

ヒトおよびハムスターの細胞のSimian virus 40 (SV₄₀)

による *in vitro* の変換現象

塩 沢 博*

(昭和46年1月19日受付)

ま と め

1. ヒト由来の細胞4種類 (M 63, T-28, HuE および MU), ハムスター由来の細胞3種類 (HEF, T-I, T-II) を用いて Simian virus 40 (SV₄₀) 接種による形態変換現象を検討した。上記の細胞はいずれも SV₄₀ 接種後増殖が良好となり *focus* を形成するようになる。
2. ハムスター変換細胞の上清には感染性ウイルスは証明できないが、この実験で用いたヒト細胞は全例ウイルスを証明できた。
3. ハムスター変換細胞では軟寒天内にコロニーを形成するが、ヒト由来の変換細胞ではコロニーの形成は認められない。またヒトの変換細胞ではコーチゾンで前処置してもハムスターに移植できない。
4. SV₄₀ によるハムスターの変換細胞は長期継代可能だが、ヒト変換細胞の増殖性は継代しているうちにやがて急激に *crisis* に陥り培養不能になる。ヒト胎児細胞の1系列のみに細胞の *recovery* を認めた。このようになった変換細胞の上清にはもはや感染性 SV₄₀ を認めない。

Keywords; SV₄₀, 腫瘍ウイルス, 形態変換, 異種移植, Crisis。

ま え が き

Simian virus 40 (SV₄₀) は *Papova viruses* 群に属し、サル由来の腫瘍ウイルスとして腫瘍ウイルスの中でも重要な地位を占めている。このウイルスは *in vivo* でハムスター²⁾³⁾, ラットの接種局所に腫瘍を形成し, *in vitro* ではマウス⁴⁾⁵⁾, ハムスター⁶⁾⁷⁾⁸⁾, ウサギ⁹⁾, ブタ, ウシ, ラットなどに由来する種々の細胞に形態変換現象を引き起こすことが知られ, *in vitro* でヒト由来の細胞では腎, 頬粘膜, 肺, 甲状腺, 副甲状腺, 肝, 胸腺, 皮膚に由来する細胞での報告がある。

SV₄₀ による形態変換現象の出現の感受性は種々のヒト細胞によってかなり異なる¹⁰⁾。

Todaro らは特に *Fanconi anemia*, *Down's syndrome* の患者に由来する細胞や、癌多発系の家族に由来する細胞

は SV₄₀ による形態変換に対する感受性が高いと報告している¹¹⁾¹²⁾。他方 SV₄₀ によるハムスター変換細胞のように、一般の変換細胞は長期間継代可能であるが、SV₄₀ によるヒト由来の変換細胞は Shein¹⁴⁾ および Moyer¹⁵⁾ らによって報告されているように長期間の継代が不可能であり、やがて急激に *crisis* に陥る。

以上のように SV₄₀ 接種によるヒト細胞でも感受性の異りが知られヒト以外の哺乳動物ではハムスター細胞および GMK (*Green monkey kidney*) 細胞はさらに SV₄₀ に対する反応が種々の面でヒト細胞と相違している。

そこで由来の異なる種々のヒト細胞の SV₄₀ による変換現象を観察し、変換細胞における SV₄₀ の産生の有無、長期継代培養の可能性などをハムスター胎児細胞と比較検討した。

* 千葉大学大学院医学研究科病理系微生物学 (主任桑田次男教授)

HIROSHI SHIOZAWA: Studies on the *in vitro* transformation of human and hamster cells by Simian virus 40 (SV₄₀).

Department of Microbiology, School of Medicine, Chiba University, Chiba.

Received for publication, January 19, 1971.

実験方法

1. 細胞培養

組織を細分し PBS (Dulbecco リン酸緩衝液) で洗滌し、トリプシン液で消化を行ない、培養維持には Eagle 培地に *biotin*, *penicillin*, *streptomycin* および成牛血清を加えた MEM (Eagle's minimum essential medium) 変法培地を使用し静置培養を行なった。

観察は位相差倒立顕微鏡 (ニコン, MS 型) で行ない、染色はメタノール固定後 May-Grünwald Giemsa 染色を行なった。

2. 軟寒天内培養法

Macpherson らの方法に従って *first overlay medium* は 0.5% の Difco Noble Agar および 4 倍量のアミノ酸およびビタミンを加えた MEM 変法培地を用い、Second layer は 0.33% の Difco Noble Agar および上記の MEM 変法培地を用いて細胞を浮遊し、炭酸ガス培養器で培養を行なった。

3. ハムスター頬嚢膜下接種法

Handler および Foley¹⁶⁾ に従ってハムスター頬嚢膜下に細胞を注入し、皮下にコーチゾンで前処置を行なった。

4. 培養上清中のウイルス量の測定法

培養上清を凍結融解し、GMK 細胞でウイルスの力価を測定した。GMK 細胞は千葉血清研究所より分与されたものを試験管に分注し使用、観察は 30 日間行ない TCID₅₀/0.2 ml (50% tissue culture infective dose) を Reed-Meunch 法に従って計算した。

