

氏名	小島鋭士
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	論農博第2233号
学位授与の日付	平成11年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Advanced Utilization of Yeast RNA Extracted from <i>Candida utilis</i> Fermented in Pulp Waste Liquor (パルプ廃液の処理工程で副生する <i>Candida utilis</i> 酵母 RNA の高度利用) (主査)
論文調査委員	教授 中坪文明 教授 大東肇 教授 島田幹夫

### 論文内容の要旨

本論文は、製紙原料であるパルプの廃液処理工程で副生する酵母RNAのファインケミカルズへの高度利用を試みたものである。酵母RNAを分解して得られる4種のヌクレオシド、すなわち、アデノシン、グアノシン、ウリジン、シチジンと、さらにこれらを分解することによって生じる4種の核酸塩基、すなわち、アデニン、グアニン、ウラシル、シトシン等を出発物質として、新規な化学構造を有し、かつ、抗ウイルス活性や抗腫瘍活性を有する有機化合物の創製を目指したものである。主な内容は以下のとおりである。

1. RNA由来の核酸モノマーであるウリジンを原料とし、この糖部分の2', 3'-位に存在する2つの水酸基を数段の有機化学反応を介することによって除去した。こうして得られた、2', 3'-ジデオキシウリジンと、種々のプリン塩基とを大腸菌 (*Escherichia coli*) を用いた塩基交換反応を介して、種々の新規2', 3'-ジデオキシプリンヌクレオシド類を合成することに成功した。試験管内実験によって、合成した化合物のいくつかは、トリのレトロウイルスであるRSV (Raus Sarcoma virus) やヒトのレトロウイルスであるHIV (Human Immunodeficiency Virus, エイズウイルス) の増殖を抑制する作用があることを見出した。

特に、6-クロロ-2', 3'-ジデオキシグアノシン (6-Cl-ddG) は、高い抗ウイルス活性と低い細胞毒性を兼ね備え、さらに、リンパ節や脳細胞への吸収が期待される特性としての高い脂溶性を有する優れた物質である。そこで、本物質をSK034と命名し、エイズ治療の臨床薬としての開発を進めた。

2. 抗ウイルス活性の判定は、プレート上で培養された細胞とウイルスとを用いる試験管内実験では容易であるが、生体を用いた場合には薬剤の効果を適正に判定することは難しい。その判定に免疫学的なパラメーターなどが用いられることもあるが、これはウイルス量の増減とは別の因子で変化することがある。最も信頼性があり客観的な方法は、薬剤の投与群と非投与群とを生存率で比較する方法であるが、非人道的であるためヒトの臨床試験では実行不可能であるし、また、サルを用いた前臨床試験においても、生死を判定材料とした実験は高価で現実的ではない。

そこで、SK034を臨床薬として開発するために、より实际的で簡便な抗ウイルス剤の効果判定方法の確立を試み、RT-PCR法を応用したウイルス粒子の直接カウント法を完成させた。本法を、実際の医療現場において、既存の抗ウイルス剤であるAZTやddIによって治療されている患者体内のウイルス量を測定したところ、薬剤の投与と同時にウイルス量が劇的に減少する事実を見出した。これにより、本法が薬剤の効果判定に有効であることが確認された。

サルエイズウイルス感染サルを用いた前臨床試験において、本法を用いてその効果を判定したところ、SK034投与と同時に体内ウイルス量が低下し、その効果は承認薬であるddIと同等であること、さらに、SK034は脳内ウイルスをも減少させることが判明した。ddIにはこのような効果が認められないことから、SK034が脂溶性薬剤であるが故に血液-脳関門を通過でき、脳内ウイルスの増殖を直接抑制した証拠であると考えられる。

3. SK034に代表される 2', 3'-ジデオキシヌクレオシド類の開発とは別に, PPASと総称する新規ヌクレオシドの合成研究も行った。PPASは, プリン塩基とプロリノール, 及び, アリールスルホニルクロライドより合成される。合成された新規な化合物群は, 先ず, HIV-1 (Virus)/MT4 (cell) を用いた第一次スクリーニングで, その効果を判定し, 興味深い抗ウイルス活性や細胞毒性を示したものについては, HCC-panelなどを指標とする抗癌スクリーニングに供した。その結果, 2, 6-diamino-PPASと 2-amino-8-bromo-PPASの二つの化合物に抗腫瘍活性を見出した。

## 論文審査の結果の要旨

近年の環境問題の高まりから, 廃棄物量の削減やリサイクル利用は地球的規模で広がりつつあり, 全社会に課せられた責務ともなっている。木材チップを亜硫酸パルプ法で蒸解する際に出る廃液は, そのまま垂れ流せば公害物質となるが, 蒸解廃液を酵母処理することで産業廃棄物は酵母RNAという工業製品へと生まれ変わる。

本論文は, この酵母RNAのさらなる高度利用を試みたものであり, 医薬品などファインケミカルズへの応用昇華を目指したものである。評価すべき点は, 以下のとおりである。

1. 酵母RNAをアルカリ加圧分解して得られるヌクレオシドを原料とし, 有機化学的手法と微生物的手法とを組み合わせることで種々の新規な 2', 3'-ジデオキシヌクレオシド類の合成に成功している。また, これらの生理活性の有無をトリのレトロウイルスであるRSVとヒトのレトロウイルスであるHIVを用いた評価方法で判定した。その結果, 抗ウイルス活性の見られた化合物の中から, 活性の強さ, 細胞毒性の低さ, 脂溶性などを指標として, SK034 (6-Cl-ddG) を新規な治療薬候補として見出ししている。

2. RT-PCR法を応用したウイルス粒子の直接カウント法を開発し, その適用性をエイズ治療の臨床現場において検証したところ, 患者に投与された薬剤の抗ウイルス活性が, 本法により客観的に測定しうることを実証している。また, サルとサルエイズを用いたSK034の前臨床試験においても本法を適用し, 薬剤投与時に体内ウイルスが劇的に減少することを確認している。

3. 核酸塩基と, 光学活性アミノアルコール, および, アリールスルホニルクロライドのカップリングにより斬新な構造を持った種々の化合物を創出し, そのうちのいくつかに抗腫瘍活性等の興味深い生理活性を見出ししている。

以上のように本論文は, パルプ廃液の処理工程で副生する酵母RNAを原料として種々の新規ヌクレオシド誘導体を合成し, その中より, SK034に代表される, いくつかの興味深い生理活性物質を見出し, また, 抗ウイルス剤効果の客観的評価法の確立を目的に, 新たにRT-PCR法を応用したウイルス粒子の直接カウント法を開発したものであり, 木材成分利用化学, 抗ウイルス学や臨床医学などへの寄与のみならず, パルプ産業への貢献も極めて大きい。

よって, 本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。なお, 平成11年2月12日, 論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果, 博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。