

Title	デングウイルスの蚊培養細胞内における成熟過程の電子顕微鏡観察
Author(s)	高, 光均
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31872
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)	高 光 均
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4 1 1 0 号
学位授与の日付	昭和 52 年 12 月 21 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	デングウイルスの蚊培養細胞内における成熟過程の電子顕微鏡観察
論文審査委員	(主査) 教授 深井孝之助 (副査) 教授 加藤 四郎 教授 岡田 善雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

フラビウイルス (B群アルボウイルス) の成熟過程には尚不明の点が多く、又媒介動物として重要な蚊の細胞での形態学的研究は殆ど行なわれていない。本研究はフラビウイルスの一員であるデングウイルス (以下 DV と略称) の培養蚊細胞内での成熟過程を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

A. 方法

- (1) 使用ウイルス：DV 1 型(Hawaii 株), DV 2 型(New Guinea B 株, TR-1751 株), DV 3 型(H-87 株), DV 4 型(H-241 株)
- (2) 細胞：Aedes albopictus (ヒトスジシマカ) 培養細胞(Singh, 1967) からクローニングされた C 6/36 細胞株。
- (3) 電子顕微鏡観察：蚊培養細胞に DV を感染させ、経時的に感染細胞をとり、2% グルタルアルデヒドおよび O_3O_4 で二重固定、酢酸ウラニウムでブロック染色、Spurr の樹脂に包埋して薄切后、硝酸ピスマス染色を行なって観察した。
- (4) 感染価測定：経時的に採取した感染培養上清の感染価を BHK 21 細胞上で蛍光抗体間接染色法によるフォーカス・カウンティング法で測定した。

B. 成績

未感染 A. albopictus 培養細胞の特徴は多数の粗面小胞体 (以下 RER と略称) の存在である。細胞内にウイルス様粒子は認められない。

細胞も、又ウイルス合成も同期化されてはいない為に、感染培養内には様々の所見が同時に見られるが比較整理すると、得られる所見はDV1-4の四型を通じてほぼ同様である。

(1) 感染初期（感染後24時間まで）

最初の変化はRERの内腔の拡大で一部のRER膜に沿って、リボゾームよりやや大きく、且電子密度の高い粒子が密接して配列するのが認められる。これらのRERの周辺には直径約120nmの小胞あるいは細管構造があらわれる。

(2) 感染中期（感染後48—96時間）

細胞外ウイルスは指数的に増加し、RER膜に沿う粒子の配列は著明になり、細顆粒状物質（砂漠様構造）を含むRERはその数と大きさを増し、内部には多数の成熟ウイルス粒子が認められるようになる。このような領域の周辺には小胞-細管構造が著明に発達する。

RER膜に沿って配列する粒子の形態は明瞭となり、直径約30nmに達する。この配列には、desmosomeに似た構造（以下 double track とよぶ）を伴う。

砂漠様構造は更に拡大し、内部には多くの成熟ウイルス粒子を含む。ますます著明となる小胞-細管構造中にはウイルス粒子は認められない。

この時期に細胞外ウイルスの感染価は最高値に達し、double track の出現頻度は高まる。一部の細胞の細胞質内には封入体状のウイルス粒子塊が見られた。

細胞変性像もあらわれ、空胞内部には変性産物と思われる層状構造物が見られる。

(3) 感染後期および末期（感染後96時間以降）

Double track の出現は著明となり、感染細胞の変性は進み、感染後 168時間で大部分の細胞は破壊され、その内容物が細胞内成熟ウイルスと共に放出される。

(4) 持続感染系における所見

持続感染細胞に於ては感染6—30週を通じて急性感染系における中期、後期と同様の所見が得られた。又DV2持続感染系では細胞質内にウイルスよりも小型の粒子からなる封入体様の粒子塊が認められた。

(5) 感染細胞に見出される結晶様体

DV2感染系ではある時期に30nmのスペーシングをもつ微小な結晶様体が細胞質内に認められる。

〔総括〕

(1) DV感染をうけた *A. albopictus* 培養細胞に於ては先づRER膜に沿ってウイルス粒子形成の初期段階と思われる粒子の配列が起こる。

RER内には砂漠様構造が発達し、これらの小器官周辺には小胞-細管系が発達する。

(2) RER膜上の粒子は形態学的に明瞭となり、つづいて砂漠様構造内に成熟ウイルス粒子が出現する。発達した小胞-細管構造内にはウイルス粒子は出現しない。

(3) 細胞質膜、空胞膜、その他の膜構造からのウイルスの出芽像は認められなかった。

(4) 持続感染細胞における変化も急性感染の経過とほぼ同様である。

(5) *A. albopictus* 培養細胞に於てDVの形態形成は活性化されたRER膜に密接してはじまり、膜を

通過して RER 内腔の砂漠様構造に粒子が移る過程において粒子の成熟が完了するものと推察される。

論文の審査結果の要旨

本研究はフラビウウイルスの一員であるデングウイルスの培養蚊細胞内での成熟過程を形態学的に明らかにしたものである。

即ち、何れの型のデングウイルスに於ても感染直後に粗面小胞体膜細胞質側にビリオン形成の初期段階を示す粒子配列がおこり、小胞体内には微細顆粒状物質が貯留しはじめる。続いて小胞体内空にビリオンが認められるに至るが、この全時期に平行して微細な小胞-細管系が発達する。A. albopictus 培養細胞における本ウイルスの形態形成は活性化された粗面小胞体膜に密接して始まり、同膜を通過して内腔に移行する過程においてビリオンの成熟が完成するものようである。これらの成熟過程は急性感染においても持続感染においても本質的相異はない。

本研究を通じてフラビウウイルスビリオンの増殖における成熟過程の形態学が明らかにされたことは、今後のトガウイルス自体の研究、又それによって生じる感染症の制圧に貴重な手がかりを与えるものであると判断する。