5. ウイルス

SV₄₀ の 777 株を予研内田清二郎博士から分与を受け、GMK で増殖させ使用した。

実験結果

1. 悪性リンパ腫由来の細胞 (M 63)

a. 無処理 M 63 細胞の培養

培養後 3 週間で *confluent* になり、形態は平たい線維芽細胞様、増殖は 5 代ないし 6 代までは活発であったが、以後やや緩慢になり、10 代を過ぎる頃 (400 日) より増殖は一層ゆっくりになり、15 代以後は継代不能にな

り、800 日で培養を中止した (Fig. 1)。

b. SV₄₀ 処理 M 63 細胞の *in vitro* 変換現象

M 63 細胞を 4 代継代し 10^{7.0}TCID₅₀/0.2 ml の SV₄₀ で処理すると、約 4 週目より *focus* 状をした変換細胞が出現した。細胞の屈光性が増加し、上皮細胞様になり、*focus* の周囲には線維芽細胞様の細胞が出現した。40 日前後になると *focus* は培養ビンに表面に斑紋状に認められる、12 代 296 日以後増殖が著しく悪化し継代不能になった (Fig. 2)。

c. SV₄₀ 処理による変換 M63 細胞 (M 62 SV) の異種動物への移植性の検討

幼若ハムスター頬嚢膜下に 4 代継代変換 M 63 細胞の 10^{6.0}/0.2 ml を接種し、*cortisone* で前処置を行なったが移植されず腫瘍の形成は認められなかった。さらに細胞を増加したが結果は陰性であった。

d. 軟寒天培養法によるコロニー形成の検討

4 代継代 M 63 SV 細胞 1.0×10^{4.0}/plate, 3.0×10^{4.0}/plate および 7 代継代 M 63 SV 細胞 6.0×10^{4.0}/plate を播いて 30 日間観察したが、細胞は萎縮して分裂像を示さなかった。

e. 培養上清中の感染性 SV₄₀ の検索

10^{7.0}TCID₅₀/0.2 ml の力価ある SV₄₀ を接種した。接種後 52 日目に 10^{6.75}TCID₅₀/0.2 ml となり、以後 10^{5.0}前後のウイルスを認めた (Table 1)。

2. 急性骨髄性白血病由来の細胞 (T-28)

a. 無処理 T-28 細胞の培養

形態は線維芽細胞様で配列はやや乱れていた。継代 3 代ないし 4 代まで活発に増殖したが、5 代以後は増殖緩慢になり 394 日で培養不能になった。

b. SV₄₀ 処理 T-28 細胞 (T-28 SV) の *in vitro* 変換現象

Table 1. M63SV 細胞上清中のウイルス力価

days after exposure	virus titer (TCID ₅₀)	days after exposure	virus titer (TCID ₅₀)
28	(+)*	137	10 ^{5.25}
43	(++)*	171	10 ^{5.0}
52	10 ^{6.75}	194	10 ^{5.5}
69	10 ^{5.75}	207	10 ^{4.25}
92	10 ^{5.0}	239	10 ^{4.0}
104	10 ^{5.25}	249	10 ^{4.0}
120	10 ^{3.25}	296	10 ^{3.0}

* FOCUS

4 代継代 M63 細胞に SV₄₀ を接種し上清中の SV₄₀ の力価を測定した。

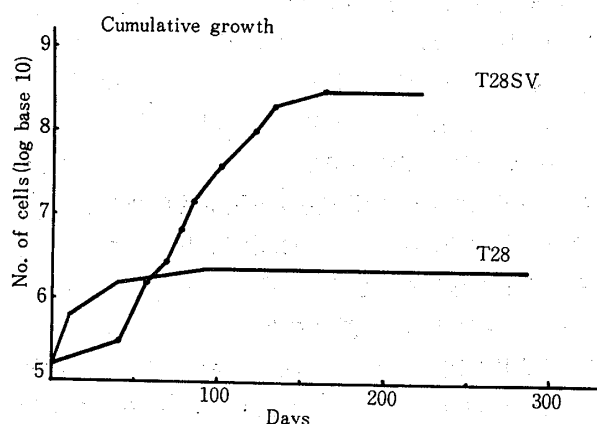


Fig. 7 T-28 SV 細胞の集積増殖曲線

T-28 細胞および T-28 SV 細胞の集積増殖を図示したもの。対照 T-28 と T-28SV 細胞の間には明らかな差を認める。

Table 2. T-28 SV 細胞培養上清中のウイルス力価

days after exposure	virus titer (TCID ₅₀)	days after exposure	virus titer (TCID ₅₀)
16	10 ^{6.0}	113	10 ^{4.0}
21	10 ^{6.0}	119	10 ^{4.5}
35	10 ^{6.0} (+)*	163	10 ^{4.0}
65	10 ^{5.75}	175	10 ^{3.0}
95	10 ^{0.0}	200	10 ^{3.0}

