

氏名	いわ 田 あきら 岩 田 晃
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第1147号
学位授与の日付	平成元年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科化学専攻
学位論文題目	インターフェロン作用の研究—細胞増殖制御における役割および感受性変異株の受容体の解析

(主査)
論文調査委員 教授 伊藤維昭 教授 徳重正信 教授 松井正和

論 文 内 容 の 要 旨

インターフェロン（以下 IFN）はウイルス感染などの刺激で生産され、細胞に対して抗ウイルス状態の誘導、増殖抑制、免疫反応の制御など多面的な作用を及ぼす蛋白性の因子であり、細胞表面のレセプターに結合することによって（2'-5'）オリゴアデニル酸合成酵素（以下2-5 A 合成酵素）をはじめ種々の酵素、蛋白質を誘導する。申請者は多様な IFN の生物活性について培養細胞を用いた解析を行った。

主論文は3部より成っている。第1部ではヒトの腫瘍由来 HeLa S3細胞を用いて IFN の細胞増殖阻害効果について解析した。増殖中の HeLa S3細胞を血清を含まない培地に移すと増殖が抑制される。このあと血清、血小板由来増殖因子、上皮細胞増殖因子、インスリンなどの増殖因子を加えると2-5 A 合成酵素が誘導されることを見だし、2-5 A 合成酵素の誘導が増殖促進と相関することを示した。増殖因子による刺激により、IFN- β は活性測定やノーザン法による mRNA の定量では検出できないほど少量しか誘導されなかったが、2-5 A 合成酵素誘導の原因物質であると結論された。これは、2-5 A 合成酵素の誘導が抗 IFN- β 中和抗体の共存によって特異的に抑制されることから示された。

次に増殖が促進されるべき条件下で、増殖抑制作用を持つ IFN が誘導されることの意味を調べた。無血清培地での培養により増殖が抑制されていた細胞は血清（増殖因子）添加によって同調的に増殖を開始し、DNA 合成のピークが12時間後と32時間後に観察された。また2-5 A 合成酵素の誘導は2つの DNA 合成のピークの間に観察された。増殖促進と同時に抗 IFN- β 抗体を加え、誘導される IFN- β の活性を中和（2-5 A 合成酵素の誘導を阻害）すると、最初の DNA 合成のピークにはなんら変化がなかったが、次の DNA 合成のピークが増強された。したがって、増殖刺激で誘導される IFN- β は細胞増殖のフィードバック阻害メカニズム関与しており、2-5 A 合成酵素がその作用の一端を担っていると考えられた。

分泌された作用物質が分泌細胞自身、または近傍の同種の細胞に作用する場合をオートクリン作用と呼ぶ。第1部で解析した IFN- β の作用はこのオートクリン作用と考えられる。HeLa S3細胞では極く少量の IFN- β がオートクリン作用を担っていると考えられたので、第2部では量的な観点から検討を加えた。

HeLa S3細胞の IFN- β 生産量は、培地への添加により 2-5 A 合成酵素の誘導や DNA 合成の阻害を引き起こさせるのに要する INF 量に比べ少なく、また無血清培養という操作によって HeLa S3細胞の外来 IFN- β に対する感受性が高まることはないことを確認した。一方、IFN 誘導能の高い合成二重鎖 RNA で誘導したときの IFN のオートクリン効果（抗ウイルス活性）を抑制するのに要するシクロヘキシミド（蛋白合成阻害剤）や抗 IFN 抗体の濃度も、培地中に加えた IFN の効果を抑制するのに要するものより高いことが判明した。

第 3 部では IFN- r に対して感受性が異なる 2 種の細胞、マウス白血病由来 L1210 Sg 細胞株と L1210 m 細胞株の性質を比較することによって IFN- r の作用について検討している。水疱性口内炎ウイルスの増殖抑制を指標とすると、L1210 Sg 細胞株は L1210m 細胞株の 500 倍の濃度の INF- r を必要とした。この 2 種の細胞の種々の性質を比較し、低感受性の原因を探った。両細胞で細胞表面の IFN- r に対するレセプターの数や解離定数に差はなかった。IFN は細胞表面のレセプターに結合し、その後細胞内に取り込まれ分解される。この IFN の内在化過程について検討した。37°C で細胞に IFN を作用させると、L1210 m 細胞では IFN の細胞への結合量は最初は増加するが、ピークに達した後減少（内在化）した。L1210 Sg 細胞では細胞に結合した IFN- r の減少が顕著には認められなかった。以上の結果から、L1210 Sg 細胞の低感受性の原因は、細胞に結合した IFN- r の細胞内侵入・分解過程にあると推論された。

