



ニホンザルからのSV40の分離と分離ウイルスに対するサルの抗体調査

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 市川, 隆, 源, 宣之, 金城, 俊夫, 松林, 伸子, 松林, 清明, 後藤, 俊二, 鈴木, 樹理, 竹中, 修 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5591

ニホンザルからのSV40の分離と
分離ウイルスに対するサルの抗体調査

市川 隆¹⁾・源 宣之¹⁾・金城俊夫¹⁾

松林伸子²⁾・松林清明²⁾・後藤俊二²⁾

鈴木樹理²⁾・竹中 修²⁾

1) 獣医公衆衛生学研究室

2) 京都大学霊長類研究所

(1985年7月31日受理)

Isolation of SV 40 from Japanese Monkeys and Serological
Survey to the Isolated Virus among Monkeys

Takashi ICHIKAWA¹⁾, Nobuyuki MINAMOTO¹⁾,

Toshio KINJO¹⁾, Nobuko MATSUBAYASHI²⁾,

Kiyooki MATSUBAYASHI²⁾, Shunji GOTO²⁾,

Juri SUZUKI²⁾ and Osamu TAKENAKA²⁾

1) *Laboratory of Veterinary Public Health*

2) *Primate Research Institute, Kyoto University*

(Received July 31, 1985)

SUMMARY

An attempt was made to isolate virus from 2 Japanese monkeys which died from an unknown disease occurring at the H monkey park in which 30 out of approximately 100 monkeys were affected.

Seven viral strains identified as the same virus by an indirect fluorescent antibody test were isolated from several organs of 2 monkeys.

Eosinophilic nuclear inclusion bodies surrounded by halos and many small cytoplasmic vacuoles were seen in vero cells infected with the isolated strain.

Judging from results of electron microscopic observation and physiochemical characteristics of the isolated strain, and of cross neutralization test with known SV 40, strain 777, the isolated strain was identified as SV 40.

A serological survey of the isolated strain was performed by immune adherence hemagglutination test. All of 8 monkey sera of the H monkey park were seropositive, and 59 out of 78 sera (75.6%) collected from 7 other breeding places were also seropositive. Geometric mean antibody titers were 210 in the former group and 89.9 in the latter.

From the results obtained, the isolated strain, SV 40, could not be confirmed as a causative agent of the disease occurring at the H monkey park. However, SV 40 was found to be widely prevalent now among apparently healthy Japanese monkeys.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (50) : 321—328, 1985.

要 約

H野猿公苑のニホンザルの間で伝染性と思われる疾病の発生があった。2頭の死亡例についてウイルス学的検索を行ったところ、各種実質臓器から同様のCPEを示す7株のウイルスが分離された。これら7株がすべて同一ウイルスであることを間接蛍光抗体法で確認した。

分離ウイルスは感染細胞の核内にハローを伴ったエオジン好性の封入体を、また細胞質内に微細な空泡をそれぞれ形成した。

電子顕微鏡による形態観察、各種物理化学的性状試験、既知SV40ウイルスとの交差中和試験等から、本分離ウイルスはSV40と同定された。

分離ウイルスに対する抗体調査をIAHA試験により行ったところ、H野猿公苑の8頭はすべて陽性であり、その他の施設で飼育されている7群78頭のそれも75.6%と高率で、両者間に有意差はなかった。しかし、抗体価の幾何平均値で比較すると210倍と89.9倍で、H野猿公苑のサルに明らかに高い抗体価の個体が分布していることが示された。

分離したSV40が今回の疾病の直接の原因であるとの確証は得られなかった。

しかし、アカゲザルを自然宿主とするSV40が、わが国のニホンザルの間にも広く浸淫している事実を明らかにした。

結 言

1984年春に、約100頭のニホンザルを放飼しているH野猿公苑において、伝染性と思われる疾病が発生し、約30頭が死亡している。著者らはその原因をウイルス学的に究明している過程で、その疾病の直接の原因とは思われないが、SV40と同定されたウイルスを分離した。

