

氏 名	塚 本 恭 造 つかもと きょうぞう
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	論 理 博 第 622 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	Regulation of induction of cellular DNA synthesis in a mouse cell clone by bovine adenovirus type 3: Effect of heat treatment (牛アデノウィルス 3 型によるマウス・クローン細胞に於ける細胞 DNA 合成誘導の調節)
論文調査委員	(主 査) 教 授 由 良 隆 教 授 小 関 治 男 教 授 岡 田 節 人

### 論 文 内 容 の 要 旨

腫瘍ウィルス感染による in vitro 培養細胞の異形化反応(トランスホメーション)は in vivo に於ける腫瘍形成のメカニズムを解析する上で重要な手段である。これ迄腫瘍源としてのウィルスの生化学的、遺伝学的研究が数多くの研究室でとり扱われ、特にここ数年急速な進展をとげてきた。これらの研究は多くの重要な知見をもたらしたが、一方ウィルス遺伝子の発現に加えて細胞側の要因が、細胞の異形化に重要な役割を果していることが示唆されている。

本論文は、DNA 型腫瘍ウィルスの一種である BAV 3 を用い、細胞のトランスホメーションに関係する宿主細胞 DNA 合成誘導の調節について特に細胞側の要因の解析を行ったものである。申請者は、接触阻害により増殖停止状態にあるマウス由来の単層培養細胞に於て、BAV 3 の不稔性感染により宿主 DNA 合成が誘導される実験系を確立したが、この細胞群の中に BAV 3 感染によっても、DNA 合成を誘導されないクローンが存在することに着目した。細胞を BAV 3 感染後、5-フルオロデオキシウリジン処理することにより DNA 合成を誘導される細胞を特異的に殺し、DNA 合成を誘導されない細胞を選択的に単離することに成功し、この非誘導性細胞の性質を解析した。この非誘導性細胞では、BAV 3 感染後ウィルスの細胞への吸着、侵入、脱外被の段階は正常に進行するが、ウィルスの mRNA 合成が出来ないことを示した。この非誘導性細胞を予め高温処理(41.5℃, 4時間)すると、非誘導性から誘導性細胞に変換される、即ち BAV 3 感染により宿主 DNA 合成が誘導される。また、この非誘導性の性質及び高温処理による誘導性細胞へ変換する性質は長期に亘り安定であること、高温処理後ウィルス感染により起る DNA 合成がウィルス感染と無関係な非特異的なものでないこと、この細胞は、もともとウィルスが入りこんだ細胞でないこと等を確認した。更にこの高温処理によってウィルス mRNA が宿主 DNA 合成誘導と呼応して合成可能となっていることを認めた。高温処理後 37℃ で一定時間培養すると、再び宿主 DNA 合成非誘導性の細胞に戻ることや、この常温(37℃)培養時に蛋白合成を阻害すると、誘導性細胞から非誘導性細胞への再転換が妨げられること等から、この細胞中には BAV 3 による宿主 DNA 合成誘導

を阻害する要因が存在することが示唆された。

これらの結果に類似性を有する報告として、例えばハムスター腎由来の細胞株に於て、化学発癌剤を用い、或いは自然に発癌を起こしたトランスホーム細胞で、高温培養によってのみトランスホームした形質が発現する（37℃では正常の増殖を示す）ことや、またマウス胚性癌腫細胞に於て、多分化能を有しながら未分化の状態にある細胞にポリオーマ、SV40、MuLVなどを感染させるとウイルスの細胞への吸着、脱外被は正常に進行するが、ウイルス初期抗原の発現に至れないが、この細胞を *in vitro* で分化状態に進行させると、これらの抗原が検出されることが見出された。

この例にもみられる様に、宿主側の要因によりウイルス遺伝子の発現の調節が行われ、冒頭に記した細胞のトランスホーメーションに於ける宿主側要因の解析の必要性和相まって、今後重要な課題と考えられる。本論文は腫瘍ウイルスによる細胞のDNA合成誘導に関して反応性の異なる細胞の単離、及び細胞の高温処理による細胞の性質の変換を認める等の新しい知見を含んでおり、またウイルス遺伝子発現を調節する細胞側要因の存在を示唆するものとして重要な貢献をなすものである。

### 論文審査の結果の要旨

腫瘍ウイルスによる *in vitro* の系におけるトランスホーメーションの機構解析の上で、ウイルスの分子生物学的研究が著しい進展をみせているが、それにつれて、細胞側の要因の重要性が一段と認識される段階になって来ている。然しこの方面での研究は非常に少く、系統的な研究が強く望まれている。

申請者は、トランスホーメーションに伴う諸現象の中で特に強い関連性をもつと考えられるウイルスによる宿主DNA合成誘導に焦点を合わせてこの問題に取り組んだ。フルオロデオキシウリジンをを用いてウイルスに対する反応性のない、すなわちDNA合成誘導の起らないクローンを単離したこと、及び特に細胞を高温処理することによりウイルスに対する反応性（宿主DNA合成誘導に関して）が非誘導性から誘導性へ転換することの発見は高く評価されることである。また非誘導性細胞に於ては、ウイルスの吸着、脱外被が正常に進行するが、ウイルスmRNA合成が出来ないこと、高温処理によってウイルスmRNA合成が可能となり、これと呼応した形で宿主DNA合成が誘導されたという点は、例えばマウス胚性癌腫細胞の未分化状態の細胞では、SV40等のウイルスの吸着、脱外被迄で進行がとまり、分化状態に入るとウイルス初期抗原が産出されるという報告等と類似性を有している。これらの実験に於て、もともと単離した細胞にウイルスゲノムがないこと（検出限度以下）の確認を始め、細胞の性質の安定性、再現性の確認、更に高温処理によるウイルス感染と関係のない非特異的なDNA合成でないことの確認等も注意深く行なわれている。更に高温処理（41.5℃、4時間）後、37℃で一定時間培養することによる非誘導性細胞への復元や、この時期の蛋白合成阻害による非誘導性細胞への復元の阻害などにより、宿主細胞の蛋白性の要因によるウイルスmRNA合成阻害が示唆されている。これらの結果はこの分野における新しい研究の方向を示す有意義な結果と考えられる。

以上の審査の結果、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。