

【 72 】

氏 名	長 谷 川 輝 彦 は せ がわ てる ひこ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 126 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 1 項 該 当
研究科・専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Electron Microscopic Observations of HeLa Cells infected with Herpes Simplex Virus (単純性疱疹ウイルス感染 HeLa 細胞の電顕的観察)
論文調査委員	(主 査) 教 授 太 藤 重 夫 教 授 稲 田 務 教 授 岡 本 耕 造

論 文 内 容 の 要 旨

皮膚科領域においては、現在のところ次のウイルスが電子顕微鏡的に確認されている。すなわち伝染性軟属腫ウイルス、尋常性疣贅ウイルス、単純性疱疹ウイルス、带状疱疹ウイルス、牛痘ウイルスである。このうち単純性疱疹ウイルスと牛痘ウイルスについては組織培養法においてもその存在を電子顕微鏡的研究で認められている。

しかしウイルス—細胞関係の超微細構造的詳細な記述はなされていない。この種の研究はまだ始まったばかりである。

この未解決の問題を解明する目的で、著者は単純性疱疹ウイルス感染 HeLa 細胞の電子顕微鏡的観察を行なった。

実験方法

本研究には HF 株の単純性疱疹ウイルスと HeLa 細胞を使用した。

YLE 培地に培養した HeLa 細胞（2～3日目）に単純性疱疹ウイルスを 37°C、1 時間吸着せしめた。未吸着ウイルスを除き、維持培養液を加えた後、経時的に感染細胞を集めて、0.5% 磷酸緩衝液固定、または KMnO₄ 固定、エタノール系列脱水、n-butyl methacrylate・methyl-methacrylate 混合モノマーで包埋した。一部は固定後アセトン系列脱水、Rigolac-Methacrylate 混合樹脂で包埋した。ガラスナイフを用いて作成した超薄切片の一部は水酸化鉛で電子染色を行ない電顕観察に供した。なお光学顕微鏡による観察をも併せて行なった。

成績ならびに結論

- 1) HeLa 細胞膜にウイルスが吸着している像を観察した。
- 2) 光学的に核内に見られる封入体には感染初期においてはウイルスが密集しているが、次いでウイルスが核外に放出され、末期においてはウイルスは認められない。このようにウイルスの増殖を示している封入体形成までは、細胞内小器官すなわちミトコンドリア、Golgi 装置等の小器官に著明な変化は見ら

れなかった。

- 3) ウイルスが核内増殖を始めると、核膜周囲に染色顆粒の集合が見られた。核内ウイルスは一層の限界膜で包まれており、中央に核様物質をもっている。一部にはウイルスは格子様排列をなしていた。
- 4) 細胞質内の大多数のウイルスは二重膜で包まれている。しかし少ないながらも一層の限界膜で包まれたウイルスが細胞質または空胞中にも見られた。
- 5) 核膜の一部が突出し、その中にウイルス粒子を認めたことから、核から細胞質へのウイルスの放出は核膜の一部が空胞化してその中にウイルスが出ていくものと推定された。
- 6) 感染末期となると、ミトコンドリアは膨化して、オスミウム好染物質、またはミエリン様小体といわれる像を示した。これは感染により細胞の生活力が消失していくことを示しており、このことはミトコンドリアの脱水素酵素が感染末期に消失する事実と平行している。
- 7) ウイルス感染による小胞体の数の増減は不定であった。しかし Neben Kern といわれる像が見られた。
- 8) 感染による異常代謝物質として核内に網状物質、脂肪顆粒を認めた。
- 9) Golgi 野周辺に髄膜肺炎ウイルス感染で見られるようなウイルス粒子が集合する所見はなかった。
- 10) 成熟ウイルスは球状で、約 $160\text{m}\mu$ の直径を有し、核様物質の直径は約 $35\text{m}\mu$ であった。
- 11) Epstein は成熟ウイルスの外層膜は宿主 HeLa 細胞の細胞質膜であると報告している。著者の実験においても細胞質膜とウイルスの連続した像をとらえたが、Epstein の成績ほど鮮明でなかった。しかし著者は Epstein の実験成績に同意するものである。
- 12) 多数の核をもつ HeLa 巨細胞の出現が認められた。この細胞には核内また細胞質内空胞中にも見られた。
- 13) Rigolac-Methacrylate 包埋法はウイルスならびに細胞の構造がよく保たれ、この種の超微細構造研究へのよい包埋剤であった。

論文審査の結果の要旨

単純性疱疹ウイルスは接種動物組織内にまた培養組織内にも電子顕微鏡により確認されている。しかしウイルスと感染細胞の相互関係についての超微細構造の研究は未だ緒についたところである。著者はこの問題を解明する目的で本研究を行なった。実験方法として、YLE 培地に培養した HeLa 細胞に単純性ウイルス HF 株を吸着せしめ、感染細胞の経時的観察を行なった。吸着直後、3、5 時間後には所見なく、8 時間以降に変化が認められる。はじめ 2 重膜に包まれた $160\text{m}\mu$ の成熟ウイルス粒子が細胞膜に附着し、また細胞質内に見られる。細胞質は粗となり空胞形成が見られる。核質も粗となり核辺縁に濃縮する。つぎの相では未熟ウイルス粒子が核内に散在性にあるいは格子状配列をとって見られる。

細胞の変化は前相と同様。ついで成熟ウイルスが細胞質内、とくに空胞内に現われ、細胞質、核質の変化は前相より増強し、糸粒体の崩壊、変性が現われる。ときに巨細胞を形成する。

なお、ゴルジ装置にウイルス増殖は見られない。つぎの相ではウイルス粒子は細胞外へ放出され、その際細胞膜とウイルス外膜と連続する像が見られた。このように本研究は単純性疱疹ウイルス感染細胞の

超微細構造を感染の進展との関連において観察し、新しい知見を加えたものである。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定する。