SV40は腫瘍原性のあるポリオマウイルス属に属し、アカゲザルを自然宿主とするものである¹⁾。SV40に不顕性感染したアカゲザルの臓器を組織培養に用いてポリオウイルス等のワクチンを製造する際、本ウイルスのワクチンへの混入が問題となり、注目されたウイルスである²⁾。

今回、本ウイルスをニホンザルから分離したのを機に、従来あまり検討されなかったわが国のサルにおけるSV40に対する抗体調査を行ってみた。その結果、抗体陽性率が著るしく高く、本ウイルスがわが国のサルの間にも広範に浸淫していることが明らかになったので、その成績を報告する。

実験材料及び方法

被検サル：ウイルス分離には、H野猿公苑で原因不明の疾病で死亡した2頭のニホンザルを供試した。

抗体調査には、該H野猿公苑の8頭の他、その他の野猿公苑や飼育場、研究施設等で飼育されている7群78頭の総計86頭を供試した。86頭のうち4頭はアカゲザル(Table 5のG群)、4頭はインドネシアから輸入され検疫中のカニクイザル(Table 5のF群)で、残りの78頭はニホンザルである。

ウイルスの分離：2頭の死亡ザルの剖検後の各種臓器(Table 1)がウイルス検査のため送付されてきた。これら被検材料をゲンタマイシン(400 μ g/ml)加Hanks液で10%乳剤とし、その6,000 rpm 30分遠心後の上清を培養細胞への接種に用いた。

細胞はアフリカミドリザル腎由来株化細胞(Vero)およびアカゲザル胎仔腎由来株化細胞(MA104)を使用した。

型の如く、被検材料を接種した細胞を37 $^{\circ}$ C 14日間回転培養してCPEの発現を観察した。CPEの発現がない場合は盲継代を4代目まで行いウイルス分離を試みた。

分離ウイルスの形態学的、物理化学的性状検査：カバースリップ上に培養した細胞に分離ウイルスを接種し、CPE発現後細胞の形態学的変化を観察した。また、分離ウイルスを濃縮し、3%リンタングステン酸溶液でネガティブ染色後電子顕微鏡による形態観察を行った。

ウイルスの物理化学的性状の検査は、型の如く、核酸の種類を推定するための接種培養細胞におけるIUdR(50 μ g/ml)存在下での増殖試験、エンベロープの有無を調べるための20%エーテルや10%クロロホ

ルムに対する感受性試験や pH3.0における酸耐性試験，ポアサイズ50，100及び450nm における濾過試験等を行った。

その他，0.5%ヒトO型赤血球及び0.4%モルモット赤血球に対する凝集能を検査した。

分離ウイルスの血清学的性状検査：分離ウイルスの代表株に対する高度免疫血清をモルモットで作成した。また，既知SV40，777株及びその高度免疫家兎血清を国立予防衛生研究所の吉池邦人博士より分与を受け，両ウイルス間の交差中和試験を行った。

各種被検材料より分離されたウイルス株については，それぞれの感染細胞を用い，上述の代表株に対する抗血清を一次血清とする間接蛍光抗体法により，その異同を調べた。

抗体調査のための IAHA 試験：抗体調査は，免疫粘着赤血球凝集 (IAHA) 試験によって行ったが，予め本反応の特異性を一部の血清について中和試験と同時に先行確認した。

IAHA 試験の術式は井上らの方法³⁾に準拠し，マイクロプレートで行った。すなわち，63°C20分間非働化した被検血清を10倍から2倍段階希釈し，これに等量 (25 μ l) の4単位の抗原を加えて室温で1時間感作した。これに150倍に希釈した補体を25 μ l加えて37°C40分反応させ，次いで0.3%ジチオスメイトール25 μ l，0.4%ヒトO型赤血球50 μ lを加え，室温2時間静置後，その血球凝集像により判定した。

