



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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	萬	谷	雅	宣
	まん	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	ポ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〕

ポックスウイルス感染細胞は細胞質  $^3\text{B}$ 、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、この系につきポ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ポ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  $^3\text{H-Tdr}$  ( $1\mu\text{c}/\text{ml}$ ) で pulse label した。

2) ウィルス感染。 使用したポックスウイルスは、牛痘ウイルス (LBred  $^3\text{A}_s \text{V}^-$ ) とエクトロメリヤウイルス (Hampsted  $^3\text{A}_s \text{V}^+$ ) 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  $^3\text{H-Tdr}$  ( $1\mu\text{c}/\text{ml}$ ) 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) ウィルス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>B<sup>-</sup>型封入体含有細胞（<sup>3</sup>B<sup>-</sup>細胞）の百分率、<sup>3</sup>B<sup>-</sup>細胞にして核がlabelされているもの、<sup>3</sup>B<sup>-</sup>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>B<sup>-</sup>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>B<sup>-</sup>の有無に無関係に非感染同調細胞のものと一致している。即ち細胞核DNA合成の周期は、ウィルスDNA合成を示す細胞の百分率に著しい影響を与えない。又ウィルス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) ウィルス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に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>B<sup>-</sup>細胞と<sup>3</sup>B<sup>-</sup>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>B<sup>-</sup>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>B<sup>-</sup>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) 核分裂像とウィルス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) ウィルス感染にあたり、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) ウィルス感染は、細胞のG期、S期を通じて同様に成立すると共に、ウィルス封入体の形成、並びに、感染性ウイルスの形成に、殆ど影響を与えない。2) ウィルス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。