

ジステンパーウイルス感染培養細胞の 有糸分裂像について

岡山大学医学部微生物学教室 (主任: 村上 栄教授)

俵 寿 太 郎

〔昭和43年7月31日受稿〕

緒 言

試験管内培養細胞が、有糸分裂により二分して増殖していくものであることは勿論であるが、病原ウイルスに感染した培養細胞においても分裂増殖が行われているものであるかどうかということは、甚だ興味のあることである。そしてこのことに関する従来の報告は、二通りのものに大別することが出来る。即ちその一つは、ウイルスに感染した細胞ではもはや細胞の分裂は行われなかつたという例を述べたもので、Marcus 等 (1958)¹⁾、Franklin (1958)²⁾ および Stoker 等 (1959)³⁾ による報告がそれであり、他の一つはウイルスに感染した細胞でもなお有糸分裂の行われるのを観察することが出来たと述べているもので、Rubin 等 (1958)⁴⁾、Wheelock 等 (1959)⁵⁾、Vogt 等 (1960)⁶⁾、Fastier (1960)⁷⁾ および Gresser 等 (1961)⁸⁾ によるものがその主なものであろう。

著者は、FL 細胞および MDCK 細胞 (犬腎) を用いてイヌジステンパーウイルスの感染実験を行いつつあり、封入体を形成した感染細胞が有糸分裂を繰返していく像を観察することが出来たので報告する次第である。

実験材料および方法

細胞：使用した細胞は FL 細胞および MDCK 細胞である。YLE 液でこれら細胞の浮游液を作り、細胞数を 1ml 中に $1-1.5 \times 10^5$ になるようにして、予め1枚ずつのカバースリップを入れた培養試験管に分散し、37°C で静置培養するときは、2~3 日にして細胞数は $2-3 \times 10^5$ の単層となるので、これをウイルス接種用に供した。

ウイルス：使用したイヌジステンパーウイルスは、日本生物科学研究所本橋常正博士よりわけいただいたもので、ニワトリ胚芽細胞により分離さ

れた Hokkaido 株で、これを著者が FL 細胞および MDCK 細胞に馴化させて継代中のものである。

方法：接種材料のウイルス液の濃度は 1000~10,000 TCID₅₀/ml のものであり、培養細胞を PBS 液で一回洗滌したものに接種、37°C で2時間吸着させて後、4日毎に新しい培養液と交換した。培養液は細胞増殖用には20%仔牛血清加液を、維持用には5%仔牛血清加 YLE 液を用いた。そしてウイルス接種後径的にカバースリップを取り出して、エーテル・アルコール等量液で固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って鏡検標本とした。

成 績

ジステンパーウイルス感染細胞が示す特異的 CPE は、多核巨大細胞形成とエオジン好性細胞質内および核内封入体形成がその主なるものである。この実験条件下においてこれらの CPE が出現する時間的關係は、ウイルス接種後 3~4 週で、CPE 出現期間中にみられたウイルス感染細胞の有糸分裂像を示したものが写真 1-11 である。そして写真 1-9 は FL 細胞にみられた像であつて、継代 14 代目のウイルス接種後 25 日の材料中から観察されたものであり、写真 10 および 11 はウイルス感染 MDCK 細胞にみられた像で、継代 17 代目のウイルス接種後 21 日の材料中から観察されたものである。

即ち写真 1 はウイルスを接種していない正常細胞にみられた分裂中期像であり、ヘマトキシリンに濃染した多数の染色体が細胞中央に存在している。写真 2 は既に特異的 CPE である細胞質内封入体および核内封入体を示している静止期の感染細胞である。この程度の CPE を示している感染細胞群中にみられる分裂像の前期と中期を示したものが写真 3 である。右側にある前期を示す細胞では、核に相当する部分が明るく、その中でクロマチンが濃厚になつて網状構造を呈するようになつているし、細胞質

