



Title	トリ肉腫ウイルスB77株のウズラ細胞への馴化
Author(s)	野間口, 博子
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31994
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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)	野間口博子
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 3989 号
学位授与の日付	昭和 52 年 5 月 12 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	トリ肉腫ウイルス B77 株のウズラ細胞への馴化
論文審査委員	(主査) 教授 豊島久真男 (副査) 教授 伊藤利根太郎 教授 加藤 四郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

完全な増殖性を備えた RNA トリ肉腫ウイルスである B77 株 (亜群 C) を用いてウイルスの発ガン機構の解析を始めた。B77 株の宿主としては、ニワトリ線維芽細胞 (CEF) を用いてきたが、CEF は細胞内在性ウイルスを持ち、自然にまたは、いろいろな変異を起す処理によってこの内在性ウイルスが発現してくることが知られてきたため、ウイルスの遺伝的解析を行う上で大きな支障となることがわかった。ウズラ線維芽細胞 (QEF) には今のところ、ニワトリ白血病ウイルスに属する内在性ウイルスの存在は見られていないので、B77 株の宿主として QEF を用いたいと考えた。しかし B77 株は QEF に感染した時、不完全な増殖しか起し得ないといわれているので、まず B77 株の QEF への馴化を試みた。

〔方法ならびに成績〕

1) B77 株の QEF におけるフォーカス形成について：B77 株は QEF で不完全な増殖しか示さないとされているので、この事について検討した。この場合後の解析に便利な様に B77 の温度感受性株である tsLA 334 を用いた。tsLA 334 は、ウイルスの成熟課程及びトランスフォーメーションの 2 点で ts である。tsLA 334 は、CEF での場合に比べて少なかったが、QEF でフォーカスを形成した。QEF で形成されたこれらのフォーカスは原株が持つ 2 点の ts 性を示し、抗 B77 血清でよく中和され、また QEF で増殖可能な白血病ウイルスである RAV-1 又は RAV-60 による干渉反応は認められなかった。この事から B77 は、他のウイルス又は、chf の介助なしに、QEF でフォーカスを形成できることがわかった。しかし QEF で形成されたフォーカスの子ウイルスについて調べたとこ

ろ、CEFにはよく感染性を示したが、QEFを通過したからといって、QEFに対する感染性を増してはいなかった。

2) B77株のQEF馴化の試み：B77のts株であるtsLA 334を用いてQEF継代を試みたところ、3代目QEF継代でほとんどフォーカス形成はなくなった。しかし一部QEFでようやく継代できたフォーカスがあったのでこれをつり、QEF feeder細胞で充分増殖させて更にQEFに継代を続けたところ、QEFに対する感染性が増加してきた。この株について更にクローニングを繰り返し、QEF馴化株を得た。これをQV-2と名づけた。

また一方、QEFでよく増殖できるニワトリ白血病ウイルスRAV-1(亜群A)とB77株を重感染させ、出来たフォーカスのクローニングをQEFで繰り返してこれらの遺伝子組み換え体を得た。RAV-1とtsLA 334由来株を1Q5、RAV-1とB77由来株を2Q1と名づけた。これらはQEFでよくフォーカスを形成する。

3) QEF馴化株の性質：QV2はQEFでのみ、1Q5及び2Q1は、CEF及びQEFでフォーカスを形成し得た。宿主域及び中和、干渉反応の結果から考えて、原株とは異なり、QV2は亜群E、1Q5及び2Q1は亜群Aに属することがわかった。ウイルスの増殖に関しては、ts性は消失し野性型となっていた。以上のことから糖蛋白抗原及び増殖機能は原株のB77株由来ではなく、QV2はchf、1Q5及び2Q1はRAV-1由来であると考えられる。また、トランスフォーメーションに関しては、B77株が円型トランスフォーメーションを示すのに対し、QV2は紡錘型のみ、1Q5と2Q1は、円型及び紡錘型トランスフォーメーションを示した。この紡錘型は元のts性を示さず野性型であった。しかし1Q5で見られる円型はts性を維持していた。このことから円型トランスフォーメーションは原株tsLA 334由来であるが、紡錘型はQEF長期継代の結果何らかの修飾が起ったために見られるようになった性質であろうと考えられる。

次にこれら馴化株でトランスフォームしたCEFのアデニレートサイクラーゼ活性の基質ATPに対するKm値を調べたところ、QV2及び1Q5の場合は、許容温度ではB77型を示すが、非許容温度では原株tsLA 334の場合は正常CEFと同値を示すのに対して、馴化株の場合は、B77と正常CEFとの中間値を示した。このことから、トランスフォーメーションはB77由来であるが、それだけではなく修飾を受けていることが推定された。またこの非許容温度でのKm値にみられる修飾は、F型トランスフォーメーションにみられる修飾と何らかの関係があるのではないかと考えている。

[総括]

B77株はQEFに感染できるが馴化するところまでゆかず、chf又はQEFで優位の増殖を示す白血病ウイルスとの遺伝子組み換えによってはじめて馴化し得た。

馴化株の糖蛋白抗原及び増殖機能はchf、又はQEFで増殖可能な白血病ウイルス由来であり、トランスフォーメーションは、B77株由来であるが、それだけではなく、QEF長期継代により修飾を受けていた。

論文の審査結果の要旨

ニワトリ肉腫ウイルスの遺伝学的な研究を行なってきたが、宿主ニワトリ細胞には内在性 virogene が存在し正常細胞でもしばしば発現してくることがわかってきた。このことはウイルスの遺伝学的な研究を行う上で大きな支障となる。ウズラ細胞にはこのような内在性 virogene が存在しないが、B77株はウズラ細胞では不完全な増殖しか示さなかった。そこでまずB77株のウズラ細胞における馴化株を得ることを試み成功した。このことによって以後内在性 virogene が存在しないウズラ細胞で遺伝学的な研究が行ないうようになった。

得られた馴化株の性質を調べたところウイルスの増殖または、トランスフォーメーションを支配する遺伝子に変化のあることがわかった。この変化の解析によって宿主がウイルスに遺伝的な変化を及ぼすことを知ることができた。このことは以後、宿主とウイルスの関係ひいては腫瘍ウイルスの由来を考える上でのひとつの手がかりを与えるものと考えられる。

以上の研究は腫瘍ウイルスによる発癌機構の研究の発展に寄与するところ大であると認める。