

Title	マレック氏病由来リンパ腫細胞の長期培養系に関する研究
Author(s)	秋山, 曜子
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31566
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	あき　　やま　　よし　　こ 秋　　山　　曜　　子
学位の種類	医　　学　　博　　士
学位記番号	第　　3　5　6　7　号
学位授与の日付	昭　和　51　年　3　月　25　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	マレック氏病由来リンパ腫細胞の長期培養系に関する研究
論文審査委員	(主査) 教　授　加藤　　四郎 (副査) 教　授　天野　恒久　　教　授　豊島久真男

論　文　内　容　の　要　旨

〔目　的〕

ヘルペスウイルスによる腫瘍化機構を明らかにするため、ヘルペス群ウイルスに属し、ニワトリにリンパ腫をつくるマレック氏病ウイルス (MDV) によって腫瘍化したトリ・リンパ球の長期培養系を得て、その培養細胞と MDV との相互関係を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

MDV BC-1 株を SPF の初生ヒナに接種し 1～3 カ月後に生じた卵巣腫瘍をとりだし、細切して得た浮遊細胞を 10～20% 牛胎児血清添加 RPMI-1640 培養液で 5% CO₂ 培養基で 41℃ で培養し、長期培養系を得た。更に、この細胞を同様に SPF 初生ヒナに接種し、約 2 カ月後に生じた脾腫瘍から、再び長期培養系を得ることができ、前者を MOB-1 株、後者を MSB-1 株と名付けた。この 2 つの培養系は、後にのべるいくつかの性状の差異などから同一の株細胞ではなく、MSB-1 は MOB-1 によって次の宿主にもちこまれたウイルスで、新たに腫瘍化したリンパ球に由来したと考える。

この 2 つの培養系の性状及び MDV との相互関係について、検討し、以下の結果を得た。

- 1) 2 つの培養系は形態学的にリンパ芽球であり、37℃ よりも 41℃ において活発に増殖し、MOB-1 の doubling time は、ほぼ 24 時間、MSB-1 のそれは、10 時間であった。生細胞率は、両者とも 70～90% で現在まで 1 年以上にわたって増殖を続けている。
- 2) 両培養系の数% の細胞に常に蛍光抗体法によって MDV 抗原 (VA) 及び MDV 誘導細胞表面抗原 (CSA) を認め、又超薄切片の電顕観察によっても主としてその核内に典型的なヘルペス型 カプシド構造を認めた。このカプシド保有細胞の割合と、VA 陽性細胞の割合とはよく一致した。

- 3) 両培養細胞をニワトリ腎細胞その他の感受性細胞と混合培養すると MDV を回収でき、細胞は常に強毒株感染時の典型的な CPE を示した。しかし細胞遊離ウイルスの分離はできなかった。
- 4) MOB-1は軟寒天内でコロニーをつくらないが、MSB-1は、7～10日で1～3mmのコロニーをつくり分離された各クローンは、10～100%の colony efficiency を示した。又各クローンには、再び少数の VA 及び CSA 陽性細胞が常に認められた。
- 5) 両培養系とも正常のリンパ球と異なり concanavaleine A による凝集性の亢進が認められた。
- 6) 核型分析により、両培養系とも雌型を示した。MSB-1は第一番目の対の一方が正常のそれより大であったが MOB-1の染色体には特に変化は認められなかった。
- 7) 両培養系とも発育鶏卵の漿尿膜上に接種すると約1週間で5mm大の腫瘍をつくるが、雑系のニワトリの腹腔内、又は翼下に接種すると一時的な腫瘍の発育を認めるが、その後殆んどが退縮した。しかしこれらのトリはいずれも、ほぼ1～3カ月後に典型的な MD 内臓腫瘍を発現した。
- 8) MSB-1に付随する MDV をニワトリ胎児線維芽細胞で分離し、ヒナに接種すると高率に、MD 腫瘍の形成が認められた。
- 9) 両培養系とも、電顕観察により、C型粒子は認められなかった。又ニワトリ白血病群ウイルスを検出するための COFAL, RIF 及び gs 試験はいずれも陰性であり、少なくとも外来性のトリ白血病群ウイルスの関与は認められなかった。

[総括]

ヘルペスウイルス群に属し、ニワトリにリンパ腫をおこすマレック氏病ウイルス (MDV) と、トリリンパ球との相互関係を明らかにするため、MDV によって腫瘍化したリンパ球の長期培養系の確立を試み2例の培養系を得ることに成功した。この培養細胞からは MDV を回収することが可能であり、蛍光抗体法、その他により、MDVがこの培養係に密接に付随していることが明らかとなった。このような培養系は、今後 MDV と腫瘍細胞との相互関係の研究に好適な系となるばかりでなく、Epstein-Barr ウイルス関連ヒトリンパ球の長期培養系と対比されるものであり、両ウイルスの比較研究上有用なモデル系となると考える。

本実験の核型分析及び電顕観察は、それぞれ、高木信夫博士 (北大・染色体研究所)、内藤継也氏 (大阪医大) との協同研究によるものである。

論文の審査結果の要旨

ヘルペスウイルス群に属し、ニワトリに悪性リンパ腫をおこすマレック氏病ウイルス (MDV) は、ヒトの Epstein-Barr ウイルス (EBV) の発癌における好適なモデル系であるが、MD リンパ腫由来細胞の長期培養系を欠くことが、研究上の著しい隘路となっていた。秋山は初めて2株の MD リンパ腫由来細胞の長期培養系を確立することに成功した。これら株細胞の性格を研究し、何れも MDV が密接に付随していることなどを明らかにした。

このような培養系は、今後 MDV と腫瘍細胞の細胞レベルにおける相互関係の研究に好適な系となるばかりでなく、EBV 関連ヒトリンパ球の長期培養系と対比されるものであり、両ウイルスの比較研究上有用なモデル系を提供したものである。

本研究は、国際的にも高い評価を得ており、癌ウイルスの研究に貢献する優れた論文と考える。