

氏名(本籍) 田 口 文 章

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 第 800 号

学位授与年月日 昭 和 48 年 7 月 11 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最終学歴 昭 和 34 年 3 月 20 日  
北里衛生科学専門学院卒業

学位論文題目 Comparative studies of the virusses  
from polyoma tumor cell lines.  
(ポリオーマ腫瘍細胞より救出したウィルスの  
生物学的性状の比較研究)

(主 査)

論文審査委員 教授 山 根 績 教授 笹 野 伸 昭

教授 佐 藤 春 郎

## 論文内容要旨

Papava ウィルス群に属する Polyomavirus (PV) と SV40 は共に細胞を transform するが、そのような細胞からは通常感染性ウィルスは検出されない。SV40 で transform した細胞をサル腎細胞と融合し培養するとウィルス遺伝子が活性化されて完全ウィルスが救出されるが、救出されたウィルスの性状はあまり検討されていない。一方 PV で transform された細胞からの PV の救出は出来ないとの報告が多い。我々はこれまで大きなプラックを形成する PV をマウスに接種し誘発された腫瘍から KIT-5/2 と KIT-20W の培養細胞系を樹立し、更にそれぞれから PV の救出を試み R5/2 と R20 のウィルスの救出に成功した。本論文は、これらの腫瘍細胞より救出されたウィルスの生物学的、血清学および腫瘍原性等に関する生物学的性状を親ウィルスと比較検討したものである。

### 実験結果

1) プラックサイズ：腫瘍細胞 KIT-5/2 より救出した R5/2 と KIT-20W より救出した R20, 親 PV (St-Lp) を実験に供した。マウス胎児培養細胞に各 PV を接種し 3 週間培養してプラックを形成させた。出現したプラックは、St-Lp 感染細胞では直径約 5~8 mm, R20 では < 1~2 mm であったが、R5/2 を感染させた細胞には < 1~2 mm のプラックと 3~5 mm のものと 2 種類のプラックが形成された。そのうち 3~5 mm のものが全体の約 5% で残りの大部分は < 1~2 mm の小さなプラックであった。< 1~2 mm のものを Small plaque (Sp), 3~5 mm 以上のものを Large plaque (Lp) として以下の実験に供した。

2) マウス腎培養細胞上での増殖：St-Lp と R5/2-Lp はウィルス接種後 2 日目より PV が検出され、以後急速に増殖するのが認められる。一方 R5/2-Sp と R20-Sp 接種群では培養開始 4 日目まで PV は検出されないが以後は Lp ウィルス群と平行なウィルス産生の上昇曲線を描くが、最終的なウィルス産生量は Lp ウィルス群より常に低い結果が得られた。

3) 抗原性：4 種類の PV をマウスに接種して得た面疫血清を用いて夫々の抗原に対する交叉 HI テストを実施してこれらのウィルスの抗原関係を調べた。St-Lp と R5/2-Lp の抗血清は全ての抗原と良く反応した。一方 R5/2-Sp と R20-Sp の抗血清は両 Sp 抗原には強く反応したが、St-Lp および R5/2-Lp とは非常に弱い反応しか示さなかった。この結果より、Sp 同志間および Lp 同志間には差異を認められないが、Sp ウィルスは Lp ウィルスと血清学的に異なることが判明した。

4) マウスにおける抗体産生能：St-Lp, R5/2-Lp および R5/2-Sp のマウスにおける抗体産生態を比較した。両 Lp ウィルスを接種したマウスは速かに HI 抗体を産出し、且つ高力価の抗体を長期間生産し続けた。一方 R5/2-Sp を接種したマウスは、HI 抗体の産生は遅く且つ

その抗体価は前に低い。R5/2-Spの免疫抗原量を10倍増しても結果は同様であった。この結果より、R5/2-Spの抗体産生態は他のLpウィルスに比較して低いことが判明した。

5) マウスにおける腫瘍産生態：St-Lp, R5/2-LpおよびR5/2-Spの腫瘍原性をddおよびCFWマウスを用いて比較した。St-Lpを接種したCFWマウスでは4/8匹, ddマウスでは9/15匹; R5/2-LP接種ではddで2/13匹; R5/2-Sp群ではCFWで0/9匹, ddで1/30匹に腫瘍が誘発された。100倍量( $10^{10}$  TCID<sub>50</sub>/ml)のR5/2-Spを接種したddマウスでは0/14匹, およびR5/2-LpとR5/2-Spを等量混合したウィルスを接種したCFWマウスでは2/14匹に腫瘍が認められた。これらの結果は、救出されたPVはブラックサイズに関係なくマウスにおける腫瘍原性は低く、且つ混合感染させても腫瘍の産生は高まらなかったことを示している。

6) ハムスター細胞の*in vitro*におけるtransformation: St-LpとR5/2-Spのハムスター胎児培養細胞のtransformation能を調べた。ハムスター胎児細胞の初代培養に両ウィルスをM.O.I. 100にて感染させ、プレート宛 $10^5$ 個の細胞を軟寒天中にて培養した。St-Lp感染群ではプレートあたり平均5.9個, R5/2-Sp感染群では平均6個のtransformationした細胞の集落が形成された。R5/2-SpのSt-Lpに対するtransformation能の比は約1/10であった。

7) インターフェロン産生能: 脾臓細胞培養系におけるSt-LpとR5/2-Spのインターフェロン産生能を比較検討した。St-Lpを接種した培養系においては常に5単位以下であるのに反し、R5/2-Spを接種した群では約50単位のインターフェロン産生が認められた。この結果は既報の成績とは一致しない。

## 考 察

KIT-5/2細胞より救出されたウィルスはR5/2-Lpの混合であり、KIT-20Wより救出されたウィルスは単一集団R20-SpとR20-Spの諸性状は検討された限りに於て全く一致するが、R5/2-Lpとは可成りの差異を示した。R5/2-Lpのブラックは親のSt-Lpのそれよりは少し小さいが、その他の性状は比較的親型に近い。ブラックの大小に関係なく救出されたPVの腫瘍原性は親のSt-Lpに比較して低かった。

1 細胞培養系より2種類のPVが救出されたということ、および親PVと性状を異にするSpが救出される経過は全く不明であるが、PVDNAが細能のDNAに組込まれる時点より細能のDNAから離れて来るまでの全経過のいずれかの段階でウィルスDNAが修飾されたため、結果的にウィルス表面にも変化を来たしたものと推定される。もっと救出ウィルスの例数を増して性状分析をおこなうことにより、発癌機構や救出の機構を知る上で新しい道が開かれるものと期待される。

## 審 査 結 果 の 要 旨

著者は自らポリオーマウィルス腫瘍細胞より同ウィルスの変異様株を回収し、その生物学および血性学的性質を、原株と比較しつつ詳細に検討しているが、これまでSV<sub>40</sub>腫瘍細胞より同ウィルスの回収に関する報告は多数見られるが、回収ウィルスの性質に関して詳細に検討されたものは殆どなく、更にポリオーマウィルス腫瘍よりのウィルス回収の研究は殆ど見られていない。

著者の研究によれば、回収ウィルスは原株ウィルスに比べ、血球凝集阻止反応を検べた処、血清学的に明かに異り、また造腫瘍性も有意の差を以て弱くなっていることが証明された。このことはウィルスの腫瘍細胞中における複製過程中に、ウィルス遺伝子のあるものが欠落したことを予想させるもので、今後ウィルスによる腫瘍発生の機作を究明する上で重要な手がかりを得たことを意味する。それ故本論文はウィルス発癌の研究に一大寄與したことになり、学位受興に値するものと思われる。