中には2個の封入体を認めることが出来る。左側にある中期側面像では、細胞中央の赤道面に染色体がならび、数個の封入体は細胞周辺部に押されて存在している。この細胞にみる如く形そのものが球型を呈するのは、細胞が分裂するに際してガラス面より培養液中に突出してくる為、おのづからこのような形態をとるのである。ガラス面に固着したままの細胞の中期極面像は写真4であり、側面像は写真5である。これらの細胞はいずれも染色体群の他に大小多数の封入体を有している。写真6に示す後期像では、二分した染色体群が両極に向かつてひかれて存在しており、各所に封入体がみられる。その後細胞中央部に縊れを生じてきた写真7の後期像では、分裂して生ずる娘細胞部分に既に移動している封入体と、なお縊れ部に存在している娘細胞に移動するの判断し難い像を示している封入体がある。そして写真8の完全に分裂して新生された2個の娘細胞では、次第に再現してきた娘核の近くにそれぞれ封入体を有し、母細胞に由来した封入体が2個の新生娘細胞中に移動してきたことを知る事が出来た。以上がウイルス感染FL細胞にみられた分裂各期の像であるが、FL細胞群中には、まれに例外として多倍数体の大細胞が存在し、写真9はその一例で、ウイルス感染大細胞にみられた中期像であるが、染色体数は2倍体の細胞とくらべてはるかに多い。

写真10および11のMDCK細胞では、前者は対照のウイルス非接種細胞の分裂中期の像であり、写真11はウイルス感染細胞の中期像で、封入体の存在もはつきりとしていてFL細胞にみられる像と別に変つたところはなかつた。

以上の如く、ジステンパーウイルスに感染したFL細胞およびMDCK細胞は、ともに封入体を形成しながらも正常の細胞分裂を行つて、母細胞の封入体を娘細胞まで運ぶことがわかつた。ただウイルス感染多核巨大細胞における細胞分裂像のみは観察することが出来なかつた。つまり細胞分裂像は一細胞一核の感染細胞においてのみ観察されたわけである。

考 按

ジステンパーウイルス接種後かなり長時間を経過した感染FL細胞およびMDCK細胞内に、エオジン好性の細胞質内および核内封入体が多数認められるにかかわらず、これらの細胞で正常なる有糸分裂

が行われており、分裂により生じた2個の新生娘細胞中に封入体がそれぞれ移行していくのが観察された。このようにウイルス感染細胞でなお有糸分裂を行うものとして報告されているウイルスには、ラウス肉腫ウイルス⁴⁾、ポリオマウイルス⁵⁾、ニューカッスルウイルス⁶⁾、インフルエンザウイルス⁷⁾、仙台ウイルス⁸⁾、伝染性イヌ肝炎ウイルス⁷⁾、ムンプスウイルス¹⁰⁾ およびCAウイルス⁸⁾ 等がある。そしてこれとは逆に細胞の分裂を行わないウイルスとしては、ニューカッスルウイルスおよび単純疱疹ウイルスとがある。このような差異はウイルスの種類の間違ひによつて起こることはあり得ることであろう。しかし、ニューカッスルウイルスについては二通りの異つた報告があるわけであるが、これが実験条件の差異によるものかどうかは再検討を要するものであろう。そして、イヌジステンパーウイルスは前者のウイルス群に属することになる。またWheelockらはこれとは別の考えで、細胞がウイルスにさらされたとき、有糸分裂が開始する時との時間的間隔の短いときにのみ、細胞は分裂することができるのであろうと仮定している。ジステンパーウイルスの場合は、ウイルス接種後長時間を経ており、しかも細胞内に封入体の存在まで明らかに認められる状態でありながらなお分裂が行われているしこの説はあてはまらないことになる。