参考文献 2 はマウス T 細胞のクローンから IFN- r を精製した成績について述べたものであり、参考文献 1 は血清中の 2-5 A 合成酵素の活性を指標に IFN 投与の効果を調べた結果を示したものである。

論文審査の結果の要旨

インターフェロン（以下 IFN）の生物作用は多岐にわたっており、その作用を担う因子についての分子レベルでの解析は現在活発に研究されている分野であり、IFN の臨床応用の面からも重要性が増している。申請者は IFN の細胞増殖阻害効果と細胞表面のレセプターに関する研究を行った。

第 1 部では腫瘍細胞である HeLa S3細胞を増殖促進した際、微量の IFN- β が誘導され、それを介して 2-5 A 合成酵素が誘導されることを示した。今までよく知られている IFN 誘導物質はウイルス、合成 RNA などの外因性の物質であったが、増殖因子は内因性の生理活性物質であり、申請者の結果は、生体内で IFN がウイルス感染とは独立に恒常的な調節作用をしていることを示唆する重要な知見である。最近、正常細胞で増殖促進と並行して IFN が誘導される例がいくつか報告されているが、申請者の研究はこれら一連の研究のなかでも、細胞周期にまで立ち入った解析を行った点で一步先んじており、IFN の持つ細胞増殖抑制機能の理解に重要な貢献をなすものである。すなわち、増殖促進を受けた HeLa S3細胞から産生される IFN- β を抗体を用いて中和すると、DNA 合成がさらに促進されること、しかもこれが最初の周期には影響せず、2 番目の周期に特異的に作用することを明らかにした。このような、細胞周期の間の相互調節機構の存在は、増殖制御の研究に重要な視点を提供するものである。

増殖因子で誘導される IFN の生理的な意義は、申請者も述べているように細胞増殖のフィードバック阻害であると考えられる。腫瘍細胞の無制限な増殖の原因の 1 つは増殖のフィードバック阻害機構の欠陥にあると考えられるので、あえて同調化の困難な腫瘍細胞を解析対象としている点も評価される。

第2部では、オートクリン作用では、外部からの添加によって作用させる場合よりも少量のIFNが効果を持つことが示されている。生体内の神経系、免疫系で生理活性物質が作用する場合、オートクリン作用が重要であると考えられるが、解析があまり進んでいない。その理由には作用因子が少量であるためや、生体内では多種類の細胞集団と生理活性物質が混在していることなどが考えられる。申請者の結果は、2-5 A 合成酵素の誘導を指標として、極く少量のIFN作用を探ることが可能であることを示している。また、参考論文の2では、臨床投与したIFNの作用を測定するために2-5 A 合成酵素活性を調べることが有意義であることを示している。

第3部で申請者は、IFN- γ の抗ウイルス効果に対する感受性を異にする2種の同起源の培養細胞の性質を比較し、IFN- γ の抗ウイルス効果の作用発現に重要な細胞内過程を同定しようと試みた。その結果、IFNによる細胞増殖阻害効果に関しても、2-5 A 合成酵素の誘導に関しても、細胞表面上のレセプターの数や結合力に関しても差は見られなかったが、IFN分子がレセプターに結合した後の処理過程に差を見いだしている。IFNの結合後に起こる諸過程は、細胞が外部の信号分子に対して反応するメカニズムに関係していると思われる。このような機構の細部に関しては不明な点が多いが、IFNの結合がレセプターを活性化し、細胞内作用物質であるセカンドメッセンジャーを生じさせるという考えや、内在化したIFN分子やレセプターがより直接的に作用するというモデルがある。申請者の結果は後者のモデルと整合性が高いが、レセプター結合後の処理過程については今後の詳細な解析が期待される。IFNのレセプターには、 α 、 β 型に共通なタイプと、 γ 型に特異的なタイプの2種類が知られているが、これらの細胞株は α 、 β 型IFNの抗ウイルス作用に対して感受性を有するので、その差は抗ウイルス作用そのものが発揮される過程ではなく、それに先立つIFN作用の初期過程にある。このような知見は、IFNの細胞内への信号伝達のメカニズム解析に有用な実験系を提供するものとして高く評価できる。

以上により、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。

なお、主論文及び参考論文に報告された研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。