

ウイルス学部門

Department of Virology

ある種のがんを含めた各種のウイルス感染の、感染細胞レベルでの多様性を統一的に理解する概念を模索している。そのために、ウイルスと細胞の相互作用を、細胞の増殖、分化、生存との関係において、またウイルスの生き残り戦略として、把握する立場に立って研究を行った。

ウイルスが細胞に感染すると、ウイルス遺伝子が次々に発現し、細胞内でウイルスの増殖がおこる。感染を受けた細胞では、細胞死、細胞増殖の促進、細胞のがん化、細胞の構造、機能、抗原性などの変化がおこる。その際、ウイルス遺伝子の発現の様式や感染細胞の運命は、ウイルスの種類と細胞の種類（動物種、細胞種など）の組み合わせによって、また同一動物種の同一細胞種であっても、細胞の増殖状態や分化の違いなどによって、異なってくる。

サル¹のSV40、ヒトのアデノウイルスなどのDNA型がんウイルスやヒトのHTLV-I、HIVなどのレトロウイルスはわずかに数個~数十個の遺伝子を持つ小さなウイルスである。これらのがんウイルスや細胞傷害性ウイルスと細胞の相互作用を、特に細胞の増殖、分化、生存との関連において研究した。がんウイルスとしてはSV40、アデノウイルス及びHTLV-Iを、細胞傷害性ウイルスとしてはHIVを、細胞の増殖のモデル系としてはラット線維芽細胞のクローンである3Y1細胞を、分化細胞としてはヒトの各種T細胞株を、それぞれ用いた。研究はいくつかの副主題に分けて行った：A) 細胞増殖と細胞生存：細胞外環境による制御、B) 細胞増殖と細胞生存：制御の細胞内のしくみ、C) DNA型がんウイルスによる細胞増殖の修飾、D) ヒトのレトロウイルスによるT細胞の増殖と機能の修飾、E) 細胞培養の応用。ここでは、1987-1988年に得られた成果を、印刷公表されたもの（一部投稿中のもの）について記す。

1987-1988年は、次に記入する13名のメンバーで研究を行った。特に、ヒトレトロウイルスの研究（古賀泰裕助手他担当）は、1988年度より開始した新しいプロジェクトである。木村元喜（教授）、奥田篤行（助教授）、志村英生（助手、1988. 3. 31退職、現九大1外）、高岸（旧姓木村）朱実（助手、1987. 3. 31. 退職）、小嶋利香（助手、1987. 4. 1. より、1988. 1. 18. 退職）、古賀泰裕（助手、1988. 4. 1. 生医研免疫学部門より）、田中宏明（大学院生、1988. 3. 修了、現九大2内）、松崎彰信（大学院生）、梅野美一（大学院生）、壁村まゆみ（大学院生）、佐々木正文（技官）、大津真澄（技官）、谷真由美（研究補助員、1988. 2. 4. より）。

A. 細胞増殖と細胞生存：細胞外環境による制御

A. a. 細胞外栄養環境による培養動物細胞の増殖制御：アミノ酸欠損に対する正常細胞と各種がん細胞の応答性（田中、財津裕一、木村）

動物細胞の増殖が細胞をとりかこむ環境、とくに細胞成長因子、増殖阻害因子、間質、細胞間相互

作用などとの応答によって調節されることについては、よく研究されている。しかし、低分子の栄養物質の有無や濃度変化に対する応答についてはほとんど研究されていない。そこで培地中のアミノ酸の内一種のみを単独除去し、正常細胞3Y1及び同系のがん化細胞の増殖態度及び生存能を比較した。3Y1細胞はL-シスチン以外のアミノ酸の単独欠損培地で可逆的にG1期で増殖を停止して生存した。がん化細胞ではG1期に完全停止する株はなく、生存能を失う場合が多かった。がん化細胞の増殖能、生存能は各々のがん化因子毎にそれぞれ異なっていたが、同一のがん化因子由来の独立した3株間では共通であった。即ちアミノ酸単独欠損培地ではG1期に停止して生存能を保つ3Y1の性質が、種々の転換因子によって特徴的な修飾を受けることが示された。更に、アミノ酸除去に対する応答性の差により転換因子の鑑別が可能であることが示唆された（東大・農・小野寺一清助教授との共同研究）。

A. b. 細胞成長因子によるS期開始の誘導の変異細胞を用いた解析（財津、木村）

3Y1細胞の温度感受性変異株である3Y1tsF121細胞は、非許容温度にて主にG1期DNA含量をもって増殖を停止する。高温で増殖を停止した細胞に血清を加えるとS期進入が誘導される。そこで既存の細胞成長因子であるPDGF、EGF、FGFがこの血清の機能を代償するのかを調べた。得られた結果より、①3者はそれぞれ単独で血清の機能を代償するが、完全ではなく部分的である。②PDGFとEGFの間では相加作用がみられるが、S期誘導の程度は、それぞれの単独投与の和よりも小さく、この2者には独自の作用点他に共通の作用点があることが示唆される。③EGFとFGF、PDGFとFGFの間では、相加作用はみられなかった。④3つの成長因子がその活性を発現するには、微量の血清因子が必要であった。この因子自身にはS期誘導能はなく、耐熱性の高分子であることが示唆された。この因子の分離により新たな細胞成長因子が明らかになる可能性がある。