結果的には、このウイルスは細胞の核酸および蛋白質の合成に、長期にわたつてなら影響を及ぼしていないことになるように思われる。ただウイルス感染単核細胞においては有糸分裂が認められるが、ウイルス感染多核巨大細胞においては有糸分裂が認められないことには意義があるように思われる。しかし多核巨大細胞の分裂は、核分裂が乱れ複雑となつていくためによるものであろう。

つぎに核内封入体の行動についてであるが、分裂完了直後の新生娘細胞中に核内封入体の存在しているのをいまだに観察したことがない。今後引き続き詳細なる観察を行つて究明したいと思つている。

結 語

FL細胞およびMDCK細胞(犬腎)にイヌジステンパーウイルスを接種し、経目的に標本を観察した結果、エオジン好性の細胞質内および核内封入体を形成した感染細胞において、なお正常なる有糸分裂が行われている像を観察することが出来た。ただしこれは1細胞1核を有する感染細胞においてのみ

観察することが出来て、多核巨大細胞では観察することは出来なかつた。

本研究に対しご教示を賜わつた村上栄教授に心から感謝致します。

文 献

- 1) Marcus, P. I., and Puck, T. T.: (1958) Host-cell interaction of animal viruses. I. Titration of cell-killing by viruses. *Virology*, **6**, 405—423.
- 2) Franklin, R. M.: (1958) The growth of fowl plague virus in tissue cultures of chicken macrophages and giant cells. *Virology*, **6**, 81—95.
- 3) Stoker, M. G. P., and Newton, A.: (1959) Mitotic inhibition in HeLa cells caused by herpes virus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **81**, 129—132.
- 4) Rubin, H., and Temin, H. M.: (1958) Infection with the rous sarcoma virus in vitro. *Federation Proc.*, **17**, 994—1003.
- 5) Wheelock, E. F., and Tamm, I.: (1959) Mitosis and division in HeLa cells infected with influenza or Newcastle disease virus. *Virology*, **8**, 532—536.
- 6) Vogt, M., and Dulbecco, R.: (1960) Virus-cell interaction with a tumor-producing virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **45**, 365—370.
- 7) Fastier, L. B.: (1960) Mitotic activity of virus infected cells. *Virology*, **10**, 542—545.
- 8) Gresser, I., and Enders, J. F.: (1961) A note on the presence of inclusion bodies in dividing human kidney cells infected with croup-associated virus. *Virology*, **13**, 370—372.
- 9) Traver, M. I., Northrop, R. L., and Walker, D. L.: (1960) Site of intracellular antigen production by myxoviruses. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **104**, 268—273.
- 10) Walker, D. L.: (1960) In vitro cell-virus relationships resulting in cell death. *Ann. Rev. Microbiol.* **14**, 177—196.

On the Mitosis of the Cultured Cell Infected with Canine Distemper Virus

By

Jutaro TAWARA

Department of Microbiology, Okayama University Medical School.
(Chief: Prof. S. Murakami)

The present paper will report about the mitotic phases of the cells infected with canine distemper virus.

Namely, FL cells and MDCK cells which have formed inclusion bodies after inoculation of canine distemper virus showed normal mitosis and inclusion bodies were transferred to the daughter cells. Mitosis was observed only in the mononuclear cells and not in the multinucleated giant cells infected with this virus.

写 真 説 明

(1)~(9) は FL 細胞, (10)~(11) は MDCK 細胞.

(1) ウイルス非接種対照細胞中期像を示す.

(2) ウイルス接種後26日の感染細胞静止期で, 細胞質内および核内封入体がみられる.

(3) 右側の細胞は前期を示し, 左側の細胞は中期像の側面像を示すが, いずれの細胞にも数個の封入体が存在している.

(4) 中期極面像

(5) 中期側面像

(6) 後 期 像

(7) 終 期 像

(8) 新生娘細胞

(9) 多倍数体感染細胞の中期像

(10) ウイルス非接種対照細胞中期像を示す.

(11) ウイルス感染細胞の中期像

表 論文 附 図