実験成績

ウイルスの分離

2頭の死亡例の各種臓器からウイルス分離を試みたところ，Table 1に示すようにNo.1のサルの場合，肺，腎，脾，肝，腸間膜リンパ及び陽管から，他のNo.2では尿のみから，それぞれ同様なCPEを示す計7株のウイルスが分離された。

No.1の肺及びNo.2の尿由来株は盲継代2代目に，その他の株は何れも3代目にそれぞれCPEを発現した。Table 1で陰性となっている臓器では，4代目まで盲継代を行ったがCPEの発現がなく実験を打ち切った。

なお，No.1の肺由来株を，これらの代表株として，以下の各種性状検査に使用した。

感染細胞の形態学的所見

本ウイルスのCPEの発現は遅く，接種後1週間を経過してはじめて細胞の円形化，脱落が認められ (Fig.1)，さらに進むとほとんどの細胞がガラス面から剝離した。HE染色標本では，核内にハローを伴ったエオジン好性の数個の封入体が認められ (Fig. 2a)，また，細胞質内には多数の微細な空胞が形成され (Fig. 2b)，SV40の典型的細胞変化と一致した。

分離ウイルスの電子顕微鏡による観察

本ウイルスをPTAでネガティブ染色し，電子顕微鏡でその形態を観察した結果，エンベロープを欠く直径約45nmの球状の粒子であることが確認された (Fig. 3)。

分離ウイルスの物理化学的性状

検査した主要な物理学的性状をTable 2に示した。本ウイルスは50 μ g/ml IuDRに感受性で，20%エーテル及び10%クロロホルムに対して耐性で，また，pH3.0で安定であった。濾過試験の結果では，ポアサイズ50nmのフィルターを通過しうることがわかった。

以上の諸性状及び前項の電子顕微鏡観察結果から，分離ウイルスはエンベロープを欠く，大きさ約45nmのDNAウイルスであると判定された。

Table 1. Isolation of viral agents from 2 Japanese monkeys

Isolated from	Monkey	
	No. 1	No. 2
Lung	+* ¹	—
Kidney	+	—
Spleen	+	—
Liver	+	—
Mesenteric lymphonodus	+	—
Intestine	+	—
Urine	ND* ²	+
Adrenal gland	ND	—
Brain	—	ND

* 1 The virus strain from lung was used as a standard strain in following tests.