*FOCUS

4 代継代 T-28 細胞に SV₄₀ を接種し上清中の SV₄₀ の力価を測定した。

4 代継代 T-28 細胞に 10^{7.0}TCID₅₀/0.2 ml の SV₄₀ を接種した。35 日頃より *focus* 状の変換細胞が出現し、細胞は上皮細胞様で屈光性が強くなった。増殖は 7 代まで良好であったが 10 代を過ぎると衰え、200 日で培養を中止した。

c. T-28SV 細胞の *cumulative growth* の検討

T-28 細胞および T-28 SV 細胞を同容積の培養ビンに培養し集積増殖を検討した (Fig. 7)。

d. 培養上清中の感染性 SV₄₀ の検索

上清中のウイルスは接種後 35 日までは 10^{6.0}TCID₅₀/0.2 ml, 60 日前後でも 10^{5.75}TCID₅₀/0.2 ml を示し、100 日を過ぎる頃より減少し 10^{4.0} ないし 10^{3.0}/0.2 ml の値を示した (Table 2)。

3. ヒト正常胎児由来の細胞 (HuE)

a. 無処理 HuE 細胞の培養

培養後 5~6 日で *full sheet* になり線維芽細胞様の細胞が規則正しい配列を示し、10 代までは増殖が良好であったが 11 代を過ぎると緩慢になり、13 代以後は急激に

増殖が悪化し培養開始後 218 日で培養不能になった (Fig. 3)。

b. SV₄₀ 処理 HuE 細胞 (HuESV) の培養

7 代継代 HuE 細胞に 10^{7.0}TCID₅₀/0.2 ml の SV₄₀ を接種した。50~60 日より *focus* 状の細胞増生集団が認められ、細胞の形態は上皮細胞様になり屈光性も良くなったが、培養液の酸性化および増殖は対照細胞も良好なので顕著な差をみなかった。12 代まで増殖は良好であったが以後悪化し *crisis* になった。それとほぼ時を同じくし感染性ウイルスの証明も困難になった (Fig. 4)。

Crisis から *recovery* 細胞が培養可能だったのは HuE 細胞のうち 1 系列のみで他はすべて培養不能になった。

c. 軟寒天内培養法によるコロニー形成の検討

5 代継代 HuESV 細胞 1.0×10⁴/plate を用い 30 日間観察したが細胞は萎縮して分裂像を示さずコロニーは形成されなかった。さらに 8 代継代 HuESV 細胞 10⁵~8.0×10⁴/plate を用いたがやはりコロニーの形成は観察されなかった。

d. SV₄₀ 処理による変換細胞の異種動物への移植性の検討

10 代継代 HuESV 細胞 4.0×10⁵/0.3 ml をハムスター頬嚢膜下へ移植し、*cortisone* で前処理したが移植性を証明することはできなかった。

e. HuESV 細胞の *cumulative growth* の検討

HuE 細胞および HuESV 細胞を同容積の培養ビンに培養し集積増殖を検討した (Fig. 8)。

f. 培養上清中の感染性 SV₄₀ の検索

SV₄₀ 接種後 15 日では 10^{5.25}TCID₅₀/0.2 ml であり、以後 113 日まで 10^{5.0}TCID₅₀/0.2 ml 前後であった。137 日には 10^{2.75}TCID₅₀/0.2 ml になり、181 日以後 260 日まで

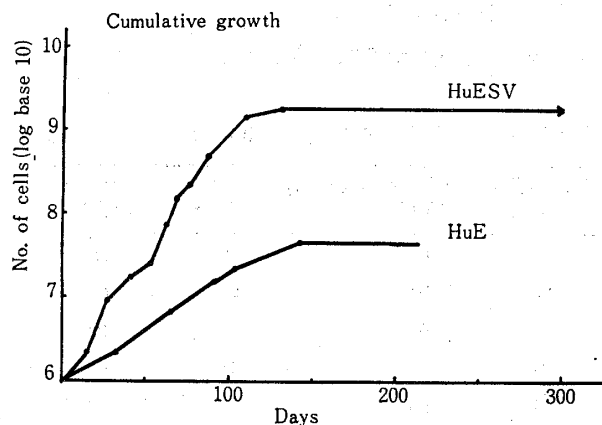


Fig. 8 HuESV 細胞の集積増殖曲線

HuESV 細胞の *Cumulative growth* を図示したもの、明らかに対照との間に差をみる。

Table 3. HuESV 細胞培養上清中のウイルス力価

days after exposure	virus titer (TCID ₅₀)	days after exposure	virus titer (TCID ₅₀)
15	10 ^{5.25}	137	10 ^{2.75}
53(+)*	10 ^{6.25}	181	10 ^{0.0}
83	10 ^{5.25}	222	10 ^{0.0}
113	10 ^{5.0}	260	10 ^{0.0}

