

氏 名	安 西 隆 あん ざい たかし
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	論 医 博 第 414 号
学位授与の日付	昭 和 43 年 1 月 23 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	Electron Microscopic Study of the Replication of Poliovirus in FL Cells (FL細胞におけるポリオウイルスの増殖に関する電子顕微鏡的研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 田部井 和 教 授 岡 本 耕 造 教 授 東 昇

論 文 内 容 の 要 旨

ポリオウイルスを感染させた培養細胞を電顕的に観察すると、感染細胞の核の萎縮と分葉化、細胞質内におけるリボゾームの増加、空胞形成および小胞体の発達などが認められる。子孫ウイルスは細胞質において形成され、しばしば結晶状配列を示す。感染に伴い核は形態学的に著しい変化を示すが、ウイルスの増殖と核との関係については現在不明である。著者は低温培養下におけるポリオウイルス感染細胞を電顕的に観察した結果、2種類の結晶構造が出現することを認めた。一つは、成熟ウイルスより構成された細胞質内結晶構造であり、他の一つは核内に存在し、しかもドウナッツ型粒子より成る結晶構造である。しかしこの核内ドウナッツ型粒子とポリオウイルスとの関係は不明である。

著者は、感染細胞を経時的に電顕で観察すると同時に蛍光抗体法を応用して、核内ドウナッツ型粒子の抗原性の検討を行なった。また感染細胞を経時的に採取して細胞質と核との分画を行ない、感染性ウイルス生成の場も再検討した。

実験成績

1) 感染性ウイルスの増殖：ポリオウイルス1型 Mahoney 株を感染させた FL 細胞を 28°C で培養し、これを経時的に採取して、Tween 80 を用いて細胞分画を行ない、各分画の感染価を測定した。細胞質分画のウイルス量は、感染後12時間で増加しはじめ、感染後24時間まで増加を続けた。感染後期と初期のウイルス量を比較すると、前者は後者の1,000倍以上であった。これに反して、核分画のウイルス量は、感染後期においても著しい増加を認めなかった。このことは、感染性ウイルスが細胞質部において産生されていることを示している。培養液中のウイルス量は、37°C で培養した時のそれに比べて著しく低かった。このことは、感染細胞を 28°C で培養すると、細胞からのウイルスの放出が抑制されていることを示す。

2) 電顕的観察所見：感染細胞の微細構造は、感染の進行に伴って変化し、細胞質内にはリボゾームと思われる顆粒の増加および空胞形成が顕著であり、核は多数の突起をだして不規則な形を示した。感染

16時間以後の細胞には、細胞質内および核内にそれぞれ異なった粒子から成る結晶構造が認められた。細胞質内結晶構成粒子は、きわめて電子密度の高い、ほぼ球形の均等な粒子で、大きさは $27\text{m}\mu$ であり、このものは成熟ウィルス粒子と考えられる。

核内結晶構成粒子は、大きさ $24\sim 26\text{m}\mu$ で、その大部分のものは中央部の電子密度の低い、ドウナッツ型粒子である。このドウナッツ型粒子は、大きさおよび配列状態などは、成熟ウィルス粒子と酷似する。このことから、核内ドウナッツ型粒子は、Protein coat は有しているが、RNA core を有していない不完全ウィルスと見なすことができる。

3) 蛍光抗体法所見：感染後18時間の細胞を検討したところ、細胞質部に強い特異蛍光を認めると同時に、核内に顕著な蛍光を認めた。この所見は、核内ドウナッツ型粒子が細胞質部に認められた成熟ウィルスと同一の抗原を有していることを示している。

結 論

以上述べた増殖実験成績、電顕的所見および蛍光抗体法所見から、ポリオウィルスは細胞質内で増殖する過程において、ウィルス蛋白の生成は細胞質部のみならず核内においても行なわれる。ウィルスの成熟過程は細胞質部で行なわれるといえる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ポリオウィルスで感染させた FL 細胞を、比較的低温すなわち 28°C で培養することにより、成熟ウィルス粒子とひとしい大きさおよび配列を示すドウナッツ型粒子が核内に生じ、このドウナッツ型粒子は蛍光抗体法で細胞質内成熟粒子と同一の抗原性を示す Protein coat を有することを認めた。またウィルス感染細胞を核と細胞質とに分画して、それぞれの感染性を検査すると、ウィルスは細胞質部で生産されることを認めた。

以上の成績から、ポリオウィルスのウィルス蛋白の生成は細胞質部のみならず核内においても行なわれ、ウィルスの成熟過程は細胞質部で行なわれるものであるといえる。

この研究は学術上有益で、医学博士の学位論文として価値あるものと認める。