* 2 Not done

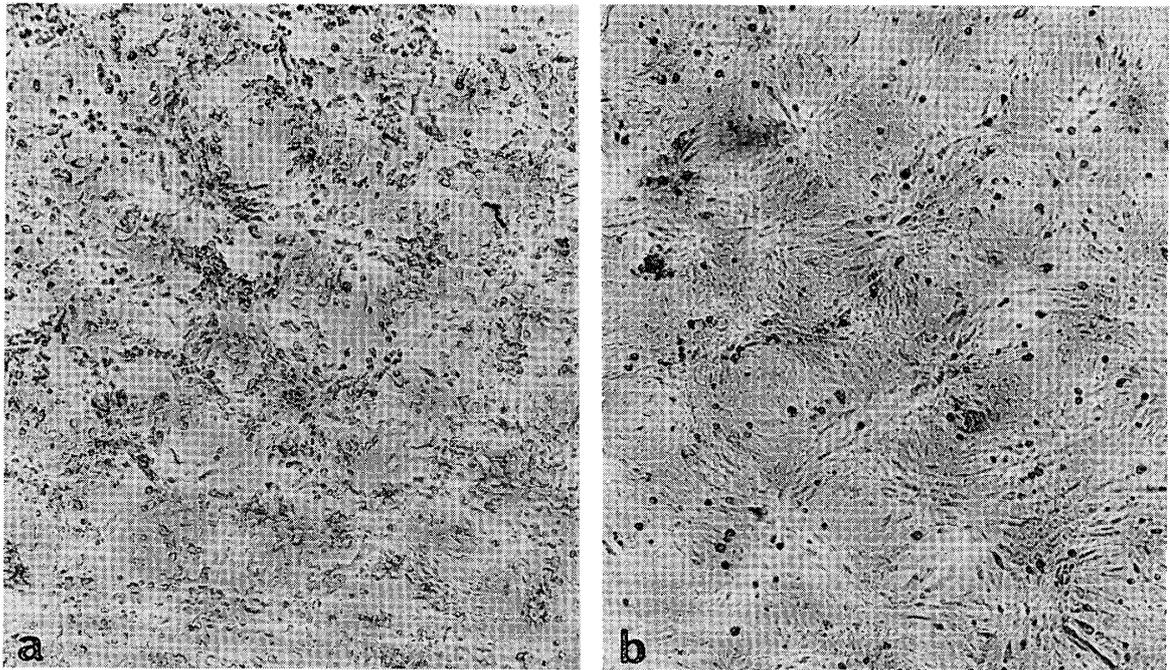


Fig. 1. Vero cells after 10 days of inoculation with the isolated strain (a) and control (b). unstained

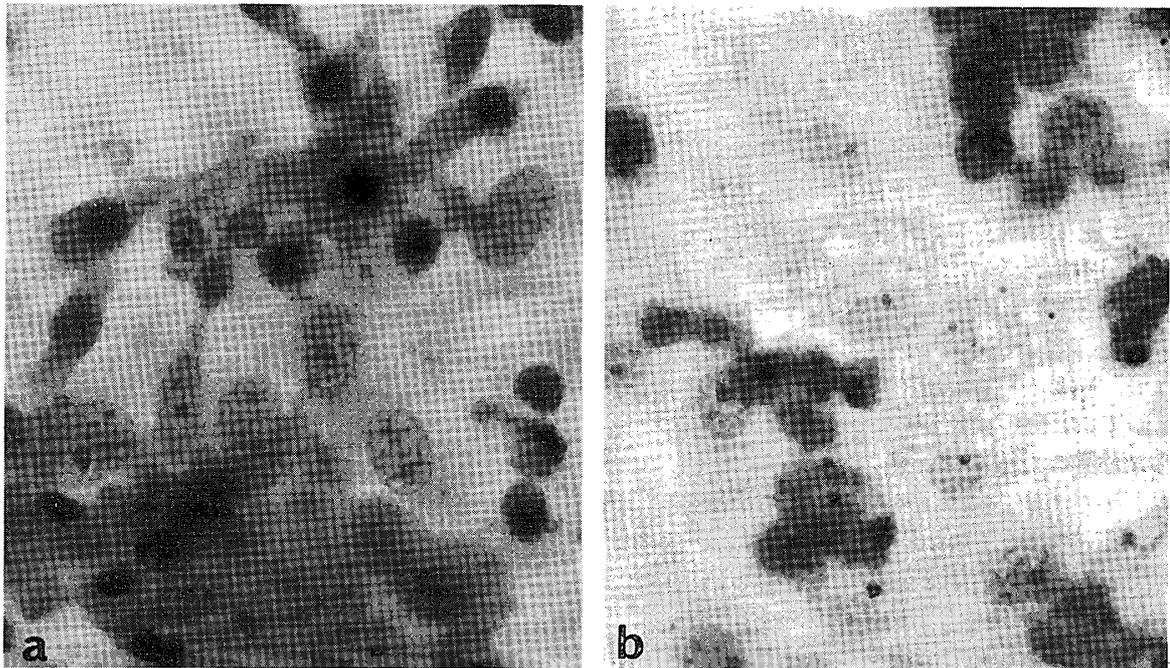


Fig. 2. Infected vero cells showing intranuclear inclusion bodies surrounded with halo (a) and MA 104 cells showing intracytoplasmic vacuoles (b). HE stain

なお、ウイルス同定の補助手段として行った赤血球凝集試験では、ヒトO型及びモルモット赤血球を4℃及び37℃何れにおいても凝集せず、本ウイルスが血球凝集能を欠くものであることが示された。

分離ウイルスの血清学的性状

2頭のサルから分離された7株のウイルスについて、その代表株で作成した高度免疫血清を用いた間接蛍光抗体法により共通抗原の有無を調べた。その結果、何れの株の接種細胞にも代表株と同一のウイルス