*FOCUS

4代継代 HuE 細胞に SV₄₀ を接種し上清中の SV₄₀ の力価を測定した。

で 10⁰TCID₅₀/0.2 ml であった (Fig. 3)。

4. 子宮筋腫由来の細胞 (MU)

a. 無処理 MU 細胞の培養

培養開始後 4 日目で *full sheet* になった。形態は線維芽細胞様であるが、それ以外の形の細胞もみられた。最初の一カ月は順調に増殖したが、その後増殖が緩慢になり 93 日で培養不能になった。

b. SV₄₀ 処理 MU 細胞 (MUSV) の培養

4代継代 MU 細胞に 10^{7.0}TCID₅₀/0.2 ml の SV₄₀ を接種した。約 50 日で増殖が良好になり *focus* 状の変換細胞の出現をみた。接種後約 100 日継代 8 代を過ぎると、細胞の増殖が悪化し *crisis* になり約 160 日で培養を中止した。

c. 軟寒天内培養法によるコロニー形成の検討

7代継代 MUSV 細胞 10⁵~7×10⁴/plate および対照として 4代継代 MU 細胞 10⁵/plate を接種し、30 日間観察したがコロニーは形成されなかった。

d. MUSV 細胞の移植性の検討

8代継代 MUSV 細胞 8×10⁵/0.3 ml/cheek pouch を幼若ハムスターに移植し、*cortisone* で前処置したが移植性は認められなかった。

e. 培養上清中の感染性 SV₄₀ の検索

Table 4. MUSV 細胞培養上清中のウイルス力価

days after exposure	virus titer (TCID ₅₀)	days after exposure	virus titer (TCID ₅₀)
4	10 ^{5.5}	72	10 ^{4.3}
27	10 ^{5.25}	94	10 ^{3.0}
34	10 ^{3.5}	114	10 ^{3.0}
50	(+)*	130	10 ^{0.0}
59	10 ^{4.25}	161	10 ^{0.0}

*FOCUS

4代継代 MU 細胞に SV₄₀ を接種し上清の SV₄₀ の力価を測定した。

培養開始後 4 日で 10^{5.5}TCID₅₀/0.2 ml, 以後 114 日まで 10^{3.0}TCID₅₀/0.2 ml のウイルスを放出していたが、130 日以後は 10⁰TCID₅₀/0.2 ml になった (Table 4)。

5. ハムスター胎児由来の細胞 (HEF)

a. 無処理 HEF 細胞の培養

培養後 8 代までは線維芽細胞様細胞が活発な増殖をつづけ継代も容易であった。その後増殖が衰え 11 代、培養開始後 100 日で培養を中止した (Fig. 5)

b. SV₄₀ 処理 HEF 細胞の培養

初代 HEF 細胞に 10^{7.0}TCID₅₀/0.2 ml の SV₄₀ を接種した。接種後 80 日で増殖が良好になり、84 日目で 6 代継代細胞 3.2×10⁵/0.2 ml を生後 48 時間の新生ハムスターに前処置なしで注入し、48 日目に 8 匹中 5 匹に腫瘍の出現をみた。これを *in vitro* に移し T-I (SV₄₀ 変換 HEF 細胞) 細胞と名づけた。形態は線維芽細胞様、円形細胞など多形性に富み、増殖は良好であった。継代 17 代目の細胞をハムスターに接種し、6 日目に 2 匹中 2 匹に腫瘍の出現をみた。これを *in vitro* に移し T-II 細胞と名づけた (Fig. 6)。

1) T-II (SV₄₀ 変換 HEF 細胞) 細胞の移植性の検討

2代継代 T-II 細胞の 5.0×10⁵/0.2 ml をハムスターの皮下に前処置なしで接種した。10 日後 2 匹中 2 匹に腫瘍の出現をみた。

2) 軟寒天内培養法によるコロニー形成の検討

2代継代 T-II 細胞 5.0×10⁵/plate を用い軟寒天内で培養し、3 週後に増殖性細胞のコロニーを認めた。

考 案

ヒト細胞では SV₄₀ 変換悪性リンパ腫由来の細胞 (M63 SV)^{17,18)}, SV₄₀ 変換急性骨髄性白血病のリンパ節由来の細胞 (T-28 SV)¹⁸⁾, SV₄₀ 変換胎児線維芽細胞 (HuESV)¹⁸⁾ および SV₄₀ 変換子宮筋腫由来の細胞 (MUSV)^{18,19)} は、それぞれ 4, 5, 6, 7, 週頃より細胞が増殖し *focus* 状をした変換細胞が出現し、屈光性が増加し形も上皮細胞様となった。*focus* の周囲には線維芽細胞様の細胞が存在し、日が経つにつれ培養ビンの表面から肉眼でも観察できるようになった。

