Osaka University Knowledge Archive

Title	サイトカラシンDによる亜急性硬化性全脳炎（SSPE）ウイルス感染細胞からの感染性粒子の誘出
Author(s)	綾田, 稔
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/35299
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【14】

氏名・(本籍)	綾田　稔（あやた　みのる）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7653 号
学位授与の日付	昭和62年3月26日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**サイトカラシンDによる亜急性硬化性全脳炎（SSPE）ウイルス感染細胞からの感染性粒子の誘出**
論文審査委員	(主査) 教授 加藤 四郎 (副査) 教授 岡田 善雄　教授 高橋 理明

論文内容の要旨

［目　的］

亜急性硬化性全脳炎（SSPE）は遅発性ウイルス感染症の1つで，麻疹ウイルスの変異株（SSPEウイルス）の脳内持続感染に起因する。多くのSSPEウイルスの感染性は細胞依存性で，感染細胞から感染性ウイルス粒子を得ることは困難であった。このため，動物実験では量（殊に少量）のコントロールが困難であったし，ウイルスの生物学的活性の解析も困難であった。

一方，サイトカラシンD（CD）は細胞のmicrofilamentに作用し細胞膜の波動運動を止めたり，細胞膜から突起を隆起させる（zeiosis）こと，また，ウイルスとの関連では，HVJによる細胞融合を抑制したり，麻疹抗体存在下でSSPEウイルスの感染価を低下させたり，あるいは麻疹ウイルスの成熟を抑制することが知られている。

今回，私はCDのzeiosisに注目し，CD処理によって形成される細胞膜の突起内に，もしSSPEウイルスのヌクレオカプシドが取り込まれるならば疑ウイルス粒子が形成され，SSPEウイルスの取扱や生物学的解析が容易になるであろうことを期待して研究を行った。

［材料と方法］

1. 細胞：ヒト胎児肺（HEL）細胞を用いた。
2. ウイルス：SSPEウイルス微研株を用いた。
3. CD：シグマ社製を用いた。DMSOで1mg／mlの濃度に溶解し，PBSで200μg／mlに希釈し，メンブレンフィルターでろ過滅菌後用いた。
4. SSPEウイルス感染細胞のCD処理：SSPEウイルス感染HEL細胞と非感染HEL細胞とを

プラスティック・ディッシュに混合培養し，2～3日後細胞層に融合巨細胞が多数出現した時点で，培養液を増殖用から維持用に交換した。液量は直径10cmのディッシュで4mlにし，これにCDを最終濃度5μg／mlになるように加えた。次いで，ディッシュを37℃の炭酸ガス培養器内に30分間保温後，細胞表面をピペッティングで洗い，液中に感染性粒子を誘出させた。

［成　績］

1. 遠心条件の検討

サンプル中の細胞破片を除く目的で，プラスティック遠心管を用い遠心後，上清の半量を遠心上清とし，残る半量で沈渣を浮遊させたものを沈渣とした。遠心を室温で行った実験1では，(a)500rpm，10分の上清の感染価は3.6（$\log_{10}$TCID$_{50}$／ml，以下同様），沈渣4.9，(b)1,000rpm，5分の上清3.9，沈渣4.9であった。

次に4℃で行った実験2では，(a)1,000rpm，10分の上清4.1，沈渣≧5.1，(b)3,000rpm，10分の上清3.6，沈渣≧5.1であった。

2. 凍結保存の可否の検討

4℃で3,000rpm，10分間遠心した上清では凍結前の感染価3.1，－20℃及び－70℃2日間凍結後では各2.4であった。

－120℃での凍結では，5ケ月間の保存で感染価の低下はなかった。

3. 生物学的性状についての検討

a．感染性の細胞依存性

CD処理をしない培養条件下では，感染性粒子を感染させたHEL細胞からは感染性遊離ウイルスは検出されなかった。

b．ハムスター脳に対する病原性の検討

6週令ハムスターに脳内接種した場合，感染HEL細胞浮遊液（200PFU）では発症率6／6，感染性粒子（1,000TCID$_{50}$）では4／6であった。潜伏期はどちらも約1週間で，死亡率もどちらも100%であった。

4. 中和試験

麻疹ウイルス免疫サル血清を用いた中和試験では，麻疹ウイルスと同等あるいはそれ以上に中和された。

5. ろ過試験

ポアサイズ0.22μmのメンブレン・フィルターを用いたろ過によって，感染価は$10^{2.5}$TCID$_{50}$／ml低下したが，これは麻疹ウイルスと同等であった。

［総　括］

感染性遊離ウイルス粒子を産生しないSSPEウイルス感染細胞をサイトカラシンDで処理することによって，生物学的性状に変化のない感染性粒子を誘出させることができた。今後，SSPEのウイルス学の進展に寄与するものと考える。

論文の審査結果の要旨

従来，亜急性硬化性全脳炎（ＳＳＰＥ）ウイルスの感染細胞より感染性粒子を得ることは極めて困難であった。サイトカラシンＤ（ＣＤ）は，一般に哺乳動物の細胞に作用して細胞膜に多数の突起を形成させる性質がある。本研究はＣＤのそのような性質を利用してＳＳＰＥウイルス微研株感染細胞より10^3〜10^5ＴＣＩD_{50}／mlの感染性粒子を誘出させることに初めて成功し，その誘出条件および粒子の性状を明らかにしたものであり，ＳＳＰＥのウイルス学的研究に貢献するところ著しいものがあると考える。