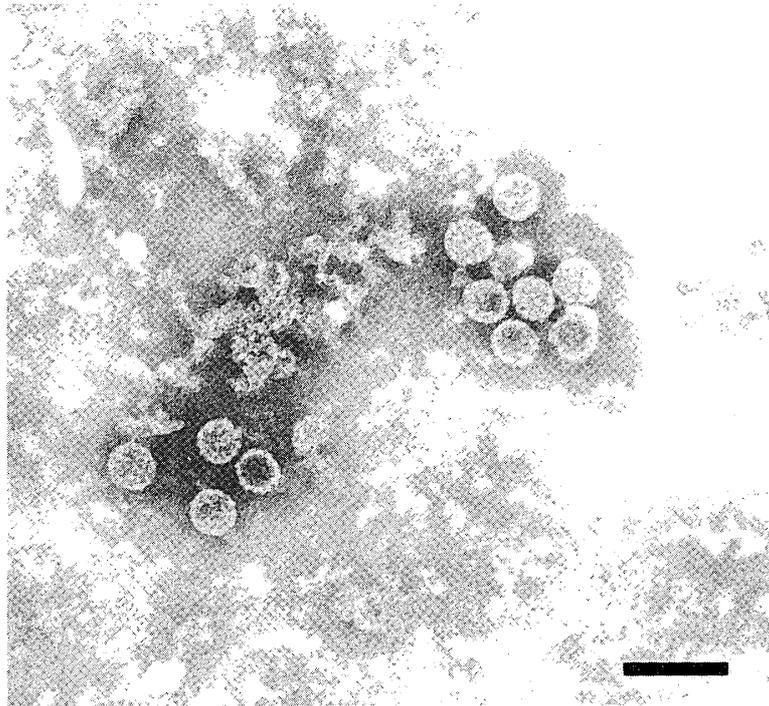


Fig. 3. Electron micrograph of the isolated virus strain. Bar indicates 100 nm. 3% PTA stain

抗原が産生され、これら7株が同一ウイルスであることが示唆された。

次に、本ウイルスがその諸性状から SV40と推定されたので、既知 SV40、777株との間で交差中和試験を行った。その結果、Table 3 に示すように、両ウイルス間に強い両交差が認められ、本分離ウイルスが SV40であることを確認した。

分離ウイルスに対するサルの抗体調査

IAHA 試験を用い、該H野猿公苑の8頭及びその他7群の78頭、合計86頭のサル血清について分離ウイルスに対する抗体の分布状況を調べた。Table 4 に示す如く、20倍以上を陽性とした場合、抗体陽性率はH野猿公苑では100% (100%)、その他の群では75.6%(59/78)で、前者で高い値を示した。しかし、両者間で有意差は認められなかった。

次に、Table 5 に示すように抗体価を加味して陽性個体の分布を調べてみた。H野猿公苑の場合、抗体価は40倍から640倍まで分布し、その幾何平均値が133倍であった。これに対し、その他7群のサルでは抗体価10倍以下の例から、最高では前者同様640倍の例まで幅広く分布し、幾何平均値は50.7倍で、明らかにH野猿公苑のサルで抗体価が高いことがわかった。なお、他の7群のサルの間でも抗体価の幾何平均値が、

Table 2. Physiochemical characteristics of the isolated viral strain

Tests	Virus titer (log TCID ₅₀ /ml)	
	Treated virus	Control
50μg/ml IUdR	<2.6	6.9
20 % ether	6.9	6.6
10 % chloroform	6.9	6.6
Acid (pH 3.0)	5.1	6.3
Filtration		
450 nm	6.1	6.6
100	5.9	
50	5.1	

Table 3. Crossneutralization tests between isolated strain and strain 777 of SV 40 in vero cells

Antiserum	Virus	
	Isolated	SV 40(777)
Isolated	18,232	22,988
SV 40(777)	16,254	17,220

