイルスを接種した猿 4 匹、及びブラック純化株ウイルスを接種した猿 3 匹は何れも麻痺を認めず、6 回の交互継代により神經病原性の明らかな低下を認めた。

#### 4 温度感受性試験 (T マーカー)

ポリオウイルスの強毒株は 40°C においても容易に増殖するが、一方弱毒株はこのような高温では増殖が高度に抑制されていることが知られている。そこで最初の Saukett 株及び本実験による継代ウイルスについて、温度感受性試験を行なった。即ち猿腎組織培養を 2 群準備し、連続稀釀したウイルス材料を接種吸着させた後、細胞層を寒天上層をもって重層し、1 群は 37°C で、他の 1 群は 40°C で培養、4 日後にブラック形成の状態を比較した。その結果、交互継代の進むに従い漸次に T(+) から T(-) への移行がみられ、ブラック純化株は完全に T(-) の性質を示した。

#### 5 ブラックの比較

最初の Saukett 株、Sabin 弱毒株、及び本実験で得られた純化株につき、猿腎組織培養上におけるブラックの状態を比較した。最初の Saukett 株のブラックは大きく不均一であり、Sabin 株のそれはやや小さく均一であった。一方本実験による純化株のブラックは、最も小さく且つ最も均一であった。

#### 〔総括〕

- 1) ポリオウイルスⅢ型 (Saukett 株) を、発育鶏卵漿尿膜上に感受性細胞の培養を併用することにより一定世代まで継代した。
- 2) 上記継代ウイルスを引きつづき、猿腎組織培養及び鶏胎児組織培養に交互に 6 回継代の後、猿腎組織培養で増殖させ、ブラック純化株を得た。
- 3) ブラック純化株につき、猿における神經病原性試験及び温度感受性試験を行ない、高度に弱毒化されていることを認めた。

### 論文の審査結果の要旨

弱毒生ポリオウイルスワクチンは、Koprowski, Cox, Sabin らの研究によって実用化をみるに至った。しかしこれらワクチンに関しても、尚研究改良すべき点が残されており、殊に人腸管通過によりマーカー試験に変化を示すものがある。この点ポリオワクチンⅠ型、Ⅱ型に関しては、かなり安定した成績を示すのであるが、Ⅲ型については多くがマーカーの変化を示し、その改良が要望されている。そのためには、従来の弱毒株とは異なった新らしい弱毒株を得ることが、改良の第 1 段階と考えられる。一方、ポリオウイルスの培養については、猿腎細胞が一般に用いられてきたが、発育鶏卵、鶏胚細胞を用いる方法についても、特に阪大微研において研究してきた。

本研究は、Ⅲ型ポリオウイルス (Saukett 株) について、発育鶏卵培養を行なった後、猿腎細胞と鶏胎児細胞を交互に継代するという全く新らしい方法によって、新ウイルス株を得たもので、このウイルス株は、猿における神経病原性試験、温度感受性試験、およびブラックの状態等より判断し、高度に弱毒化されていることが証明され、現在Ⅲ型弱毒株として最も優秀とされている Sabin 弱毒株に較べ、劣らないものであることがわかった。

以上、本研究は全く新らしい方法により、Ⅲ型ポリオウイルス (Saukett 株) の弱毒化に成功したもので、更に安定したⅢ型弱毒生ポリオウイルスワクチンの開発への1段階として意義あるものと考えられる。