B. 細胞増殖と細胞生存：制御の細胞内のしくみ

B. a. 全細胞周期にわたるS期開始の制御：カフェイン感受性による解析（奥田、木村）

細胞増殖の調節は主としてS期の開始を制御することによって行われる。この制御は一般に信じられているようにG1期のみで行なわれるのではなく、分裂前のS、G2期でも同様に行なわれているというモデルを提唱してきた。カフェインをS期のはじめに同調した3Y1細胞に投与するとS、G2期はほぼ正常に進行したが、分裂後カフェインを除くと、S、G2期の長さにはほぼ匹敵する時間だけS期への移行が遅れた。G1期の細胞にカフェインを一時的に加えるとその時間だけS期への移行が遅れた。これらの結果は上記の我々のモデルを支持する。S期の開始に関係したどのような反応が細胞周期に無関係に連続的に起こっており、カフェインはその内の何を阻害しているかを今後明らかにする必要がある。

B. b. 細胞増殖誘導と fos 遺伝子発現誘導との関係（奥田、松崎、木村）

飽和細胞密度で増殖停止した静止線維芽細胞に細胞成長因子を加えるとc-fos遺伝子の一過性の発現が起きることから、これはG0期からG1期への移行に伴う特異的な反応であると考えられてきた。と

ころが以下の結果はこうした考え方を変える必要があることを示す。静止3Y1細胞に血清刺激を加えc-fosメッセージの発現が上昇して再びもとの測定限界以下のレベルに戻った時、(1)血清を抜いて培養し再び血清刺激を加える、(2)シクロヘキシミドを加える、のいずれかの処理をすればいずれの場合も再びc-fosメッセージが一過性に発現した。(1)(2)いずれの場合も細胞は静止状態よりはるかにS期に近づいていることがその後のS期進入の時間経過から分かった。c-fosの低レベルでの持続的発現がS期進入に必要であり、一過性の発現上昇は培養条件の変化によるc-fos遺伝子の発現調節の攪乱によることが示唆される。

B. c. 細胞発熱量の測定 (奥田、木村)

細胞の生理的状態を示す一つのパラメーターとして細胞が産生する熱に注目し、その測定条件の設定を試みた。3Y1細胞をトリプシン-EDTAで分散し、培地中に浮遊させてフロー型の熱量計で測定した。この時発熱量を変える要因として培養液中の残存トリプシン、アルブミン、O₂量が考えられた。単層培養の細胞でも、浮遊状態にしてその発熱量を測定すれば、その時の細胞の生理的状態に関する情報が得られることが分かった。

B. d. 分裂中期阻害による4倍体細胞の形成 (奥田、木村)

2倍体の3Y1細胞をコルセミド存在下で分裂中期に停止させておくと、その濃度(40ng/ml)と停止時間(8時間)を選ぶと非常に高頻度に(80%以上)4倍体の細胞に変わった。分裂中期に停止させたまま細胞をまき直すとディッシュ面への接着に6時間(通常は1時間以内)もかかった。6時間以内に接着した細胞では核構造が形成されているのに対し、接着していない細胞は分裂中期の染色体がそのまま保存されておりコルセミドを抜くと分裂を開始した。したがって、分裂中期で染色体の分離が起きずに核構造が形成された細胞は非可逆的に4倍体になり同時に細胞接着能が回復していることが分かった。

B. e. S期開始の誘導に際して働く細胞膜の機能の変異細胞を用いた解析 (壁村、梅野、志村、松崎、大津、木村)

細胞増殖制御機構における膜を介したシグナル伝導系の役割を3Y1細胞由来の温度感受性変異株(ts株)を用いて解析した。用いた4つのts株は全て非許容温度で増殖を停止する。これら増殖を停止した細胞に種々の細胞成長因子を加えS期が開始されるか否かを観察した。3Y1tsD123株は、コレラ毒素、FGFの投与で、3Y1tsF121株は血清、PDGF、EGF、FGFで、3Y1tsG125株はコレラ毒素、FGFで、S期が誘導された。3Y1tsH203株は、調べた全ての因子に反応しなかった。また3Y1tsD123株、3Y1tsG125株におけるコレラ毒素によるS期誘導は百日咳毒素で完全に阻害された。これらの結果は、ts株における機能欠損がトランスメンブレンコントロールに関連していることを示しており、さらに詳細な解析によりシグナル伝達系の細胞増殖機構における位置づけがなされると期待される。

C. DNA型がんウイルスによる細胞増殖の修飾

C. a. G1期進行のアデノウイルスE1A遺伝子及びSV40T抗原による修飾

(松崎、大野耕策、大津、木村)