最高のE群の112.2倍から最低のF群の10倍以下までばらつきがみられた。このF群の4頭はインドネシアから輸入し検疫中のカニクイザルで、次いで低い値のG群はアカゲザルである。

また、サル年齢が判明している43頭について、年齢別抗体分布を調べたところ、表示はしなかったが、抗体の幾何平均値が年齢の上昇と共に高くなっていくことが明

Table 4. Prevalence of IAHA antibodies to the isolated strain in monkeys

Breeding place	No. of monkeys		(%)
	tested	positive* ¹	
H-park* ²	8	8	(100)
Others* ³	78	59	(75.6)

* 1 $\geq 1:20$

* 2 H monkey-park where the disease occurred.

* 3 Other 7 groups as indicated in table 5.

Table 5. Prevalence of IAHA antibody titers to the isolated strain in monkeys

Monkeys of	No. of tested monkeys	IAHA antibody titers							G. M.*
		≤ 10	20	40	80	160	320	640	
H park	8	0	0	2	2	1	2	1	133.4
Others	78	19	5	12	21	15	5	1	50.7
A	37	6	2	7	14	7	1	0	54.7
B	15	2	2	3	2	3	2	1	69.2
C	6	0	1	1	2	1	1	0	79.4
D	10	5	0	0	2	2	1	0	37.2
E	2	0	0	0	1	1	0	0	112.2
F	4	4	0	0	0	0	0	0	≤ 10
G	4	2	0	1	0	1	0	0	28.2

* G. M. : Geometric mean titers

らかとなった。

考 察

今回、H野猿公苑で発生した伝染性と思われる疾病に罹患したサルの症状は、現地からの報告によると、顔面が潮紅し、次第に黒く痂皮状となり落屑、眼じ、耳漏が認められ、水様性の下痢を伴い、やがて消瘦して約1ヶ月の経過で死亡している。

剖検所見では、肺及び大腸特に結腸で出血性病変が強く現われていた。上述の如く、経過が比較的長いことから、抗生物質による治療も試みられたが、改善がみられなかった。共同研究者の京大グループによって細菌学的検索も行われたが、疾病に結びつく細菌の分離はできなかった。そこで、ウイルス学的検索のため、2頭の死亡例の各種臓器が岐阜大学に送付されてきた。

疾病の主要症状の1つとみられる顔面の皮ふ病巣や新鮮血液等、ウイルス分離に必要な材料が完全ではなかったが、サル由来株化細胞を用い、型の如く盲継代も行ってウイルス分離を試みた。

その結果、SV40と同定されたウイルスが2頭のサル何れからも分離され、特にNo.1のサルでは胸腔、腹腔の各種臓器から分離され、本ウイルスが単に通過ウイルスとして偶然検出されたものではなく、本ウイルスによるウイルス血症の状態にあったことが示唆された。

SV40はパポウイルス科のポリオーマウイルス属に属し、アカゲザルを自然宿主とするウイルスである¹⁾。自然宿主の間では広く不顕性感染を起し、ウイルスは長く体内に潜み、宿主の免疫力の低下と共に再び増殖するといわれる²⁾。本ウイルスが自然感染したサルに致死的に作用するという報告は見当らない。従って、今回の例のように多数が死亡している流行例の原因ウイルスとして、分離したSV40を確定することはむづかしい。この確認のためには、発病中のサルの新鮮材料からの再分離試験、分離ウイルスのサル接種による疾病の再現試験、発病耐過サルのペア血清の抗体価のチェック等行う必要があるが、その後H野猿公苑での本疾病が終息したことなど種々の制約があって、これ以上の追試確認が困難な状況にある。ただ、今後採取保存してあるH野猿公苑の8頭のサル血清について、各種ウイルスに対する抗体保有状況を調べることにより、ある程度間接的確認ができると思われるので検討してみたい。

