



Title	Herpesvirus hominis type 2変種株による transformationの制禦機構に関する研究
Author(s)	斎藤, 惣太郎
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31613
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	斎藤惣太郎
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第3897号
学位授与の日付	昭和52年3月25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	Herpesvirus hominis type 2 変種株によるtransformationの制御機構に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 宮崎 正 (副査) 教授 常光 旭 助教授 加藤慶二郎 助教授 藤田 訓也

論文内容の要旨

Herpesvirus hominis type 2 (HSV-2) はヒトならびにハムスター由来の細胞をトランスフォーム (transform) させることが報告されている。さらに、このウィルスの慢性感染は上咽頭癌及び子宮癌の発生要因となりうることが臨床的・疫学的に示唆されている。ゆえに *in vivo* におけるこの慢性感染のモデルシステムとして *in vitro* で HSV-2 持続感染細胞を確立し、HSV-2 遺伝子の発現様式を解析することは HSV-2 による発癌機構を明らかにするために必要かつ有効な手段であると考えられる。そこで、仔シリアンハムスター腎由来の株化細胞である BHK21/WI-2 細胞を用いて HSV-2 持続感染系を確立 (以下この持続感染細胞を BHK (HSV-2) 細胞と名づける)、この持続感染系成立の機構ならびに、その細胞から自発的に產生されているウィルス粒子の生物学的性質を解析した。抗 HSV-2 家兔血清と FITC をラベルした抗家兔γ-グロブリンブタ血清を用いて BHK (HSV-2) 細胞におけるウィルス抗原の発現を蛍光抗体間接法により検索したところ、34°C で培養した細胞には HSV-2 抗原の存在が認められたが、38.5°C ではその特異蛍光を認めることができなかった。対照として HSV-2 が急性感染した BHK21/WI-2 細胞では、いずれの温度でも HSV-2 抗原の発現が認められた。すなわち、HSV-2 抗原の発現は温度依存性であることが示された。

34°C で培養した BHK (HSV-2) 細胞には HSV-2 抗原の存在が認められたので、その培養液中にも感染性ウィルスが產生されていると考えられる。そこで、この培養液をアフリカミドリザル腎由来の株化細胞である Vero 細胞に接種し、1% メチルセルロースを含む増殖培養液を重層し 34°C あるいは 38.5°C で培養した。34°C で培養した場合には培養液 0.1ml 当り 1136 個のブラックを形成したが、高温ではほとんどブラックを形成しなかった。野性株 HSV-2 の場合は、38.5°C でのブラック形成能は

34℃のその約 $\frac{1}{2}$ に低下したにとどまった。この結果から、BHK (HSV-2) 細胞より產生される感染性ウイルス粒子 (HSV-2pi) の増殖は温度依存性であることが明らかにされた。また、HSV-2pi は野性株HSV-2に比較して極めて小さいブラックを形成したのでHSV-2piの抗原性を調べた。HSV-2piのブラック形成能は抗HSV-2家兎血清により中和されたために、このウイルスはHSV-2の変種株であることが示唆された。また電子顕微鏡によりBHK (HSV-2) 細胞を精査したところ、この細胞にはヘルペス型ウイルス粒子の他にR型ウイルス粒子が共存しているのを確認した。ゆえに両ウイルスが増殖する過程でHSV-2pi粒子の外殻に潜在ウイルスの抗原を一部獲得している可能性が考えられる。そこで、抗BHK細胞潜在ウイルスハムスター血清によるHSV-2piのブラック形成能中和試験を行なったところ、野性株HSV-2は中和されなかったが、HSV-2piは中和された。この事実より、HSV-2pi粒子はBHK細胞潜在ウイルスの抗原の一部を保有し、モザイクになっている事が明らかにされた。

BHK (HSV-2) 細胞に持続感染しているHSV-2pi遺伝子の存在様式を明らかにするために、宿主細胞DNAに組み込まれているウイルス遺伝子を誘発するマイトイシン C ($0.1\mu\text{g}/\text{ml}$) でBHK (HSV-2) 細胞を処理した。その結果、HSV-2piの產生量が対照の未処理の場合に比較して2倍に増加したことから、HSV-2pi遺伝子が宿主細胞染色体に組み込まれていることが示唆された。そこで、BHK (HSV-2) 細胞のtransformation率を軟寒天中のコロニー形成法により算定したところ、BHK21/WI-2細胞で約15%のコロニー形成能が認められたが、BHK (HSV-2) 細胞は約1%という低い値を示した。さらに、この細胞をハムスター背部皮下に接種するとBHK21/WI-2細胞では 10^6 個の細胞の接種ですべてのハムスターに腫瘍が形成されたが、BHK (HSV-2) 細胞は 10^7 個を接種しても腫瘍の発現を認めなかつた。一方、紫外線処理した野性株HSV-2をBHK21/WI-2細胞に感染させて確立したBHK (UVed HSV-2) 細胞のコロニー形成率は約60%と高値を示した。この細胞はBHK (HSV-2) 細胞と同様に宿主にとって異種抗原であるウイルス抗原の発現を認めたにもかかわらず、 10^5 個の細胞をハムスターに接種した場合の腫瘍出現率は100%であった。なお、この種の細胞のうちBHK (HSV-2) 細胞だけは*Herpes simplex virus* (HSV-1) を感染させてもまったくブラックが形成されず、いわゆる“immune”が働いていることが明らかにされた。

HSV-2piをヒト初代培養細胞に感染させた場合、容易に持株感染系が確立されたが、この細胞は軟寒天中でコロニーを形成することが出来なかつた。

以上の実験結果より、HSV-2が持続感染したBHK (HSV-2) 細胞から產生されているHSV-2piウイルスは細胞をtransformする能力を欠失しており、またHSV-2が持続感染することにより、細胞をtransformさせる能力を保有するHSV-1遺伝子の発現を抑制していることが明らかとなつた。

論文の審査結果の要旨

本研究は、上咽頭癌・子宮癌の病因の一つとして注目されている*Herpesvirus hominis type 2*

(HSV-2) による慢性感染の *in vitro* におけるモデル・システムとしての持続感染系を確立し、その生物学的意義を明らかにしたものである。既に、HSV-2が発癌性を保有することは明らかにされているが、本研究により HSV-2 が株化細胞に持続感染することにより細胞の transformation 率が低下することが認められ、またこの持続感染細胞から產生される変種株ウィルスがヒト初代培養細胞に感染した場合に、その細胞を transform させる能力を消失していることが確認された。さらに、この持続感染細胞が、細胞を transform させている *Herpesvirus hominis type 1* の感染を受けた場合に、同ウィルス遺伝子の発現は抑制されることも明らかにされた。

以上の如く、本研究は従来まったく知られていなかった HSV-2 の慢性感染ないし持続感染時における HSV-2 遺伝子の動態ならびに transformation の制禦機構に関して重要な知見を得たもので、歯学博士の学位を得る価値ある業績と認められる。