3Y1細胞由来の温度感受性変異株4株は、非許容温度にて主にG1期DNA含量をもって増殖を停止する。これらts株をアデノウイルス12型(Ad12)、及びその初期遺伝子のひとつであるE1A遺伝子、またスモールt抗原を欠損するSV40の変異株(dl-884株)で形質転換し、各ウイルス遺伝子機能がts変異による増殖阻害に与える効果を検討した。E1A遺伝子の導入により4株全てで非許容温度でのS期進入阻害は解除された。しかしS期進入後、3Y1tsH203株では正常に増殖するものの、他の3株(3Y1tsD123、3Y1tsF121、3Y1tsG125)ではS期進入に引き続き細胞死が観察された。Ad12によって形質転換すると3Y1tsF121、3Y1tsG125も非許容温度で増殖可能となったが、3Y1tsD123細胞では細胞死が観察された。dl-884株による形質転換細胞はAd12によるものと全く同じ増殖挙動を示した。これらの結果は、Ad12の遺伝子機能とSV40の遺伝子機能が細胞の増殖制御機構に対して非常に類似した機序で作用し、ts変異による増殖阻害を克服することを示している。またAd12の場合、個々のウイルス遺伝子が細胞の増殖制御機構の異なった部位に作用することが示唆される。(東大・医科研・白木和子との共同研究)

C. b. 蛋白合成阻害によるG1期進行阻害のSV40ラージT抗原による克服(奥田、木村)

3Y1細胞のG1、S、G2期の進行には、シクロヘキシミドで蛋白合成を約40%に低下させると2倍以上の時間がかかるようになった。SV40を感染させラージT抗原を発現させておくと、シクロヘキシミドによるS、G2期の進行の遅れには変化がなかったが、G1期の延長は小さくなった。シクロヘキシミドによる蛋白合成阻害はラージT抗原により克服されなかった。したがって、細胞成長因子によるS期進入機構と、SV40ラージT抗原による機構とは異なったものであり、後者は種々の増殖阻害に対し抵抗性であると考えられる。両者の違いをさらに調べるにより細胞がん化の機構の一つが解明される可能性がある。

C. c. G2期進行のSV40による修飾(財津、木村)

3Y1細胞の温度感受性変異株3Y1tsF121株は、非許容温度でG2期にて可逆的に増殖を停止する。非許容温度におけるG2期停止は、新鮮血清の投与により解除され細胞は分裂する。ところが細胞を非許容温度に36時間以上置くと、血清に無反応となりさらに許容温度に戻してもその停止は非可逆性となる。G2期停止細胞にSV40を感染させると、血清刺激と同様にM期が誘導された。この誘導は36時間以上非許容温度においた細胞にも観察された。これらの結果は、1) ts変異によるG2期進行に関係する機能障害をSV40の機能が代償もしくは活性化すること、2) SV40は非可逆的となったG2期停止をも回復させることを示している。またSV40によるこの作用はラージT抗原の機能であることも示された。DNA型ウイルスの発がん遺伝子が、G1期の進行、S期の開始と進行のみならずG2期の進行

(即ち細胞の全周期の進行) に関しても、増殖促進的に作用する点は注目すべきである。

C. d. がん細胞形質のウイルス及びがん遺伝子特異性

(財津、田中、光富徹哉、松崎、大津、木村)

ラット3Y1細胞は多くの発癌因子により容易にがん化する。同じ親株に由来する細胞の性質の差は、その原因となる発癌因子の機能の差を直接反映すると考えられ、その性状を解析することは癌の個性を研究するために有用である。そこで3Y1細胞を、SV40、アデノウイルス12型(Ad12)、Ad12のE1A遺伝子、マウスポリオーマウイルス、ラウス肉腫ウイルス、v-H-ras遺伝子、ニトロソグアニジン(NG)によりトランスフォームし、その性質を調べた。その結果、NGを除く発癌因子によるトランスフォーム細胞は、発癌因子毎に特徴的な性質を示し、発癌因子間で鑑別が互いに容易であった。NGによるトランスフォーム細胞は一定の傾向を示さなかった。全株に共通な性質は、親株に比べ高い飽和密度に達しうる点であった。これら3Y1細胞由来のトランスフォーム細胞のセットは、癌の多様性(及び共通性)を調べるためのモデル系として有用と考えられる。

C. e. アデノウイルスがん化細胞のジアシルグリセロールによる選択的破壊

(松崎、志村、大津、木村)

リノール酸をアシル基とするジアシルグリセロール(DLG)の投与により、種々の発癌因子によるがん化細胞のうちアデノウイルス12型(Ad12)によるがん化細胞のみが選択的に破壊された。DLGに対する高感受性は、ウイルス遺伝子の内E1A遺伝子の機能によることが示された。更にこの機能は、E1Aより産生される2つの蛋白(12S mRNA産物、13S mRNA産物)に共通する機能であることが示唆された。E1A遺伝子によるがん化細胞E1A-3Y1細胞におけるDLGの毒性は、非特異的抗酸化剤であるビタミンE等で阻害され、またE1A-3Y1細胞においてDLG投与後過酸化脂質の有意の増量が観察された。これらの結果は投与されたDLGの過酸化が毒性の原因であることを示唆している。電子顕微鏡による観察により、DLG投与後E1A-3Y1細胞の細胞膜に直径0.2マイクロメートルの小孔が生じることが示された。Ad12がん化細胞をモデルとしたDLGの選択毒性の解析は、膜を標的とした新しい抗癌剤の開発へと進むと考えられる。(小野寺一清、東大、農、白木和子、東大、医科研、藤永薫、札医大、癌研との共同研究)