培養液の酸性化は激しく代謝の旺盛なことを示した。

Todaro ら^{4,5)}は形態変換現象を定量的に示しヒト由来の線維芽細胞系は SV₄₀ による形態変換の出現の感受性が各々の細胞によってかなり違い¹⁰⁾, 特に Fanconi anemia, Down's Syndrome の患者に由来する細胞や、癌多発系の家族由来の細胞は形態変換に対する感受性が高いと報告している¹¹⁾。 *in vitro* での SV₄₀ による細胞

変換現象を追求するには培養液および血清, SV₄₀ ウイルスの力価および株, 接種させる細胞の選択, 細胞の継代数および継代する速度などの条件が複雑にからみ合い, その上に実験技術の因子が加味されるので, Todaro らの報告と本実験結果を直接相関させることはできないが, ヒト由来の種々の線維芽細胞およびハムスター線維芽細胞を用いた本実験で, 変換細胞からなる *focus* は M 63 SV 細胞で早く, MUSV, HuESV および HEFSV 細胞では比較的遅れて出現した。

本実験で用いた SV₄₀ 変換ヒト細胞の培養上清中には全例感染性 SV₄₀ の産生を認めた。増生が活発な時期には $10^{5.0} \sim 10^{6.0}$ TCID₅₀/0.2 ml の産生をみるが, 増生が衰えると産生量も $10^0 \sim 10^{3.0}$ TCID₅₀/0.2 ml と減少した。

Crisis から *recovery* 細胞が培養可能だったのは, HuESV 細胞のうち 1 系列のみで他はすべて培養不能になった。

Crisis に陥った HuESV 細胞の上清には感染性 SV₄₀ の産生は認めなかった。

ハムスター由来の細胞に SV₄₀ を接種しても, 培養上清には感染性 SV₄₀ を産生しない²⁰⁾。

Rabson ら²¹⁾はヒト甲状腺組織由来の細胞を用い, 上清中に $10^{6.8} \sim 10^{7.1}$ TCID₅₀/0.2 ml の SV₄₀ を 4 カ月間認めている。Shein および Enders²²⁾ は変換ヒト胎児細胞上清中にウイルスを観察している。Koprowski および Pontén ら²³⁾ は Down's syndrome などの患者由来の SV₄₀ 変換細胞上清中に, ウイルスを 49 週以上認めている。

その他 Petursson ら²⁴⁾, Noordaa および, Khoury²⁵⁾ による報告もあるが, 本実験で用いたヒト細胞とウイルスの産生量および産生していた期間などについては大差ないようである。

SV₄₀ 変換ヒト細胞を継代してゆくとやがて *Crisis* に陥る。本実験では M 63 SV 細胞では 15 代約 800 日で, T-28 SV 細胞では 10 代約 200 日で, MUSV 細胞では 8 代 160 日で *Crisis* になった。

in vitro で無処置細胞の長期継代培養の困難なことから, ヒト変換細胞で *Crisis* の出現により長期継代が困難になることは, 後者ではウイルスが細胞の増殖に関与しているので本質的に異なると思われる。

Shein ら¹⁴⁾は SV₄₀ 変換ヒト腎細胞を用いて, Moyer ら¹⁵⁾は SV₄₀ 変換ヒト肺細胞を用いて, 一定期間で *Crisis* になることを報告し, Girardi ら²⁶⁾は SV₄₀ 変換ヒト胎児細胞を用いて実験を行ない, やはり *Crisis* が出現するが, 一たび *recovery* になった細胞の上清には SV₄₀ は存在しないとしている。

本実験でも *Crisis* の出現と, 上清中のウイルス産生との間には同様の関係が得られた。

SV₄₀ 変換細胞の移植性はヒト細胞ではいずれの細胞の場合も細胞数を増加させても, コーチゾンで前処置しても異種動物への移植性は認められなかった。軟寒天内培養法でも分裂する細胞のコロニーは生じなかった¹⁸⁾²⁷⁾。

Ashkenazi ら⁹⁾, Noordaa ら²⁵⁾もヒト肝細胞を用いて *cheek pouch* (ハムスター頬嚢膜下) への移植は不能であると報じている。

Rabson ら²¹⁾はヒト甲状腺細胞では *cheek pouch* への移植は不可だったが, 脳内接種により *papillary ependymoma* はできたと報告している。Moyer ら¹⁵⁾は 2 週間で *regression* した例を記している。

