原 著

水痘ウイルス感染細胞の電子顕微鏡観察

清水 明, 山田堅一郎, 奥村秀夫

国立予防衛生研究所ウイルスリケッチア部

(受付: 昭和62年7月1日)

水痘ウイルス感染により細胞内に出現するウイルス特異構造物やそれら物質の動態に関してはすでに多くの知見が報告され^{1, 6, 7)} 細胞内や細胞外に認められる多様な形態を示すウイルス粒子の産生や排出機構に関する仮説もいくつか提出されている^{3, 5, 9)}。それらの仮説を裏付ける成績を得るためには、なるべく自然な状態の細胞構造がよく保持された標本での検討が望まれる。近年、細胞を基質に附着したまま固定を行なうことにより細胞構造の破壊を最小限に抑える方法が開発され、細胞構造やその機能の解析に広く利用されている^{2, 11)}。そこで今回我々はその方法を水痘ウイルス感染細胞の標本作成に応用し、それを用いて観察を行なったのでその結果を報告する。

Lab-Tek chamber (Miles 社製) に単層を形成したヒト二倍体細胞 (HAIN-55株)¹⁰⁾ 上に、感染効率を高めるためにトリプシン消化で得た水痘ウイルス (K 9 株)¹⁰⁾ 感染細胞を軽く遠心したものをごせ36℃で24~48時間培養した。そして、Warchol et al. (1974)¹¹⁾ の方法に準じて、細胞を chamber 面に附着したままの状態に固定 (グルタルアルデヒドと四酸化オスミウムによる二重固定)・脱水・包埋を行なった。次いで、細胞の附着していた面と平行に切断することによって超薄切片を作成し染色 (酢酸ウラニウムとクエン酸鉛による二重染色) 後、JEM 100型電子顕微鏡 (日本電子製) で観察した。

図1に見られるように、細胞質に拡張した粗面小胞体腔が認められ、中には核膜腔と連続して細胞膜近くまでのびているものもはっきりと認め、またその中にウイルス粒子も認められた。この成績はこの小胞体腔が内側核

膜より出芽成熟したウイルス粒子の細胞外への排出ルートの一つの可能性を示唆するものである。図2, 3に見られる細胞質中の電子密度の高い物質 (この物質の電子密度はウイルス粒子の envelope 成分のそれによく似ている) は、capsid の関与なしに、ゴルジ装置で滑面小胞体或いはライソゾームによる wrapping mechanism^{4, 8)} によって、さらに autophagy 性の機構によって膜に包みこまれ、ウイルス粒子様の形態を形成することが認められた。先に Nii (1973)⁹⁾ は細胞質内の二重膜構造物の関与する粒子形成像に関する仮説を提起している。それによると、空胞内や細胞外に多く観察される異常な形態のウイルス粒子は細胞質内の二重膜が深く関与して形成されるものであらうと考えられる。今回我々の観察で得られた成績は彼の報告とよく類似している。さらに我々もその粒子形成がゴルジ装置と密接に関与していることを示す所見を得た。従って、今回の結果は彼の仮説を強く支持することになる。細胞膜近くに多数認められる小空胞様構造はこのような機構で形成された物質が細胞外に reverse phagocytosis 性の機構により排出される過程と関連があると思われる。また小空胞様構造の膜同志の融合像が多く認められたのは、膜自身がウイルス由来の膜結合性の強い物質により修飾されているためではないかと示唆された (図4, 5, 6)。このような小空胞様構造が多く認められる理由は未だ明かでないが、その構造物が単に数多くつくられるためだけではなく、ウイルス感染によって細胞膜の生理機能が変化し融合した膜成分のその後のステップ (例えば拡散による移動) が阻害される結果によることも考えられる。

終りに、電子顕微鏡の撮影に御協力を賜った東海大学医学部 赤塚明氏に深謝致します。

文 献

- 1) Becker, P., J. L. Melnick, and H. D. Mayer : *Exp. Mol. Pathol.*, 4, 11 (1965)

An electron microscopic observation on cells infected with varicella-zoster virus

Akira SHIMIZU, Kenichiro YAMADA, and Hideo OKUMURA
National Institute of Health, Department of Virology and
Rickettsiology, Tokyo, Japan
〒141 品川区上大崎 2-10-35

- 2) Chang, J. : J. Ultrastruct. Res., 37, 370(1971)
- 3) Cook, M.L. and J.G. Stevens : J. Ultrastruct. Res., 32, 334 (1970)
- 4) デイーン, R. T. : ライソゾーム, Asakura-Arnold Biology 20, 朝倉書店, p. 60 (1981)
- 5) Gershon, A., L. Cosio, and P. A. Brunell : J. gen. Virol., 18, 21 (1973)
- 6) Gilden, D. H., Z. Wroblewska, V. Kindt, K. G. Warren, and J. S. Wolinsky : Arch. Virol., 56, 105 (1978)
- 7) Kimura, A., K. Tosaka, and T. Nakao : Arch. gesamte Virusforsch., 36, 1 (1972)
- 8) Mayahara, H. : J. Kansai Med. Sch., 24 (suppl.), 98 (1972)
- 9) Nii, S. : Biken J., 16, 173 (1973)
- 10) 清水明 : ウイルス, 32, 73 (1982)
- 11) Warchol, J. B., D. C. Herbert, and E. G. Rennels : Am. J. Anat., 141, 427 (1974)

図 1. 核膜より連続して細胞膜近くまでのびる拡張した粗面小胞体腔 (太い矢印) とその中に不全ウイルス粒子 (細い矢印) が認められる. スケール 500nm

図 2, 3. 細胞質のゴルジ装置での電子密度の高い物質の wrapping mechanism による autophagy に似た機構によるウイルス粒子様粒子の形成 (矢印). スケール 500nm

図 4, 5, 6. 細胞膜近くに多数認められる小空胞様構造 (矢印). スケール 500nm