D. ヒトのレトロウイルスによるT細胞の増殖と機能の修飾

D. a. 成人T細胞白血病(ATL)発癌におけるチロシンキナーゼ遺伝子の役割

(古賀、大堀展平、木村)

ヒトT細胞が成人T細胞白血病(ATL)の原因ウイルスであるHTLV-Iに感染しウイルスゲノムを組み込まれると、ウイルス由来遺伝子産物であるp40*により感染T細胞表面にはIL-2レセプターが多量に発現誘導される。IL-2レセプターを発現した感染T細胞は増殖に関して有利な状態となる

がこの状態では細胞はまだ増殖に関してIL-2依存性であり完全な癌としての特徴は有していない。細胞を癌へと方向づけるさらに何らかの変化が生じて感染T細胞は最終的に癌化して白血病となりこの時点で大部分のATL細胞は増殖に関してIL-2非依存性となる。HTLV-I感染T細胞はどのような機序によりIL-2依存性の段階からIL-2非依存性の段階へと変化するのか、分子レベルにおいてもどのような遺伝子の発現調節がその変化に関わっているのかを解明するのがATL発症機構解明の上で重要と思われる。

lckはリンパ球に特異的に発現するチロシナーゼ遺伝子として1985年から1986年にかけてその遺伝子構造が明らかにされた。ヒトにおいてlckは胸腺細胞、末梢血Tリンパ球、およびHTLV-Iを組み込んでいないT細胞株においてその発現が例外なく認められる。我々はこのlckの発現をHTLV-Iを組み込んだATL由来細胞12種類についてノーザン法、その他を用いて調べたところ9種類において遺伝子発現は転写段階で消失しており、それらの細胞株は増殖に関してIL-2の存在を必要としないIL-2非依存性株であった。また遺伝子発現が認められた細胞株3種類はすべて増殖のためにIL-2を必要とするIL-2依存性株であった。すなわちHTLV-I感染細胞株における癌化の重要な1段階であるIL-2依存性状態よりIL-2非依存性状態への転換において、lck遺伝子の発現も同調して消失することが示された。またIL-2により増殖している細胞のみに発現されることはlckがIL-2レセプターのシグナル伝達装置としてIL-2レセプターに加えられた刺激をさらに細胞内に伝達する役割を有している可能性も考えられる。しかし一方ではlck遺伝子産物はCD4分子と物理的に結合して存在することが1988年に発表されておりlckのT細胞活性化における役割は我々のアイデアと異なるようにも見える。

我々はこのlckのATL発癌における役割およびT細胞においての本来の機能を解明するために、①lck発現陰性T細胞(IL-2非依存性ATL由来T細胞株)へのlck遺伝子の導入、②抗lck遺伝子産物抗体の作製、③ATL由来T細胞株においてlckの転写を抑制しているファクターの分離同定、を現在進めている。

D. b. HIV感染による細胞死の機序(古賀、佐々木、河村伊久雄、木村)

エイズ(AIDS)の病態の基本はエイズウイルス(HIV)がCD4⁺ヘルパーT細胞に感染しそれらを死滅させることであろう。HIV感染によりヘルパーT細胞数が激減した生体は免疫不全に陥り感染症により死に至る場合が多い。現在エイズの研究は広く行なわれ飛躍的な発展をとげているが、HIVが感染するとなぜヒトT細胞は死滅するのかというエイズの病態を考える上での基本的命題については不明の点が多い。HIV感染による細胞死の機序についてはこれまで多くの研究がなされ諸説が出されているが、最も考えやすい機序である、多数のウイルス粒子の細胞からの出芽による細胞膜損傷はHIVを含めた一般のレトロウイルスにはあてはまらない。これまでの有力な説明のひとつとして、HIVのenvタンパクが感染細胞でCD4分子と複合体を形成して蓄積し細胞を傷害する機序が提唱されている。この場合細胞傷害を決める細胞側要因はCD4抗原量の多少と考えられており、たとえばCD4抗原量の

少ないマクロファージ系細胞はHIVに感染しても死に至ることは少ないことが知られている。ヒトマクロファージ株、U937はCD4抗原を有しているがその抗原量の多少に従っていくつかのサブクローンが得られている。我々はHIVのenv遺伝子をヒトメタロチオネインプロモーターにつなぎそれを種々のU937亜株に導入しG418を用いてenv組み込み細胞株を分離しクローン化した。こうして得た細胞クローンのうちCD4抗原量の多いU937-2亜株を用いて作製した細胞株は亜鉛イオンなどでenv遺伝子を発現させると数日以内で大部分の細胞が死滅する。しかしCD4抗原量の少ないU937-P亜株よりの細胞株ではenv遺伝子を発現させても殆どが死滅せず増殖を続けることが観察された。前者のenv遺伝子発現により死に到る細胞株では電顕による観察等により、env-CD4複合体が細胞内に多数の凝集塊を形成していることが認められた。またCD4分子についてはenv遺伝子発現後、転写およびタンパク生成までは変化はないが細胞内でenvタンパクと複合体を形成するため細胞表面に発現しなくなることが示された。

