

氏 名	浜 田 忠 彌 はま だ ちゅう や
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	論 医 博 第 112 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 38 年 12 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 adenovirus (c) Immunofluorescent and cytochemical studies on the growth of adenovirus type 1 in HeLa cells (アデノウイルスに関する研究：ヒラ細胞におけるアデノウイルス 1 型の増殖に関する蛍光抗体法および細胞化学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 甲 野 禮 作 教 授 天 野 重 安 教 授 東 昇

論 文 内 容 の 要 旨

アデノウイルスは少なくとも28の血清型があって種々の疾患の原因となりある型はハムスター発癌性を有することが発見され、また培養細胞に感染させると、きわめて特有の形態学的生化学的变化を呈することがわかり注目されるようになった。

主論文はアデノウイルス I 型感染ヒラ細胞の形態学的変化についてそのウイルス特異抗原の局在部位を蛍光抗体法により、また核酸の局在性をアクリジンオレンジ染色によって観察し、えられた知見を同時に並行しておこなった増殖実験およびヘマトキシリン—エオジン染色の知見と比較検討を試みたものである。なお、蛍光抗体法はアデノウイルス I 型粗抗原およびそれからクロマトグラフィーによってえた毒素様物質のそれぞれに対する抗血清を用いておこなった。

感染細胞の形態学的変化は終始核内に限局して観察された。アクリジンオレンジ染色によるときは感染価の上昇に先立って核小体の巨大化およびその橙赤色蛍光の増強がみとめられ、同時に緑黄色蛍光を帯びた封入体の出現がみられた。これらの知見は感染性ウイルス粒子の完成に先立ってリボ核酸およびデオキシリボ核酸の合成が盛んになることを示すものである。

抗粗抗原血清を用いた蛍光抗体法によるときは最初の蛍光は細胞内感染価が上昇し始めると同時に核内封入体に一致して観察された。このことは特異的抗原蛋白の集積をもって感染性ウイルスの合成が完成することを暗示するものである。

感染の最盛期すなわち細胞内ウイルス量が最高値を示す感染中期には好塩基性核内封入体に一致してアクリジンオレンジの緑黄色蛍光および蛍光抗体法による特異的蛍光が観察された。すなわち、感染中期にみられる核内封入体は主としてデオキシリボ核酸および特異的抗原蛋白により構成されていることを示すものである。しかしまた、この時期の細胞をデオキシリボ核酸分解酵素で処理後、アクリジンオレンジ染色をすると封入体の存在部位に一致して橙赤色の蛍光が現われてくるところからデオキシリボ核酸以外にリボ核酸も同時に存在していることが明らかとなった。この知見はアクリジンオレンジ染色と核酸分解酵

素処理の組合せによって始めてえられたものである。

一方、抗毒素様物質血清を用いた蛍光抗体法によると特異的蛍光は感染の最盛期に出現してくる核周辺部の空胞に一致して観察された。この知見は従来代謝産物等の蓄積の結果生ずると考えられていた空胞部位においても積極的な抗原蛋白（特に毒素様物質）の集積もしくは産生が起こっていることを示すものである。この知見は抗毒素様物質因子血清を用いた蛍光抗体法による本実験によって始めて明らかにされた。

以上の結果、アデノウイルスのヒラ細胞における感染増殖過程は、核内における感染に必須なデオキシリボ核酸およびリボ核酸、種々の抗原性蛋白質の産生を伴うものであることを明らかにし、従来の増殖および生化学的研究と相まって、本ウイルスの増殖過程を包括的に明らかにしたものである。

論文審査の結果の要旨

著者はアデノウイルス I 型感染ヒラ細胞の形態学的変化についてウイルス特異抗原の局在部位を蛍光抗体法により、核酸の局在性をアクリジンオレンジ染色により観察し、並行的に行なったウイルス増殖実験および通常の HE 染色所見と比較検討し、つぎの成績を得た。(1)感染細胞の変化は核内に限局し、ウイルス増殖にともなう生ずる核内封入体は DNA およびウイルス型特異的抗原蛋白よりなること、この際初期にみられる核小体 RNA の増強および、DNA 分解酵素処理後の染色所見で封入体部位に RNA が陽性となることから RNA の関与を証明した。(2) またウイルス感染にともない生ずる毒素様物質蛋白は感染末期にあらわれる核内空胞に出現することを、因子血清による蛍光抗体法で証明した。

このように本研究は核内で増殖する DNA ウイルスであるアデノウイルスの細胞内形態学的変化と増殖の関係を細胞化学的に意味づけたもので学術上有益であり、医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。