

Title	可移植性Polyoma腫瘍細胞とL株細胞との融合によるPolyoma Virusの誘発について
Author(s)	伏見, 宣好
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/30096
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	伏見宣好
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 1948 号
学位授与の日付	昭和 45 年 3 月 30 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	可移植性 Polyoma 腫瘍細胞と L 株細胞との融合による Polyoma Virus の誘発について
論文審査委員	(主査) 教授 小谷 尚三 (副査) 教授 寺崎 太郎 教授 宮崎 正 講師 吉岡 濟

論 文 内 容 の 要 旨

一般に腫瘍ウイルスによって腫瘍化した細胞では、原因ウイルスの genome が保持されているも、その機能の発現が何らかの原因で抑えられ、ウイルス合成が初期の段階で中断されるために、完成されたウイルスを検出し難いことが知られている。しかし最近になって、このようにウイルス合成が抑制されていると考えられる腫瘍細胞も、適当な条件が整えられると、完全なあるいはほとんど完成されたウイルスを放出し得ることを示す成績が集積してきつつある。

さて SV₄₀ によって transform されウイルスの産生をほとんど示さない細胞を、このウイルスに感受性のある細胞と細胞融合させて培養すると、transform された細胞からウイルスが誘発されることが Koprowski らによって報告されている。著者はこれらの研究を参考とし、かつ腫瘍細胞一般に潜伏している可能性が考えられるウイルス genome の存在様式、ウイルス合成の抑制機構などの手掛りを得ることを究極の目標として、著者の属する研究室で種々の観点から検索が進められている polyoma 腫瘍のウイルス genome の研究に細胞融合という新しい技法を適用し、以下述べる研究を実施した。

実験に用いた可移植性 polyoma 腫瘍は、次の方法で得た。すなわち ddO 系マウスの新生児に polyoma virus を接種し、発生した腫瘍組織を細切したものを生後 6～8 週目の同じ系のマウスの背部皮下に移植する操作をくり返すことにより、移植 4 代目以降 100% の移植率を示し、また速かな腫瘍の増大がみられる腫瘍系を確立した。このようにして 20 数代以上継代移植を重ねた可移植性 polyoma 腫瘍細胞と、polyoma virus に感受性を示すことをあらかじめ確かめた L 株細胞、ならびに感受性のないことが示された HeLa 細胞あるいは Ehrlich 腹水癌細胞とを、紫外線で不活化した HVJ (hemagglutinating virus of Japan) を仲介として細胞融合させた。これらを 10% 仔牛血清を加えた Eagle 培養液で培養し、7 日間にわたって経日的に培養上清の

赤血球凝集 (HA) 活性, マウス胎児培養細胞に対する感染性を測定し, また蛍光抗体法でウイルスの出現を観察することにより, 細胞融合した腫瘍細胞に polyoma virus が産生されるかどうかを検討した。この際細胞融合の程度は, 腫瘍細胞に融合させる細胞の核をあらかじめ ^3H -thymidine によって標識しておき, autoradiograph 法によって heterokaryon の核数の全核数に対する割合 (%) を求めることにより推定した。polyoma virus の誘発が成功した L 株細胞と可移植性 polyoma 腫瘍細胞との細胞融合実験では, 15~18% の heterokaryon の形成が認められた。

得られた研究結果を要約すると次のようである。

1) 細胞融合実験に供試した継代20代目以後の可移植性 polyoma 腫瘍を移植されたマウスは, その血清中に 64~128 H I 価程度の低いウイルス中和抗体を保有することが認められたが, 移植により発生した腫瘍細胞には蛍光抗体法によってウイルス抗原は検出されず, また腫瘍抽出液の HA 活性および感染性も陰性であった。

2) L 株細胞と可移植性 polyoma 腫瘍細胞との融合細胞を培養して polyoma virus の放出を調べたところ, 培養後 4 時間目から培養上清の HA 価, マウス胎児細胞に対する感染価 (TCID₅₀ として求めた) の上昇を認め, 培養 2 日目ですでに HA 価は 32~64 倍に, TCID₅₀ は約 $10^{-5.4}/0.2\text{ml}$ に達した。また蛍光抗体法による観察の結果, polyoma virus 抗原がもっぱら細胞融合を示す多核細胞の核のみならず細胞質に出現し, 4 日の培養では多核細胞の約半数がウイルス抗原陽性となることが示された。ちなみに単核細胞にはウイルス抗原の存在がほとんど認められなかった。一方, 腫瘍細胞を単独で培養し, あるいは HVJ を加えないで L 株細胞と混合培養した対照実験では, 培養上清における HA 価および TCID₅₀ は, 培養 2 日目までは著しく低値であり, 4 日目培養においてもそれぞれ 16 倍および $10^{-4.0}/0.2\text{ml}$ を越えることはなかった。また腫瘍細胞を単独で培養した際の polyoma virus 抗原陽性の細胞は, 観察期間を通じて数%前後に止った。

3) polyoma 腫瘍細胞を polyoma virus に感受性を示さない HeLa 細胞あるいは Ehrlich 腹水癌細胞と HVJ の存在下に細胞融合させて培養した場合には, L 株細胞と細胞融合させた場合とは全く異り, いずれの場合にもウイルスの誘発は認められなかった。

以上のように, 完成された感染性ウイルスを保有しないが, ウイルス genome を潜伏させていると考えられるマウスの可移植性 polyoma 腫瘍細胞と polyoma virus に感受性のある L 株細胞とを融合させると, その機序の詳細は現在のところ明らかでないが, ウイルス genome の機能が発現し, 抑圧されていたウイルス合成系が活動を始めてウイルスが誘発されることを明らかにした。

論文の審査結果の要旨

この論文には, ddO 系マウスに継代移植を繰り返した polyoma 腫瘍細胞を L 株, HeLa, および Ehrlich 腹水癌細胞などと融合させ, ウイルス誘発の有無を追求するという polyoma 腫瘍

の領域ではユニークな研究の成果が記載されている。HVJ の仲介を必要とする細胞融合は生体内では想定しがたい条件とも考えられるが、この方法は polyoma virus に対する感受性を異にする株化細胞を融合の相手方として選ぶことができる点で、今後ウイルス genome の誘発機序を解析するに当って極めて価値の高い方法と考えられる。

伏見君の研究は、この技法が polyoma 腫瘍の発生をめぐる本態的な問題の解明に利用し得ることを実証し、ウイルス genome の“機能”の発現ないし抑制に関与する要因を解析する有力な糸口を与えたものであり、同君は歯学博士の学位を得るのに十分な資格があるものと認める。