我々は現在、このenvコンストラクトをCD4⁺ Jurkat T細胞およびCD4⁻ Jurkat T細胞株に導入しenvを発現させることによりこれまでマクロファージ株U937で得られたのと同様な結果が出るのか、すなわち細胞内でenvがCD4分子と結合し複合体を形成することが直接の細胞傷害につながるのか、およびどの細胞内小器官のどのような機序に傷害を与えるかについて検討を進めている。引き続きHTLV-Iについてもそのenv遺伝子を同様のコンストラクトを用いて細胞内に導入しその細胞機能に及ぼす影響について実験を進める予定である。

E. 細胞培養の応用

E. a. 肺癌組織浸潤リンパ球由来LAK細胞の特徴（木村）

癌の養子免疫療法を行うための基礎研究の一環として以下の研究を行なった。tumor infiltrating lymphocytes (TIL) は、in vitroでIL-2とともに培養することにより、活性化され増殖すると同時に、自己腫瘍細胞に対する特異的なキラー活性が誘導されると期待される。そこで、我々は、原発性肺癌組織より得られたTILを用いて、IL-2培養時の増殖能、細胞障害活性、IFN- γ (interferon- γ) 産生能、表面マーカーについて、peripheral blood lymphocytes (PBL) と比較・検討した。IL-2培養によりTILは、PBLと同様に良く増殖したが、誘導される細胞障害活性は自己腫瘍細胞、ヒト肺癌株(QG-56)、K562すべてに対して、PBLより有意に低値を示した。さらに、TILのIFN- γ 産生も、PBLより有意に低値であった。増殖したTILの表面マーカーは、PBLに比しCD4/CD8比が高く、CD16陽性細胞の比率が著明に低かった。TILの細胞障害活性が低いのは、内因性に産生されるIFN- γ の低値が原因である可能性が考えられたので、次に、recombinant IFN- γ を外因性に添加し、TILおよびPBLの細胞障害活性に対する影響を調べた。TILにおいては、IL-2とIFN- γ 培養によりIL-2単独培養より高い細胞障害活性が誘導されたが、PBLでは、その様な効果は明らかではなかった。(生医研オープンリサーチシステムによる九大・医・2外・杉町圭蔵教授(安元公正元助教他)の肺癌研究グループ)、生医研・免疫・矢野篤次郎、戸上昌紀、野本亀久雄教授との共同研究)。

E. b. ヒト優性遺伝病（Pringle病）患者由来培養細胞の異常増殖と異常分化
（佐々木、木村）

Pringle病の患者の皮脂腺腫から細胞株を樹立しクローン化した。このクローンでは、一部の細胞に不等核分裂、核の細片化などの異常がみられた。また、一部細胞は神経組織の細胞に似て突起を形成した。チューブリン、アクチン、ヴィメンチン、フィブロネクチンなどの存在様式は、線維芽細胞のそれであった。またグリア細胞に特異的なマーカー蛋白（GFAP）を持っていた。サイクリックAMP結合蛋白種もグリア細胞に特徴的なものであった。この細胞株は、優性遺伝病における遺伝子発現の異常をしらべるためのよい実験系となると思われる（生医研オープンリサーチシステムによる東大・農・農化・小野寺一清助教授、東大・医・皮膚・石橋康正教授との協同研究）。

E. c. 3Y1細胞システムの整備（大津、奥田、志村、松崎、佐々木、木村）

クローン化されたフィッシャー系ラット2倍体線維芽細胞である3Y1細胞及び、それから派生した各種の変異株、同じく各種の発癌因子を作用させ生じたトランスフォーム細胞株を作製し、研究を行ってきた。これらの細胞株を細胞バンクに整理し、学外及び学内の研究者の要望に応じ配布する態勢を整えてきた。表1に1982～1988年の分与状況をまとめた。また3Y1及び9株のトランスフォーム細胞株をがん研究振興財団（JCRB）細胞バンクに寄託した。さらに各種派生株100株を理化学研究所細胞バンクに寄託予定である。

表1 ラット3Y1細胞とその派生株の分与延べ株数

	九大外	九大内の 他部局	その他	合計
1982年	17	1	1	19
1983年	16	6	0	22
1984年	7	3	0	10
1985年	20	0	8	28
1986年	13	1	4	18
1987年	3	3	0	6
1988年	50	6	0	56
合計	126	20	13	159

