



Title	アデノ5型ウィルスの完全増殖系における細胞DNA合成の誘導
Author(s)	馬場, 宏一
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/30953">https://hdl.handle.net/11094/30953</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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

[14]

氏名・(本籍)	ば ば こう いち 馬 場 宏 一
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 2899 号
学位授与の日付	昭和48年7月30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	アデノ5型ウイルスの完全増殖系における細胞DNA合成の誘導
論文審査委員	(主査) 教 授 奥野 良臣  (副査) 教 授 岡田 善雄 教 授 豊島久真男

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

非腫瘍原性DNA型ウイルスである pox group 及び herpes group のウイルスは、感染後すみやかに細胞DNAの合成を阻害するが、腫瘍原性DNA型ウイルスである SV40、polyoma、adeno 12型ウイルスが細胞に感染した場合には、lytic infectionでも abortive infectionでも、細胞DNAの合成を induce することが報告されている。これ等の結果は、細胞DNAを induce する能力が腫瘍ウイルスに共通する特徴的な性質であることを示唆している。adenovirus group の中で、adeno 5型はこれまで非腫瘍原性とされ、又種々の感染細胞で細胞DNAの合成を阻止することが報告されている。adeno 5型ウイルスが感染細胞で細胞DNA合成を induce する能力を全く有していないかどうかを明かにすることは、このウイルスの潜在腫瘍原性を論ずる上で重要な問題と考えられる。私は細胞DNA合成阻害剤の存在又は不在下に種々の細胞にこのウイルスを感染させ、細胞DNA合成が induce されるかどうかを精細に調べた。

〔方法および成績〕

Ad 5を人胎児腎(HEK)、肺(HEL)、ハムスター腎(HamK)培養細胞に感染させ、ウイルスの増殖、<sup>3</sup>H-thymidineのDNAへの取り込み及びそのDNAの性質を、membrane filterによるDNA-DNA hybridization法を用いて調べた。

1. 感染細胞を一定時間毎に所定濃度の<sup>3</sup>H-dTを含む培養液でincubateした。所定の時刻に細胞をS-SCで洗い、DNAをpronase, SDS, フェノール法で抽出し、そこに含まれる<sup>3</sup>H-DNAの量、性質について検討した。
2. 細胞及びウイルスのDNAを抽出し、RNAを除去し、100℃で10分間加熱後急冷することにより、1本鎖DNAとし、これをmembrane filter(Millipore)に乾燥固定した。一方<sup>3</sup>H-DNAは超音

波処理、加熱急冷処理によって細片とし、その一定量を、membraneに固定させた細胞又はウイルスDNA上加えることによりhybridizeさせた。60°C、24時間でannealされた<sup>3</sup>H-DNAの量はシンチレーションカウンターで計測した。

3. 細胞自体の scheduled DNA 合成を阻止するためにFU (13 $\mu$ g/ml) と thymidine (0.5 $\mu$ g/ml) を培養液に添加した場合及び感染、非感染両細胞での酸可溶性分画の放射能比活性が出来る限り一定になるようHAG (1 $\times 10^{-5}$  M aminopterin, 1 $\times 10^{-4}$  M hypoxanthine, 1 $\times 10^{-5}$  M glycine) を加えて細胞の endogenous な合成を阻止した場合についても感染によって細胞DNAに取り込まれる<sup>3</sup>H-dTが増加するかどうかを調べた。

#### 成績

1. HEK, HEL, HamKにAd 5を感染させると、感染細胞に取り込まれる<sup>3</sup>H-dTの量は、いずれの系でも16時間頃から急速に増加し始めた。感染によるDNA合成の誘導は、HEKでは32時間まで、HamKでは43時間以上、又HELでは112時間以上にわたって観察された。
2. 感染後新たに合成された<sup>3</sup>H-DNAの性質を調べたところ、ウイルスDNAの合成は各系共感染後16時間頃から始まり、24~32時間でピークに達した。細胞DNAの誘導も16~20時間でピークに達したが、その持続期間は細胞系により明かに異っていた。HEKでは初期の1時期に誘導されるにすぎないがHamKでは28時間頃までに徐々に低下しながら持続し、32時間以降抑制された。又HELでは100時間以上の持続が観察された。一方CPEの発現は、HEK, HamK, HELの順に早くみられた。
3. FU処理した細胞にAd 5を感染させた場合も、HAG処理した細胞にAd 5を感染させた場合も、細胞DNAに取り込まれる<sup>3</sup>H-dTの量は対照に比べ増加した。即ち、FU処理により、DNAに取り込まれる<sup>3</sup>H-dTの量は非感染細胞では完全に阻止されたが、感染細胞ではかなりの量に達し、感染初期ではその大部分が細胞性であった。又HAGの存在、不在にかかわらず、感染細胞に於て初期に細胞DNAに取り込まれる<sup>3</sup>H-dTの量は、非感染細胞に於るその約3倍に達した。

#### 〔総括〕

人胎児腎、肺、ハムスター腎細胞にAd 5が感染すると、ウイルスの増殖に先立って、細胞DNAの合成が誘導されることが種々の薬剤を使った実験によって確認された。DNA誘導の持続期間は細胞によって異り、Ad 5感染細胞の場合、HEK, HamK, HELの順に長かった。細胞DNAが感染によって誘導されるメカニズムは不明であるが、その誘導期間がCPE発現の時期に重要な関連のあることが示唆された。Ad 12その他ほとんど全てのDNA型腫瘍ウイルスが、その完全増殖系を問わず、感染によって細胞DNAの合成を誘導することから、Ad 5も本質的には、腫瘍化のpotencyを有するものと考えられる。

#### 論文の審査結果の要旨

アデノ5型ウイルス感染細胞に於て、ウイルス感染後新たに細胞DNA合成が誘導されることを、DNA合成阻害剤の存在下、初代培養細胞(人胎児肺、腎、ハムスター腎)を用いて認めている。即ち5FUを用い、細胞自体の scheduled DNA 合成を極度に抑制しておいて、ウイルスを感染させた時、初

期に合成されるDNAは大部分が細胞性DNAであること、及びHAGT(hypoxanthine, aminopterin, glycine, thymidine)を用い細胞のendogenousなDNA合成を阻止しておいて<sup>3</sup>H-thymidineを取り込ませ、酸可溶性分画の放射能比活性を、感染、非感染の両細胞で出来るだけ一定にした条件でも、細胞DNAへの<sup>3</sup>H-thymidineのとり込みが感染細胞では非感染細胞の場合の約3倍に達したことを示している。

従来、アデノ5型ウイルスはハムスターに対し非腫瘍原性とされてきているが、アデノ12型ウイルスその他殆ど全てのDNA型腫瘍ウイルスが、その完全増殖系、不完全増殖を問わず、感染によって細胞のDNA合成を誘導することから、アデノ5型ウイルスも本質的には腫瘍化のpotencyを有することが考えられる。