

Title	ボックスウィルスと同調FL細胞の相互関係
Author(s)	萬谷, 雅宣
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29677">https://hdl.handle.net/11094/29677</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	萬 谷 雅 宣 まんに たに まさ のぶ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1650 号
学位授与の日付	昭 和 44 年 3 月 28 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	ボックスウイルスと同調FL細胞の相互関係
論文審査委員	(主査) 教 授 加 藤 四 郎 (副査) 教 授 釜 洞 醇 太 郎 教 授 深 井 孝 之 助

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

ボックスウイルス感染細胞は細胞質<sup>α</sup>B<sub>2</sub>型封入体においてウイルス DNA 合成が発現することが加藤らにより明らかにされ、ウイルス DNA 合成と細胞核 DNA 合成の関係を追求する上に好適な系となっている。更に加藤らは、この系につきボックスウイルスの増殖を示す細胞の核 DNA 合成が抑制を受けることを認めている。この現象の細胞周期との関係、又細胞周期がウイルス増殖に及ぼす影響を調べるために、過剰 thymidine (Tdr) の2回処理法による同調培養細胞とボックスウイルスの系を用いて研究した。

#### 〔方 法〕

1) 培養細胞の同調。 Bootsma (1964) によって開発された過剰 Tdr を2回細胞に作用させる方法を用いた。cloning を行なった FL 細胞を過剰 Tdr (0.625mg/ml) を含む培地で20時間培養し、Tdr 除去後更に20時間培養した後、第2回の過剰 Tdr 処理を行なった。2回目の Tdr 除去後、各2時間ごとにレイトン管より細胞を取り出した。取り出す前1時間は<sup>3</sup>H-Tdr (1μc/ml) で pulse label した。

2) ウイルス感染。 使用したボックスウイルスは、牛痘ウイルス (LBred<sup>α</sup>A<sub>2</sub> V<sup>-</sup>) とエクトロメリヤウイルス (Hampsted<sup>α</sup>A<sub>2</sub> V<sup>+</sup>) である。Tdr 除去後2時間のづれでウイルスを細胞に moi 10~5 で感染させ感染後7時間又は9時間に細胞を取り出した。取り出す前1時間は<sup>3</sup>H-Tdr (1μc/ml) で pulse label した。又採取材料の1部で産生ウイルス量を測定した。

3) autoradiography (AR)。 採取した細胞標本は全てメタノール固定後、2%過塩素酸処理して Kodak NTB<sub>2</sub> による dipping AR を行なった。露出時間は3日間。後染色には、ギムザ染色を用いた。

## 〔成 績〕

〔A〕FL 細胞の同調実験。同調 FL 細胞（非感染）は Tdr 除去後 4～6 時間目には 90% 以上の細胞が核 DNA 合成を示し、10 時間頃より急速に核 DNA 合成を示す細胞は減少し、20 時間では 5% 以下になった。mitotic index は Tdr 除去後 11～15 時間目に 15～20% に達した。

〔B〕同調 FL 細胞の感染実験。同調後の各点で牛痘ウイルスを感染させ、更に 7 時間後に標本をとった実験結果を例にして述べる。

1) ウイルス DNA 合成を示す細胞の核 DNA 合成の同調。各時点の標本につき、<sup>3</sup>H-型封入体含有細胞（<sup>3</sup>H-細胞）の百分率、<sup>3</sup>H-細胞にして核が label されているもの、<sup>3</sup>H-を持たない細胞にして核が label されているものの百分率、更に同調細胞の非感染実験における核が label されているものの百分率をそれぞれとって plot し、それらの推移を比較した。この場合、核あたり 10 コ以上の銀粒子数を持つものを label された核として計算した。細胞同調の何れの点を見ても <sup>3</sup>H-細胞の百分率は、略ぼ一定値を示して著しい変動を認め難い。然し label された核の百分率の推移は、<sup>3</sup>H-の有無に無関係に非感染同調細胞のものとも一致している。即ち細胞核 DNA 合成の周期は、ウイルス DNA 合成を示す細胞の百分率に著しい影響を与えない。又ウイルス DNA 合成を示す細胞は、その細胞の生理的な S 期に一致して核 DNA 合成を営むことがわかる。

2) ウイルス DNA 合成を示す細胞の核 DNA 合成の抑制。この S 期に発現する DNA 合成の量的な関係を調べるため上述の標本につき核あたり 50 コ以上の銀粒子数を持つものを label された核として同様の百分率曲線を取ると共に、核 DNA 合成細胞の百分率の最も高い標本につき、<sup>3</sup>H-細胞と <sup>3</sup>H-を持たない細胞の核上の銀粒子数を計算して比較すると、<sup>3</sup>H-細胞の核 DNA 合成は明瞭な抑制を受けていることがわかった。上述の実験結果は、エクトロメリヤウイルスを用いた場合にも全く同様である。

3) 細胞核 DNA 合成周期のウイルス増殖に及ぼす影響。同調後の各点で、牛痘ウイルスを感染させ更に 9 時間後に採取した標本につきウイルス感染価を測定した。感染価は、何れも  $3.2 \sim 5.8 \times 10^6$  pfu/ml を示し、<sup>3</sup>H-細胞の出現率とともに著しい変動を示さない。即ち細胞核 DNA 合成周期は、ウイルスの増殖に著しい影響を示さない。

4) 核分裂像とウイルス DNA 合成を示す細胞。mitotic index は感染群では著しい低値を示し、感染細胞は大部分 M 期に入り難いことが考えられる。然し 1 部に核分裂像を示す細胞にして封入体を持つものがあり、勿も封入体は DNA 合成を示した。

## 〔総 括〕

1) ポックスウイルス感染細胞は、ウイルス DNA 合成を営みつつその細胞の S 期に一致する核 DNA 合成を同時に営む。然しその核 DNA 合成は量的に抑制を受けている。

2) ウイルス感染にあたり、細胞の核 DNA 合成の周期は、ウイルス封入体形成とともに感染性ウイルスの産生に著しい影響を与えない。

3) 核分裂像を示す細胞にして、封入体形成とともにその DNA 合成活性を示すものを観察した。

## 論文の審査結果の要旨

著者は、動物細胞の同調に最も好適な方法として過剰 thymidine 2 回処理法を初めて動物ウイルス研究の分野に導入し、宿主細胞核の DNA 合成と、細胞質に於けるポックスウイルス DNA 合成の関係を研究した結果、1) ウイルス感染は、細胞の G 期、S 期を通じて同様に成立すると共に、ウイルス封入体の形成、並びに、感染性ウイルスの形成に、殆ど影響を与えない。2) ウイルス DNA 合成を示す細胞は、核 DNA 合成の抑制が認められるが、決してその停止ではなく、その細胞の生理的 S 期に一致する核 DNA 合成を示す。

従来ウイルス核酸合成と細胞周期との関係を細胞レベルで明確に把握した例が無く、動物ウイルス学上重要な知見をもたらした論文と考える。