業 績 目 録

原著論文

1. Zaitso, H., H. Tanaka and G. Kimura : 1987
Elongation and shortening of time required for entry into S phase after release from G1 and G0 arrests in temperature - sensitive mutants of rat 3Y1 cells.
Exp. Cell Res. 170 : 310 - 321.
2. Shimura, H., Y. Umeno and G. Kimura : 1987
Effects of inhibitors of the cytoplasmic structures and functions on the early phase of infection of cultured cells with simian virus 40.
Virology 158 : 34 - 43.
3. Matsuzaki, A., K. Shiroki and G. Kimura : 1987
Induction of cellular DNA synthesis by adenovirus type 12 in a set of temperature-sensitive mutants of rat 3Y1 fibroblasts blocked in G1 phase.
Virology 160 : 227 - 235.
4. Ohno, K., H. Zaitso and G. Kimura : 1987
Maintenance of postconfluence stationary cell density by transient increase and decrease in cell number upon medium renewals in rat 3Y1 fibroblasts : Diminution of the decrease in cell number after cell transformation by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.
Fukuoka Acta Medica 78 : 569 - 577.
5. Zaitso, H. and G. Kimura : 1988
Serum - dependent regulation of proliferation of cultured rat fibroblasts in G1 and G2 phases.
Exp. Cell Res. 174 : 146 - 155.
6. Shimura, H., M. Ohtsu, A. Matsuzaki, T. Mitsudomi, K. Onodera and G. Kimura : 1988
Selective cytotoxicity of phospholipids and diacylglycerols to rat 3Y1 fibroblasts transformed by adenovirus type 12 or its E1A gene.
Cancer Res. 48 : 578 - 583.
7. Okuda, A. and G. Kimura : 1988
Elongation of G1 phase by transient exposure of rat 3Y1 fibroblasts to caffeine during the previous and present generations.
J. Cell Sci. 89 : 379 - 386.
8. Okuda, A. and G. Kimura : 1988

- Factors affecting heat production of rat 3Y1 fibroblasts in flow microcalorimetry.
Cell Struct. Funct. 13 : 97 – 104.
9. Zaitsu, H. and G. Kimura : 1988
Simian virus 40 compensates a cellular mutational defect of a serum – dependent function controlling cell cycle progression in the G2 phase.
Virology 164 : 165 – 170.
10. Matsuzaki, A., K. Shiroki and G. Kimura : 1988
Suppression of block to entry into S phase in cell – cycle mutants of rat 3Y1 fibroblasts after transformation by adenovirus type 12.
Virology 165 : 57 – 65.
11. Zaitsu, H., H. Tanaka, T. Mitsudomi, A. Matsuzaki, M. Ohtsu and G. Kimura : 1988
Differences in proliferation properties among sublines of rat 3Y1 fibroblasts transformed by various agents in vitro.
Biomed. Res. 9 : 181 – 197.
12. Tanaka, H., H. Zaitsu, K. Onodera and G. Kimura : 1988
Influence of the deprivation of a single amino acid on cellular proliferation and survival in rat 3Y1 fibroblasts and their derivatives transformed by a wide variety of agents.
J. Cell. Physiol. 136 : 421 – 430.
13. Okuda, A. and G. Kimura : 1988
Non – specific elongation of cell cycle phases by cycloheximide in rat 3Y1 cells, and specific reduction of the G1 phase elongation by simian virus 40 large T antigen.
J. Cell Sci. 91 : 295 – 302.
14. Okuda, A. and G. Kimura : 1988
Commitment to ploidy conversion of 3Y1 cells during metaphase arrest by colcemid.
Cell Tissue Kinet. 21 : 21 – 31.
15. Zaitsu, H., M. Ohtsu and G. Kimura : 1988
Induction of entry into S phase of cell cycle by PDGF and EGF administered alone and in combination in a high – serum requiring mutant of rat 3Y1 fibroblasts.
Biomed. Res. 9 : 489 – 496.
16. Yano, T., K. Yasumoto, M. Togami, T. Ishida, G. Kimura, K. Sugimachi and K. Nomoto :
Properties of recombinant interleukin 2 – cultured tumor – infiltrating lymphocytes in human lung cancer.
Int. J. Cancer in press.

17. Koga, Y., N. Oh-hori, H. Sato, N. Yamamoto, G. Kimura and K. Nomoto : Absence of transcription of lck (T-cell specific tyrosin kinase) message in IL-2-independent, HTLV-I-transformed T-cell lines.
J. Immunol. in press.
18. Shimura, H., A. Matsuzaki, K. Shiroki, M. Ohtsu, K. Fujinaga, K. Onodera and G. Kimura :
The high sensitivity of cells transformed by E1A gene of adenovirus type 12 to diacylglycerol-mediated cell killing.
Cancer Lett. in press.
19. Mztsuzaki, A., H. Shimura, A. Okuda, M. Ohtsu, M. Sasaki, K. Onodera and G. Kimura :
Mechanism of selective killing by dilinoleoylglycerol of cells transformed by E1A gene of adenovirus type 12.
Cancer Res. in press.
20. Onodera, K., Y. Ishibashi, M. Sasaki and G. Kimura :
Abnormal division and gene expression in cultured cells from a patient with tuberous sclerosis.
J. Dermatol. in press.
21. Okuda, A., A. Matsuzaki and G. Kimura :
Transient increase in the c-fos mRNA level after change of culture condition from serum absence to serum presence and after cycloheximide addition in rat 3Y1 fibroblasts.
Biochem. Biophys. Res. Commun. in press.
22. Matsuzaki, A., K. Ohno, M. Ohtsu and G. Kimura :
Functional rescue of temperature-sensitive defects in the cell-cycle mutants of rat 3Y1 fibroblasts by the small t-antigen deletion mutant of simian virus 40.
Cell Struct. Funct. in press.
23. Okuda, A. and G. Kimura :
Selective killing of transformed fibroblasts by combined treatment with cycloheximide and aphidicolin.
Jpn. J. Cancer Res. in press.
24. Zaitzu, H. and G. Kimura :
Deeper "Go" state in rat fibroblasts affects not lag time required for SV40-T-antigen expression but lag time required for T-antigen-induced DNA synthesis.
Intervirology in press.

