

Title	ハムスター胎盤組織における風疹ウィルス遺伝子の伝達型式について
Author(s)	前田, 憲昭
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32084
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

【1】

氏名・(本籍)	前 ^{まえ} 田 ^だ 憲 ^{のり} 昭 ^{あき}
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 3975 号
学位授与の日付	昭和52年4月30日
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ハムスター胎盤組織における風疹ウイルス遺伝子の伝達型式について
論文審査委員	(主査) 教授 宮崎 正 (副査) 教授 小谷 尚三 助教授 鈴木不二男 講師 井上 秀夫

論文内容の要旨

胎盤組織は母体と胎児の間に存在する関門としての機能を有している。胎芽期におけるウイルス感染症は胎芽の分化、発育に大きな影響を与えるが、この感染性ウイルス遺伝子がどのような機構で胎盤を通過し胎児に到るのか不明である。なかでも風疹ウイルスは胎児に先天異常をひきおこし、異常発現部位では風疹ウイルスが持続感染していることが明らかにされている。

一方 *in vitro* において、風疹ウイルスの持続感染系を成立させる機構は、宿主に潜在する C 型 RNA ウイルスと感染した風疹ウイルスが合の子を形成することが必要であると報告され、さらに *in vivo* において、C 型 RNA ウイルスがヒトを始め種々の動物の胎盤組織に存在していることが明らかとなっている。

これらの事実より、著者は *in vivo* における風疹ウイルスの胎盤通過の機構を解析する目的で、風疹ウイルスに感受性の高いシリアンハムスターを用いて、胎盤組織における C 型 RNA ウイルスと風疹ウイルス遺伝子の発現様式を検索した。

妊娠3日目のハムスター腹部皮下に風疹ウイルス M-33 株を接種し、10日目に胎盤を摘出した。この組織の凍結切片についてウイルス抗原の発現部位を間接蛍光抗体法により検索すると、2層となった絨毛上皮細胞に風疹ウイルス抗原が局在していた。さらに摘出した胎盤組織を組織培養すると大部分の細胞は風疹ウイルスの細胞変性効果により死滅したが、一部生残した細胞は増殖し、約2週間後に単層培養細胞を形成した。培養上清について、ウイルス粒子の存在の有無を BHK21/WI-2 細胞でのブラック形成能にて検索を行ったところ、鮮明なブラックが出現し、感染性ウイルス粒子の存在を認めた。この感染性ウイルス粒子は、ハムスターに感染させた風疹ウイルス粒子と同一のものであるか

否かの検討を風疹ウイルス粒子の有する赤血球凝集能について行ったところ、感染性ウイルス粒子は風疹ウイルス粒子が凝集を示すトリプシン処理ヒトO型赤血球のみならず、風疹ウイルス粒子では凝集を示さない羊赤血球をも凝集することが明らかとなった。ところで羊赤血球を凝集する能力はBHK21細胞に潜在するC型ウイルス粒子に認められており、羊赤血球を凝集したこの感染性ウイルスにもハムスター組織に存在するC型ウイルス粒子の関与が考えられた。そこでBHK21/WI-2細胞に潜在し、逆転写酵素活性を保有するC型ウイルス粒子で免疫することにより作製された家兎血清と風疹ウイルスに対する家兎血清を用いて、感染性ウイルス粒子のプラック形成能中和試験及び、赤血球凝集能阻止試験を行った。結果はプラック形成能も赤血球凝集能もBHK21/WI-2細胞に潜在するウイルス粒子で免疫された抗血清でのみ中和あるいは阻止されることが認められた。しかし補体結合抗原の検索では感染性ウイルス粒子は風疹ウイルスの抗原を保有していたことより、風疹ウイルスの性格を有しながらもハムスター組織に潜在するC型ウイルスの外殻の一部をも保有していることが明らかとなった。さらにこのウイルス粒子は、ハムスターとは異種のVero細胞で増殖させた標品でも上記したと同一の生物学的性質を保有していたため、C型ウイルスの外殻の一部に対応する情報を風疹ウイルス遺伝子の一部で組み換えた合の子ウイルスであることが確かめられた。以上の事実よりハムスター胎盤組織にはC型ウイルスの発現が示されたので、風疹ウイルス感染胎盤組織、正常胎盤組織及びこれらの組織由来の培養細胞を電子顕微鏡により観察するとC型ウイルスの存在が確認され、さらに正常胎盤組織由来細胞の培養液に産生されているウイルス粒子には逆転写酵素及びDNA依存性DNA合成酵素活性が存在していた。従って胎盤組織に感染した風疹ウイルスは、絨毛上皮細胞で発現しているC型ウイルスと安定な合の子を形成し持続感染を確立していることが明らかとなった。感染胎盤組織由来の培養細胞から産生されている合の子粒子についてその生物学的特性を検索した結果、潜在ウイルスが発現していないヒト皮膚由来の初代培養細胞において、風疹ウイルス感染では持続感染を成立させることが出来ないにもかかわらず、合の子ウイルス感染では、持続感染を成立させることが出来た。さらに合の子ウイルスはその粒子内にDNA依存性DNA合成酵素のみを保有していることから、持続感染系の成立には宿主細胞にC型ウイルス遺伝子が発現されているか、あるいは感染粒子内に、C型ウイルスの遺伝子の発現としてのDNA依存性DNA合成酵素を保有していることが必要であると考えられた。

また、感染胎盤組織内に存在した胎児では、電子顕微鏡的観察で合の子ウイルスの形態を有するウイルス粒子の存在を認め、胎盤に感染した風疹ウイルスはC型ウイルス遺伝子により修飾されて胎盤を通過することが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は、風疹ウイルスの遺伝子が胎盤組織から胎児へ伝達される過程を免疫学的並びに形態学的に検討したものである。この研究によって明らかにされた知見は、要約するとつぎのとおりである。

(1)妊娠ハムスターの皮下に接種された風疹ウイルスは、胎盤組織では絨毛上皮細胞に限局して持続感染している。(2)ハムスター胎盤組織には、風疹ウイルスの感染の有無にかかわらず、C型ウイルスが存在する。(3)風疹ウイルス感染胎盤組織由来の培養細胞は、C型ウイルスとの合の子である風疹ウイルス変種株を産生しており、この株が胎児に伝達されている。

以上要するに、前田憲昭君は、風疹ウイルス遺伝子が胎盤から胎児へ伝達されるに当って、胎盤絨毛上皮細胞で風疹ウイルスとC型ウイルスが合の子形成を行う過程があるという全く新しい重要な研究成果を提示した。したがって、本論文は歯学博士の学位請求に値する優れた業績である。