

氏名	有村博文 ありむらひろふみ
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第635号
学位授与の日付	昭和51年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Induction of Antiviral Activity in vivo and in vitro by Human Placenta RNA Treated with Nitrous Acid (亜硝酸処理を施したヒト胎盤 RNA による <u>in vivo</u> および <u>in vitro</u> における抗ウイルス活性の誘発)
論文調査委員	(主査) 教授 伊藤洋平 教授 東昇 教授 上坂一郎

論文内容の要旨

著者は抗ウイルス剤開発研究の一環として、毒性の弱いインターフェロン (IF) 誘発剤の検索に努力してきた。本研究は未だ報告のないヒト由来 RNA の IF 誘発能の有無を明らかにするを目的とする。

これまでに poly (I)・poly (C) のような合成 2 本鎖 RNA が強い IF 誘発能を有し、細胞に抗ウイルス活性を誘起することはよく知られているが、これらの 2 本鎖 RNA は毒性が強く臨床的に使用するに至っていない。一方 1 本鎖 RNA については一般に 2 本鎖 RNA に較べて IF 誘発能はほとんどないと考えられているが、近年脱アミノ化またはメチル化した 1 本鎖 RNA を細胞に与えた時、その細胞に抗ウイルス活性を賦与することが見出された。これらの研究はいずれも細菌や動物組織の RNA を用いて行なわれたもので、ヒト由来の RNA についての報告は未だない。もしヒト由来 RNA でも IF 誘発が可能であれば、異種 RNA を用いるよりもヒトに対して毒性の弱い IF 誘発剤となるかもしれない。著者の研究室では幸いヒト胎盤由来の RNA を大量に入手することができるので、この RNA の IF 誘発能を種々検索していたところ、これを亜硝酸により脱アミノ化して細胞に与えた時、その細胞に有意の抗ウイルス活性が出現し、且つ IF を誘発するようになることを見出した。本論文ではこれら一連の研究成果について報告する。要点は以下の通りである。

1. 亜硝酸処理 RNA (NO₂-RNA) の抗ウイルス活性

ヒト胎盤 RNA そのものは動物やヒト由来の培養細胞に与えた場合には、いずれの細胞においても抗ウイルス活性の出現を認めなかったが、亜硝酸処理した NO₂-RNA を与えた場合には HK 細胞 (ヒト腎由来 2 倍体細胞) において有意の抗ウイルス活性の出現を認めた。L (マウス皮下組織由来)、RK-13 (ウサギ腎由来) および FL (ヒト羊膜由来) の各細胞では HK 細胞の場合に較べて誘発される抗ウイルス活性は低く、かつ誘発される活性の程度は細胞の種類によって差異があることが判明した。

2. RNA の亜硝酸処理条件

ヒト胎盤 RNA を亜硝酸で処理する際の時間および亜硝酸濃度等の処理条件をしらべたところ、3M 亜

硝酸で25℃, 16時間処理したものに最も高い抗ウイルス活性誘発能を認めた。

3. NO₂-RNA の in vitro および in vivo における IF 誘発能

NO₂-RNA は各種細胞のうち HK 細胞においてのみ弱いながらも IF を誘発したが, NO₂-RNA をウサギやマウスの静脈内あるいは腹腔内に投与した際には, それらの血清中にかなりの IF 活性が検出できた。この IF 活性物質はいわゆる IF のクライテリア, 即ち①種特異性を有する, ②トリブシン感受性である, ③ウイルスに対する特異性を示さない, 等の性質から IF であると同定した。

4. NO₂-RNA の分子サイズと抗ウイルス活性の関係

NO₂-RNA を蔗糖濃度勾配遠心法により 4S, 18S, 28S に分画し各分画の活性をしらべたところ, 18S, 28S 分画に 4S 分画よりも高い IF 誘発能ならびに抗ウイルス活性の発現能が認められた。

5. 細胞に対する NO₂-RNA の毒性

NO₂-RNA は未処理の胎盤 RNA と同様に 300μg/ml という高濃度でも HK 細胞の増殖にほとんど影響を及ぼさなかった。これは 1μg/ml の濃度で細胞増殖を著しく阻止する poly (I)・poly (C) に較べて極めて低い毒性といえる。

以上の結果は, ヒト由来の RNA 脱アミノ化によって IF 誘発能を保持し得ることを示唆している。この事は今後, 毒性が弱くかつ有効な IF 誘発剤開発の足がかりとなり得るものと思われる。

論文審査の結果の要旨

ヒト胎盤由来の RNA を亜硝酸により脱アミノ化して種々の動物細胞に与えた時, その細胞に有意の抗ウイルス活性が出現し, 且つインターフェロン (IF) を誘発することを見出した。

1. 亜硝酸処理 RNA (NO₂-RNA) の抗ウイルス活性: NO₂-RNA を HK, L, RK-13, FL 細胞等に与えた場合には HK 細胞で最も強い抗ウイルス活性が認められた。

2. NO₂-RNA の IF 誘発能: NO₂-RNA は HK 細胞においてのみ IF を誘発したが, NO₂-RNA をウサギ, マウスに投与した際には血清中にかなりの IF 活性を検出できた。この IF 活性物質はこれまでの「IF クライテリア」を満足する諸性状を有するので IF と同定した。

3. NO₂-RNA の分子サイズと抗ウイルス活性の関係: NO₂-RNA の分画, 4S, 18S, 28S のうち後 2 者の分画に高い IF 誘発能と抗ウイルス活性を認めた。

4. HK 細胞に対する NO₂-RNA の毒性: NO₂-RNA の毒性は Poly (I), Poly (C) のそれに較べ著しく低かった。以上の結果はヒト由来の RNA も脱アミノ化によって IF 誘発能を保持し得ることを示している。この事は今後, 毒性が弱くかつ有効な IF 誘発剤の開発に寄与するところが多い。

よって, 本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。