総説著書解説文

1. 木村元喜：1987
3Y1細胞株由来の温度感受性変異株を用いた細胞増殖制御の考察。
組織培養、13：232 - 236.
2. 木村元喜、奥田篤行：1987
正常細胞と癌細胞の増殖停止状態の違いを利用した癌化学療法の可能性の研究。
がん治療のあゆみ、6：45 - 52.
3. 木村元喜、佐々木正文：1987
ラット3Y1細胞の形態。
発酵と工業、45(3)：p - 3.
4. 木村元喜、佐々木正文：1987
ラット3Y1細胞の微細構造。
発酵と工業、45(9)：p - 9.
5. 木村元喜：1988
動物細胞の細胞周期の制御。
細胞工学、別冊4、物質生産の素材としての動物細胞：81 - 90.
6. 奥田篤行：1988
バイオテクノロジー素材としての培養細胞（体細胞遺伝学）：3Y1 - B、クローン1 - 6。
蛋白質核酸酵素、33：294 - 295.
7. 奥田篤行：1988
バイオテクノロジー素材としての培養細胞（細胞周期）：3Y1 - B、クローン1 - 6。
蛋白質核酸酵素、33：1333 - 1334.

学会報告

1. 奥田篤行、木村元喜：1987、9/7 - 9/9、シクロヘキシミドとアフィディコリンによるトランスフォーム3Y1細胞の選択的致死
第46回日本癌学会総会（東京）
2. 谷口俊一郎、中松耕治、川野豊一、木村元喜、馬場恒男：1987、9/7 - 9/9、ラット形質転換細胞へのv - fos遺伝子導入による肺転移の増強（第2報）
第46回日本癌学会総会（東京）
3. 志村英生、松崎彰信、小野寺一清、木村元喜：1987、9/7 - 9/9、リン脂質リボソームによるアデノウイルス12型形質転換細胞の選択的破壊
第46回日本癌学会総会（東京）
4. 松崎彰信、白木和子、木村元喜：1987、11/18 - 11/20、アデノウイルスによってトランスフ

フォームされた3Y1細胞の細胞周期変異株の増殖態度

第40回日本細胞生物学会（大阪）

Matsuzaki, A., K. Shiroki and G. Kimura : 1987

Proliferation phenotypes of cell - cycle mutants of rat 3Y1 fibroblasts transformed with adenovirus type 12. *Cell Struct. Funct.* 12 : 627.

5. 奥田篤行、木村元喜 : 1987、11/18 - 11/20、カフェインによる3Y1細胞のS期進入の選択的阻害

第40回日本細胞生物学会（大阪）

Okuda, A and G. Kimura : 1987

Elongation of G1 phase by transient exposure of rat 3Y1 fibroblasts to caffeine during the previous as well as present generations. *Cell Struct. Funct.* 12 : 627.

6. 志村英生、大津真澄、壁村まゆみ、木村元喜 : 1987、11/18 - 11/20、細胞周期変異株におけるDNA合成のコレラ毒素による誘導

第40回日本細胞生物学会（大阪）

Shimura, H., M. Ohtsu, M. Kabemura and G. Kimura : 1987

Induction of cellular DNA synthesis by cholera toxin in the temperature sensitive cell cycle mutants of rat 3Y1 fibroblasts at the restrictive temperature. *Cell Struct. Funct.* 12 : 626.

7. 小野寺一清、梅田隆、石橋康正、佐々木正文、木村元喜 : 1987、11/18 - 11/20、優性遺伝病患者の培養細胞の生化学

第40回日本細胞生物学会（大阪）

Onodera, K., T. Umeda, Y. Ishibashi, M. Sasaki and G. Kimura : 1987

Biochemical studies of the cells from a patient with a dominant genetic disease. *Cell Struct. Funct.* 12 : 700.

8. 奥田篤行、木村元喜 : 1987、11/5 - 11/7、3Y1細胞における蛋白合成阻害によるS期進入の阻害のSV40ラージT抗原による克服

第35回日本ウイルス学会総会（京都）

9. 財津裕一、田中宏明、光富徹哉、大津真澄、木村元喜 : 1987、11/5 - 11/7、トランスフォーム3Y1細胞の培養性状の発癌因子特異性

第35回日本ウイルス学会総会（京都）

10. 志村英生、松崎彰信、大津真澄、小野寺一清、木村元喜 : 1987、11/5 - 11/7、アデノウイルス12型EIA遺伝子形質転換細胞に対するリン脂質リポソームの選択的細胞毒性

第35回日本ウイルス学会総会（京都）

11. 奥田篤行 : 1987、12/19、動物細胞の増殖制御機構

第1回九州大学放射光シンポジウム (福岡)