ハムスター細胞では $10^{5.0}$ /0.2 ml の細胞数で容易に同種動物に移植可能であり, 軟寒天内培養法でも増殖可能なコロニーを採ることができた。種々の文献⁶⁾⁸⁾²⁹⁾³⁴⁾でも同様な結果が得られた。

ヒト由来の SV₄₀ 変換細胞は感染性 SV₄₀ をある限られた期間産生し, ハムスターへの移植は不可能である。

一方ハムスター由来の変換細胞の同種動物への移植は容易である。しかし上清中には SV₄₀ を認めないが, GMK 細胞との *contact culture* ないし重ね培養法を行なうと SV₄₀ が認められる系³⁰⁾³¹⁾³²⁾³³⁾と認められない系⁷⁾³⁴⁾があるとの報告もある。Mitomycin C で処理すると SV₄₀ を認める³⁵⁾という報告もなされているが, 本実験ではいずれも陰性であり, 感染性ウイルスの出現を認めなかった。

なお SV₄₀ 変換ヒト細胞の長期継代養育の問題は現在も実験を継続中であり, 近く別に報告する予定である。

本論文に記載された実験は文部省科学研究費の援助を受けて行なわれたものである。なお実験成績の一部は第17回日本ウイルス学会総会において発表された。

稿を終るにあたり, 御批判と御鞭撻を賜った, 恩師桑田次男教授に深く感謝いたします。GMK 細胞を分与された千葉県血清研究所, また材料その他で助力して下さった関谷宗英博士, 高山直秀学士に感謝します。

SUMMARY

1. Cell cultures derived from various human tissues (M 63, T-28, HuE and MU cultures) and cell cultures from hamster embryo (HEF, T-I

and T-II cultures) were morphologically transformed by infection of SV 40 virus *in vitro*.

They were characterized by an accelerated growth rate and foci formation of transformed cells.

2. SV 40-infected human cell strains produced infectious virus continuously during *in vitro* lifetime.

In contrast to human cells, SV 40-transformed hamster cells did not produce infectious virus as reported by other investigators.

3. To test the malignancy of SV 40-transformed hamster and human cells, colony formation in soft agar medium and transplantability to hamster cheek pouch were examined.

SV 40-transformed hamster cells form colonies in soft agar medium, but SV 40-transformed human cells do not.

SV 40-transformed human cells are unable to be transplanted to young hamsters in spite of conditioning with cortisone acetate or increasing cell numbers.

4. SV 40-transformed human cells could be subcultivated for a limited lifetime *in vitro* and they entered "crisis" in contrast to SV 40-transformed hamster cell which could be subcultivated for unlimited lifetime *in vitro*.

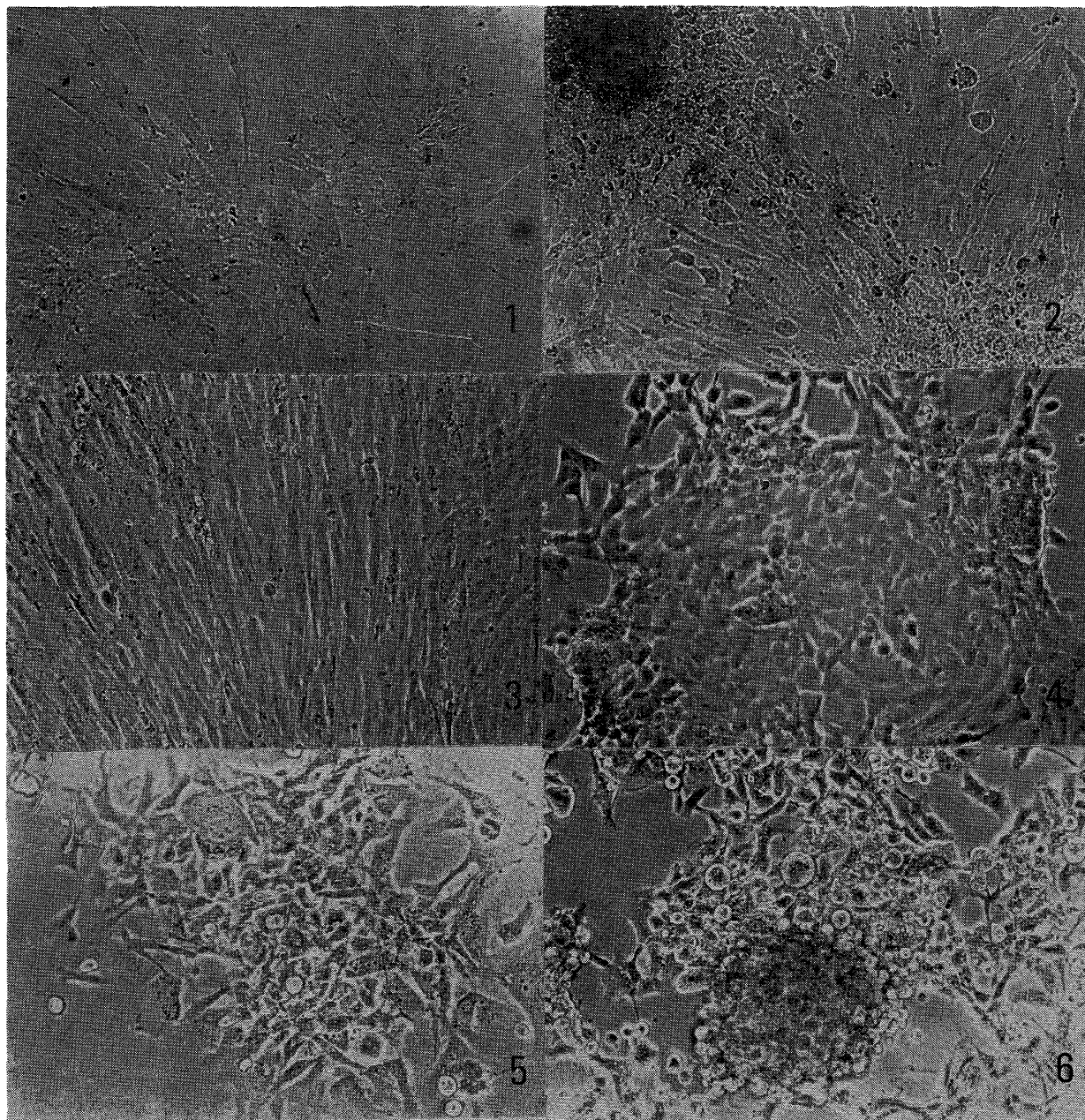
However one strain of SV 40-transformed human embryo cells could be recovered from "crisis" and subcultivated for a long time.