さて、SV40はサル由来ウイルスの中では、サル咬傷によりヒトに上行性脊髄炎を起こすヘルペスウイルス科のBウイルス⁴⁾に次いで注目を集めたウイルスである。その理由は、ポリオウイルス等のワクチン製造のための組織培養細胞としてサル腎細胞等が使用されるが SV40が前述の如くサルの間にも不顕性感染していることから、ワクチンへの本ウイルスの混入が考えられ²⁾、その上 SV40がハムスターに腫瘍原性を有し^{5,6)}、かつヒト培養細胞も腫瘍変換(トランスホーム)させることが明らかにされたからである⁷⁾。事実、SV40の混入したポリオウイルスのワクチンを接種された子供に抗SV40抗体の上昇⁸⁾やSV40の糞便中への排泄が確認され⁹⁾、社会問題となった。

一方、本ウイルスがヒトに近縁のサルを自然宿主とし、しかも腫瘍原性があることからヒト腫瘍のウイルス学的研究のモデルとしても広く利用されている。

このように注目されているウイルスではあるが、わが国で生産されるサルについての本ウイルスに対する系統的調査は従来あまり行われていないようである。

Endo et al.¹⁰⁾ は組織培養に使用するニホンザルの腎細胞からのウイルス分離を試み、SV40と同様の空胞形成を特長とするウイルスを分離したが、SV40とは異なる RNA のvirus spumeus (foamy virus) と同定している。また同氏ら¹¹⁾ はニホンザルにおけるBウイルスに対する抗体調査を行っているが、SV40についてはふれていない。

Stiles¹²⁾ は米国でポリオウイルスワクチン製造用に輸入されたアカゲザルを4年間にわたって計2,556頭をCF反応によって調べ、SV40はfoamy virusより低率であったが、うち386頭、15.6%がSV40抗体陽性であったと報告し、見かけ上健康なサルが、これらのウイルスに感染している事実を指摘している。

一方、Shah¹³⁾ は北インド地方のアカゲザルとの接触の機会の多い住民におけるSV40抗体の調査を行い、これら住民の中にかつてサル腎培養細胞で製造されたワクチン接種を受けたことがないにも拘わらずSV40抗体陽性個体が8.6% (14/161) あることや、サルの捕獲や輸出に直接関わっている者では27% (10/37) もあることから、サルからヒトへのSV40の感染を示唆している。SV40は人畜共通伝染病の病原体として取扱われてないが、ヒト細胞も腫瘍変換させることから⁷⁾、ヒト腫瘍の原因とみる研究者もおり¹⁴⁾、その取扱いには注意する必要がある。

著者らは、今回ニホンザルから分離されたSV40について、該野猿公苑で発生した疾病との因果関係を調べるためと、さらに他の施設で飼育されているサルの間にもSV40がどの程度浸淫しているかを調べるため、抗体調査を実施した。調査には予めその特異性を確認した簡便なIAHA試験を用いた。

その結果、H野猿公苑の8頭のサルすべてが陽性であり、他の施設の7群のサル78頭でもその75.6%が陽性で、両者間に有意差は得られなかった。しかし抗体価の幾何平均値で比較すると前者が210倍に対し、後者は89.9倍で明らかに差が認められ、H野猿公苑のサル間に抗体価の高い個体が分布していることがわかった。従って、例え本ウイルスが今回の流行の直接の原因ではないにしても、疾病の誘発、悪化に役買っていた可能性がある。このことはウイルスが多くの実質臓器から分離されたことからもうなずける。しかし逆に、今回の疾病が不顕性感染していたSV40を誘発した可能性も否定しえない。

一方、その他の7群の中でも、インドネシアからの輸入検疫中の1群を除き、抗体陽性率が高率であることから、SV40がわが国で生産されるサルの間にも広く浸淫していることがわかった。

SV40のサル間での感染様式についてはよくわかってないが、Ashkenazi et al.¹⁵⁾ の実験感染の成績では、ウイルス血症が2週間も続き、唾液に1週間分泌され、かつ尿に4週間も排泄されることから、吸血昆虫による感染、飛沫感染、尿で汚染された物を介しての感染等をあげており、サルからヒトへの感染も同様のルートによるものであろうと述べている。特に腎臓には感染後8ヶ月以上もウイルスの存在を認めている。今回のサルNo.2でも尿のみからウイルスが分離されているが、不顕性感染しているサルの尿が、他への主要な感染源となって、サル間で広く維持されているものかも知れない。また、年齢の増加と共に平均抗体価の上昇がみられたことも、自然環境における感染の機会が再三あることを意味している。

