

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/31613">https://hdl.handle.net/11094/31613</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。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	齋藤惣太郎
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、このウイ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ということが臨床的・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産生されているウイルス粒子の生物学的性質を解析した。抗 HSV-2 家兎血清と FITC をラベルした抗家兎  $\gamma$ -グロブリンブタ血清を用いて BHK (HSV-2) 細胞におけるウイ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出来なかった。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イルスが産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 個のプラックを形成したが、高温ではほとんどプラックを形成しなかった。野性株 HSV-2 の場合は、38.5°C でのプラック形成能は

34°C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) 細胞より産生される感染性ウィルス粒子 (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家兔血清により中和されたために、このウィルスは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ィルス粒子の他にR型ウィルス粒子が共存しているのを確認した。ゆえに両ウィルスが増殖する過程でHSV-2pi粒子の外殻に潜在ウィ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細胞潜在ウィ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細胞潜在ウィ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ィルス遺伝子を誘発するマイトマイシン C (0.1 $\mu$ g/ml) で BHK (HSV-2) 細胞を処理した。その結果、HSV-2piの産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率を軟寒天中で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った。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は異種抗原であるウィ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った。

以上の実験結果より、HSV-2が持続感染したBHK (HSV-2) 細胞から産生されているHSV-2piウィルスは細胞を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った。

## 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産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** させる能力を欠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** させることが知られている **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** の制御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。