In addition, infectious virus could not be detected in culture fluid of these human embryo cells.

参 考 文 献

- 1) Sweet, B. H. and Hilleman, M. R.: The vacuolating virus, SV 40., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 105, 420-427, 1960.
- 2) Eddy, B. E., Borman, G. S., Grubbs, G. E. and Young, R. D.: Identification of the oncogenic substance in rhesus monkey kidney cell cultures as simian virus 40., Virology, 17, 65-75, 1962.
- 3) Girardi, A. J., Sweet, B. H., Slotnick, V. B. and Hilleman, M. R.: Development of tumors in hamsters inoculated in the neonatal period with vacuolating virus SV 40., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 109, 649-660, 1962.
- 4) Todaro, G. J. and Green, H.: An assay for cellular transformation by SV 40., Virology, 23, 117-119, 1964.
- 5) Todaro, G. J. and Green, H.: Cell growth and the initiation of transformation by SV 40., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 55, 302-308, 1966.
- 6) Ashkenazi, A. and Melnick, J. L.: Tumorigenicity of simian papovavirus SV 40 and of virus-transformed cells., J. Nat. Cancer Inst., 30, 1227-1265, 1963.
- 7) Melnick, J. L., Khera, K. S. and Rapp, F.: Papovavirus SV 40: Failure to isolate infectious virus from transformed hamster cells synthesizing SV40-induced antigens., Virology, 23, 430-432, 1964.
- 8) Diamondopoulos, G. Th. and Enders, J. F.: Studies on transformation of syrian hamster cells by simian virus 40 (SV 40): Acquisition of oncogenicity by virus-exposed cells apparently unassociated with the viral genome., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 54, 1092-1099, 1965.
- 9) Schell, K.: Persistence of SV40 virus in transformed rabbit kidney cells., proc. Soc. Exp. Biol. Med., 128, 1145-1148, 1968.
- 10) Aaronson, S. A. and Todaro, G. J.: SV40 T-antigen induction and transformation in human fibroblast cell strain., Virology, 36, 254-261, 1968.
- 11) Todaro, G. J.: Variable susceptibility of human cell strains to SV40 transformation., Nat. Cancer Inst. Monograph. 29, 271-275, 1968.
- 12) Todaro, G. J. and Martin, G. M.: Increased Susceptibility of Down's syndrome fibroblasts to transformation by SV40., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 124, 1232-1237, 1967.
- 13) Sekiya, S.: Transformation of human cells by virus and chemical carcinogen *in vitro*. Cancer, *in press*.
- 14) Shein, H. M., Enders, J. F., Palmer, L. and Grogan, E.: Further studies on SV40-induced transformation in human renal cell cultures. I. Eventual failure of subcultivation despite a

