

氏 名	川 西 美 知 子 かわにし みちこ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	論 医 博 第 745 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 7 月 24 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	Studies on the Intranuclear Crystal Formation in Picornavirus Infected Cells (ピコルナウイルス感染細胞における核内結晶形成に関する研究)

(主 査)
論文調査委員 教授 松本清一 教授 伊藤洋平 教授 田中春高

論 文 内 容 の 要 旨

DNA 型ウイルスの多くが核で増殖するのに対し、小型 RNA ウイルスであるポリオ、エコーウイルス等のピコルナウイルス群は細胞質内で増殖する。たとえば、新しく合成されたポリオウイルス RNA は、ウイルスによってコードされた RNA ポリメラーゼと共に、膜構造と結合した複製複合体として細胞質に見い出されており、ウイルス蛋白は、ウイルス RNA と結合したポリゾームで合成される。また脱核細胞でも感染性ウイルスが合成される。しかし、これらの知見は核におけるウイルス増殖の可能性を否定するものではなく、感染細胞核の特異な形態変化などの所見も、数多く報告されている。著者は、このような核におけるピコルナウイルスの増殖の可能性を新たに検討する目的で低温下におけるエコーウイルスおよびポリオウイルスの増殖に関する研究を行ない、次のような結果を得た。

1. 28℃と37℃におけるウイルス増殖様式の違いを検討する目的で、それぞれの温度におけるウイルス増殖曲線を比較した。28℃における増殖速度は至適温度である37℃のそれに比べ約5時間の遅れがあり、最高ウイルス収量も37℃の約半で、28℃におけるウイルス増殖は至適温度のそれに比べ抑制されていることが明らかになった。

2. 28℃で培養したエコーおよびポリオウイルス感染細胞の形態変化を、電子顕微鏡を用い37℃のそれと比較した。感染後期の細胞は円型化し、膜構造を持つ membrane-bounded body が細胞質中央部を占め、核は変形萎縮し細胞周辺部に押しやられ、いわゆる細胞変性の像を示した。細胞質には成熟ウイルス粒子の結晶が認められた。しかし、28℃感染細胞の核内には、37℃感染細胞には認められなかったウイルス様粒子結晶が見出された。この核内結晶は、電子密度の低い核中央部に出現し、ほとんどが、直径22～26 nm の空洞粒子から成っていた。大きさ、結晶配列様式から、これらの空洞粒子は未成熟ウイルスと推定された。

3. 次にこのような核内結晶を構成する粒子の抗原性を明らかにする目的で、28℃で培養したエコーウイルス感染細胞を経時的に抗ウイルス粒子家兎血清を用いて、蛍光抗体間接法で調べたところ、感染16時

間頃までは核全体に散在する弱い特異蛍光が認められたが、17時間以降になると、粒子状の強い特異蛍光が核内に認められるようになり、電子顕微鏡下における核内結晶の出現と時間的にもよく一致した。37℃感染細胞では、ウイルス特異的核内蛍光は認められなかった。これらの結果は、核内結晶がウイルス粒子としての抗原性を有する事を強く示唆した。

4. 次に28℃感染細胞核における、ウイルス RNA を検索するために、³H-RNA ウリジンの取り込みを、オートラジオグラフィにより検討した。実験は細胞 RNA の合成を抑えるために、アクチノマイシンDの共存下で行なった。感染細胞へとり込まれた総グレイン数は感染後10時間から12時間では対数的に増加し、その20~30%が核に認められた。

以上の結果は、低温下では、不完全ウイルス粒子から構成される結晶構造が感染細胞の核内に出現することを示している。また、同様の処理により、このような核内結晶の形成が、ポリオ、エコ、両ウイルスで認められたことは、これらの新しい知見がピコルナウイルス一般に共通した現象であることを強く示唆している。

論文審査の結果の要旨

Picornavirus 群のウイルスは細胞質で増殖するが、電子顕微鏡による研究で核の変化が注目され、ウイルス粒子が核内で結晶様排列を示す事が報告されている。著者はこの問題を FL 細胞と echovirus 6 型とポリオウイルス I 型の組合せで更に研究した。その結果は(1)培養温度を28℃に下げると37℃に較べてウイルス増殖が低下するが、ウイルス、特に未熟型粒子の結晶排列を核内に多数発見した。(2)蛍光抗体法により核内結晶構造がウイルス抗原陽性である。(3)細胞性 RNA 合成を押えた感染細胞のウリジン取込みオートラジオグラフ実験により、核内での RNA 合成を証明した。以上の結果から、核内での picornavirus の存在が証明され、ウイルス構成成分の核内合成の可能性が示唆された。

この研究はウイルス増殖の形態学に新しい知見を提供しており、したがって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。