12. 木村元喜 : 1987、12/21 - 12/22、G1期/G2期に停止するラット3Y1細胞のts変異株
ワークショップ「細胞周期の制御」(重点領域研究「細胞複製の分子遺伝学的展開」主催)(湯河原)
13. 中松耕治、谷口俊一郎、木村元喜、馬場恒男 : 1988、9/20 - 9/22、H-rasによる形質転換
3Y1細胞(HR-3Y1-3)へのv-fos遺伝子移入に伴う悪性度増強
第47回日本癌学会(東京)
14. 梅野美一、奥田篤行、木村元喜 : 1988、9/20 - 9/22、高濃度血漿中での正常繊維芽細胞の増殖
第47回日本癌学会(東京)
15. 奥田篤行、松崎彰信、木村元喜 : 1988、9/20 - 9/22、S期およびG2期を血清非存在下で通過
して分裂した3Y1細胞におけるc-fosおよびc-myc発現の血清刺激による一過性の誘導
第47回日本癌学会(東京)
16. 岡本光世、谷口俊一郎、貞野宏之、木村元喜、角永武夫、川野豊一、馬場恒男 : 1988、9/20 -
9/22、ラット培養3Y1細胞の悪性形質転換に伴う α 様アクチン発現の変化
第47回日本癌学会(東京)
17. 古賀泰裕、T. W. Mak : 1988、9/20 - 9/22、ヒトT細胞特異的チロシンキナーゼ遺伝子(lck)
について
第47回日本癌学会(東京)
18. 志村英生、松崎彰信、大津真澄、白木和子、小野寺一清、木村元喜 : 1988、11/2 - 11/4、ジ
アシルグリセロールのアデノウイルス12型形質転換細胞選択毒性におけるE1A-12S、E1A-
13S遺伝子の役割
第36回日本ウイルス学会(東京)
19. 奥田篤行、松崎彰信、木村元喜 : 1988、11/2 - 11/4、SV40トランスフォーム3Y1細胞にお
ける血清刺激によるc-fosおよびc-myc遺伝子転写発現の誘導
第36回日本ウイルス学会(東京)
20. 古賀泰裕、T. W. Mak、木村元喜、野本亀久雄 : 1988、11/2 - 11/4、HIV感染T細胞に観察
されたRNAプロセッシング障害
第36回日本ウイルス学会(東京)
21. 木村元喜、志村英生、松崎彰信、大津真澄 : 1988、6/18、リン脂質リポソーム及びジアシルグ
リセロールの選択的癌細胞傷害性とそれに対するセファランチンの保護効果
第14回アルカロイド研究会(大阪)
22. 奥田篤行、佐々木正文、木村元喜 : 1988、11/17 - 11/19、3Y1細胞の3Y1細胞層上への接着
における接着因子の関与
第41回日本細胞生物学会(名古屋)
Okuda, A., M. Sasaki and G. Kimura : 1988

- Factors affecting adhesion of rat 3Y1 cells to their confluent cell sheet. *Cell Struct. Funct.* 13 : 667.
23. 井上光世、谷口俊一郎、貞野宏之、木村元喜、角永武夫、馬場恒男 : 1988、11/17 - 11/19、3Y1細胞の形質転換に伴うアクチンの発現変化
第40回日本細胞生物学会 (名古屋)
Inoue, M., S. Taniguchi, H. Sadano, G. Kimura, T. Kakunaga and T. Baba : 1988
Alteration of expression of smooth muscle α -actin in rat 3Y1 cells concomitant with transformation. *Cell Struct. Funct.* 13 : 689.
24. 松崎彰信、志村英生、大津真澄、佐々木正文、小野寺一清、木村元喜 : 1988、11/17 - 11/19、アデノウイルス12型形質転換細胞に対するジアシルグリセロールの選択毒性の解析
第41回日本細胞生物学会 (名古屋)
Matsuzaki, A., H. Shimura, M. Ohtsu, M. Sasaki, K. Onodera and G. Kimura : 1988
Mechanism of specific cell killing by dilinoleoyl-glycerol of rat 3Y1 fibroblasts transformed by E1A gene of adenovirus type 12. *Cell Struct. Funct.* 13 : 674
25. 梅野美一、志村英生、木村元喜 : 1988、11/17 - 11/19、繊維芽細胞成長因子による細胞周期変異株におけるDNA合成の誘導と百日咳毒素による選択的阻害
第41回日本細胞生物学会 (名古屋)
Umeno, Y., H. Shimura and G. Kimura : 1988
Induction of DNA synthesis by fibroblast growth factor and its inhibition by islet activating protein (IAP) in the temperature-sensitive cell cycle mutants of rat 3Y1 fibroblasts at nonpermissive temperature. *Cell Struct. Funct.* 13 : 614.
26. 壁村まゆみ、志村英生、松崎彰信、木村元喜 : 1988、11/17 - 11/19、ラット3Y1細胞の細胞周期変異株のコレラ毒素によるDNA合成誘導の解析
第41回日本細胞生物学会 (名古屋)
Kabemura, M., H. Shimura, A. Matsuzaki and G. Kimura : 1988
Mechanism of induction of cellular DNA synthesis by cholera toxin in temperature-sensitive cell cycle mutants of rat 3Y1 fibroblasts at restrictive temperature. *Cell Struct. Funct.* 13 : 673.