今回、輸入検疫中のカニクイザル4頭にSV40の抗体陽性個体が認められなかったが、今後の追跡調査で本抗体の消長を調べることは大変興味あることである。

以上、今回のSV40の分離とその抗体調査によって、本ウイルスがわが国のサルに高率に浸淫しているこ

とを明らかにした。特にサルの初代培養細胞を使用する際にこの事実に留意すべきことを強調したい。

謝 辞

本研究に使用したサル材料の採取にご協力いただいたH野猿公苑その他各施設の職員の方々に感謝致します。

なお、本研究の一部は京都大学霊長類研究所の共同利用研究によって行われたものである。記して感謝の意を表したい。

文 献

- 1) Zeitlyonok, N. A., Chumakova, M. F., Ralph, N. M. and Goen, L. S. : Distribution area and natural hosts of latent virus of monkeys. Occurrence of simian vacuolating virus (SV 40) and herpesvirus simiae in cytomolgus monkeys in Indonesia. *Acta Virol.* **10** : 537-542, 1966.
- 2) Sweet, B. H. and Hilleman, M. R. : The vacuolating virus, SV 40. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **105** : 420-427, 1960.
- 3) 井上栄 : IAHA. *臨床検査* **25** : 959-965, 1981.
- 4) Sabin, A. B. and Wright, A. M. : Acute ascending myelitis following a monkey bite, with the isolation of a virus capable of reproducing the disease. *J. Exp. Med.* **59** : 115-136, 1934.
- 5) 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, SV 40. *Virology* **17** : 65-75, 1962.
- 6) 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.
- 7) Shein, H. M. and Enders, J.F. : Transformation induced by simian virus 40 in human renal cell cultures I. Morphology and growth characteristics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* **48** : 1164-1172, 1962.
- 8) Gerber, P. : Pattern of antibodies to SV 40 in children following the last booster with inactivated poliomyelitis vaccine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **125** : 1284-1287, 1967.
- 9) Melnick, J. L. and Stinebaugh, S. : Excretion of vacuolating SV 40 virus (papova virus group) after ingestion as a contamination of oral poliovaccine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **109** : 965-968, 1962.
- 10) Endo, M., Aoyama, Y., Kamimura, T., Hayashida, T. et Kinjo, T. : Sur un virus considéré comme le virus spumeux, isolé en culture de cellules rénales de singe japonais. *Jpn. J. Exp. Med.* **29** : 355-357, 1959.
- 11) Endo, M., Kamimura, T., Aoyama, A., Hayashida, T., Kinjo, T., Ono, Y., Kotera, S., Suzuki, T., Tajima, Y. et Ando, K. : Etude du virus B au Japon I. Recherche des anticorps neutralisant le virus B chez les singes d'origine japonais et les singes étrangers importés au Japon. *Jpn. J. Exp. Med.* **30** : 227-233, 1960.
- 12) Stiles, G. E. : Serologic survey of rhesus and grivet monkeys for SV 40 and the foamy virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **127** : 225-230, 1968.
- 13) Shah, K. V. Neutralizing antibodies to simian virus 40 (SV 40) in human sera from India. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **121** : 303-307, 1966.
- 14) Jensen, F. M Koprwski, H., Pagano, J. S., Ponten, J. and Ravdin, R. G. : Autologus and homologus implantation of human cells transformed in vitro by simian virus 40. *J. Nat. Cancer Inst.* **32** : 917-915, 1964.
- 15) Ashkenazi, A. and Melnick, J. L. : Induced latent infection of monkeys with vacuolating SV 40 papova virus. Virus in kidneys and urine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111** : 367-370, 1962.