- continuing high rate of cell division., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 115, 618-621, 1964.
- 15) Moyer, A. W., Wallace, R. and Cox, H. R.: Limited growth period of human lung cell lines transformed by simian virus 40., J. Nat. Cancer Inst., 33, 227-233, 1964.
- 16) Foley, G. E. and Handler, A. H.: Differentiation of "normal" and neoplastic cells maintained in tissue culture by implantation into normal hamsters., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 94, 661-664, 1957.
- 17) 桑田次男, 関谷宗英, 塩沢博, 崎山比早子: ヒト及びサル細胞のウイルスによる変換現象, 第27回日本癌学会総会記事, 東京: 107, 1968.
- 18) 塩沢博, 関谷宗英, 桑田次男: ヒト及びハムスターの細胞の SV 40 による *in vitro* の変換現象, 第17回日本ウイルス学会総会, 演説抄録, 札幌: 1-47, 1969.
- 19) 関谷宗英, 桑田次男, 塩沢博: ヒト細胞のウイルスによる *in vitro* の変換現象 (第2報)。第28回日本癌学会記事, 金沢: 101, 1969.
- 20) 関谷宗英, 塩沢博, 桑田次男: 腫瘍ウイルスと化学発癌剤との共同作用。第18回日本ウイルス学会総会, 演説抄録, 東京: 1-33, 1970.
- 21) Rabson, A. S., Malmgren, R. A., O'conor, G. T. and Kirschstein, R. L.: Simian vacuolating virus (SV 40) infection in cell cultures derived from adult human thyroid tissue., J. Nat. Cancer Inst., 29, 1123-1145, 1962.
- 22) Shein, H. M. and Enders, J. F.: Multiplication and cytopathogenicity of simian vacuolating virus 40 in cultures of human tissues., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 109, 495-500, 1962.
- 23) Koprowski, H., Pontén, J. A., Jensen, F., Ravdin, R. G., Moorhead, P. and Saksela, E.: Transformation of cultures of human tissue infected with simian virus 40., J. Cell. Comp. Physiol., 59, 280-292, 1962.
- 24) Petursson, G., Fogh, J., Harven, E. D. and Armstrong, D.: Rapid cytopathic changes and transformation in hamster foreskin cell cultures infected with simian virus 40., Virology, 28, 303-317, 1966.
- 25) Noordaa, J. V. and Khoury, G.: Morphological transformation of human embryonic liver cells by simian virus 40, J. Gen. Virol., 3, 275-278, 1968.
- 26) Girardi, A. J., Jensen, F. C. and Koprowski, H.: SV40-induced transformation of human diploid cells: crisis and recovery., J. Cell. Comp. Physiol., 65, 69-83, 1965.
- 27) 関谷宗英, 塩沢博, 桑田次男: ヒト細胞のウイルスによる *in vitro* の変換現象, 第29回日本癌学会総会記事, 大阪: 85, 1970.
- 28) Black, P. H. and Rowe, W. P.: Transformation in hamster kidney monolayers by vacuolating virus, SV40., Virology, 19, 107-109, 1966.
- 29) Gerber, P.: Tumor induced in hamsters by simian virus 40: Persistent subviral infection., Science, 140, 889-890, 1963.
- 30) Burns, W. H. and Black, P. H.: Analysis of simian virus 40-induced transformation of hamster kidney tissue *in vitro*., J. Virol., 2, 606-609, 1968.
- 31) Gerber, P.: Studies on the transfer of subviral infectivity from SV40-induced hamster tumor cell to indicator cells., Virology, 28, 501-509, 1966.
- 32) Gerber, P. and Kirschstein, R. L.: SV40-induced ependymomas in newborn hamsters I. Virus-tumor relationships., Virology, 18, 582-588, 1962.
- 33) Black, P. H. and Rowe, W. P.: An analysis of SV40-induced transformation of hamster kidney tissue *in vitro*. I. General characteristics., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 50, 606-613, 1963.
- 34) Black, P. H.: An analysis of SV40-induced transformation of hamster kidney tissue *in vitro* III. Persistence of SV40 viral genome in clones of transformed hamster cells., J. Nat. Cancer Inst., 37, 487-493, 1966.
- 35) Gerber, P.: Virogenic hamster tumor cells: Induction of synthesis., Science, 145, 833, 1964.



写 真 説 明

- Fig. 1 M63 細胞初代。位相差 100×, 培養開始後 37 日目。
- Fig. 2 M63SV 細胞。位相差 100×, 4 代継代 M 63 細胞に SV₄₀ を接種し更に 8 代継代を行なった。
- Fig. 3 HuE 細胞。位相差 100× 継代 2 代 HuE 細胞, 線維芽細胞様の細胞が規則正しく並ぶ, 増生は良好。
- Fig. 4 HuESV 細胞。位相差 100×, 継代 10 代 HuESV 細胞, 細胞はやや丸味を帯び上皮細胞様になり配列の乱れがみられる。
- Fig. 5 HEF 細胞。位相差 100×, 継代 2 代目。
- Fig. 6 T-II 細胞。位相差 100×, 4 代継代 T-II 細胞, 線維芽細胞様細胞, 円形の細胞がみられ *pile up* している。