

氏 名	山 本 洋 子 やま もと よう 子
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	論 薬 博 第 187 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 11 月 24 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	マウスL細胞インタフェロンの研究

論文調査委員 (主査) 教 授 山 科 郁 男 教 授 高 木 博 司 教 授 矢 島 治 明

論 文 内 容 の 要 旨

インタフェロン (interferon, If とする) は、ウイルス感染に伴って動物に見出される、抗ウイルス作用を有する物質である。If は抗体とは異なる特徴を有し、多くのウイルスに対して有効であり、抗ウイルス剤としての利用について、現在、具体的な検討が進められつつある。しかし、If の化学的本体は、まだ充分には解明されていない。

この研究は、If を精製し、その化学的性状を明らかにすることを目的とする。

If は極めて微量で抗ウイルス活性を示し、存在量も極めて少いため、先ず、できるだけ高力価、高比活性の If 粗材料を一定に得る方法を検討した。

マウス L 細胞の単層培養に、ニューカッスル病ウイルスを感染させることにより、比活性 $0.3 - 1 \times 10^6$ 単位/mg 蛋白の If を、培養液中に $1 - 2 \times 10^4$ 単位/ml 得る方法を確立した。

この培養液を粗材料として精製法を検討し、酢酸亜鉛沈澱による濃縮、DEAE および CM・セファデックス・カラムクロマトグラフィーによる精製を行い、比活性 2×10 単位/mg 蛋白の部分精製 If を得た。

この試料を pH4.3 および pH2.9 のポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) で分析した結果、If は移動度の異なる二つの分子種よりなること (移動度の速い方を If (F)、遅い方を If (S) とする)、まだ多くの不純蛋白を含むことが分った。しかし、ウイルス非感染細胞の培養液を同様に処理した試料では認められない、If 活性をもつ蛋白バンドが認められた。If (F) 活性ピークの比活性は、すくなくとも 3×10^6 単位/mg 蛋白と推定された。

以上の結果に基づき、さらに大量の粗材料を用いて精製を進めた。また上記精製法に硫酸分画沈澱を加えるなどの改良を加え、比活性 7×10^7 単位/mg 蛋白の If 試料を得た。更にこれを Bio-Gel P³⁰ を用いてゲル濾過し、If の二分子種 (If (F) および If (S)) に相当する画分 (I および II) を得た。

両画分を pH4.3-PAGE および Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)-PAGE で分析した。画分 I の If 活

性ピークは If (S) のみよりなり、これに対応する蛋白バンド (SDS-PAGE で 1 本, pH4.3-PAGE で 2 本) が認められた。この画分は不純蛋白も含むが, pH 4.3-PAGE によって If 活性ピークから分離することができた。一方画分 II の If 活性ピークは If (F) のみよりなり、これに対応する蛋白バンド (SDS-PAGE で 1 本, pH4.3-PAGE で 2 本) が認められ、不純蛋白のバンドは認められなかった。

If 活性は熱に不安定であるが, SDS 共存下では安定化され, SDS-PAGE で分析する際, If 活性の定量が可能であった。

精製試料の分析結果から, If は中性ないし弱塩基性の蛋白あるいは糖蛋白と考えられた。

If 二分子種の分子量は, SDS-PAGE の結果から, If (F) 2.4×10^4 dalton, If (S) 3.6×10^4 dalton と算定した。それぞれが 1 本のペプチド鎖よりなると推定された。

等電点分画や, レクチンセファローズ・カラムへの結合度から, If (F) および If (S) は, 電荷や糖鎖について, 互いに異なる性状を有すること, また, If (F), If (S), それぞれが電荷あるいは糖鎖に関して多型であることが示唆された。

If (F), If (S) いずれもトリ胚細胞では抗ウイルス作用を示さず, If 活性に特徴的な種依存性を示した。

上記の精製の結果より, If の比活性は, すくなくとも 10^9 単位/mg 蛋白と考えられる。If の分子量およびこの値を用いて, ウイルスのプラーク数を 50% 減少させるために必要な If の分子数を計算すると, 細胞 1 個あたり, 数 10 分子 (あるいはそれ以下) に過ぎないことになり, If は生物活性の極めて高い物質であることが明らかである。

以上の結果から, ウイルスで誘起して得られるマウス L 細胞 If の二分子種について, それぞれを精製・単離できることが明らかとなった。If の研究は, 現在, 抗ウイルス活性を指標として進められているが, 本研究により今後, If を物質のレベルで検討することが可能となった。

論文審査の結果の要旨

インタフェロンは独特な機作によって動物細胞から産生され, その抗ウイルス活性の故にウイルス感染による疾病の予防と治療に著効をあらわす可能性をもっている。しかし, 細胞が産生するインタフェロンは極めて微量であるため, その化学的全体, 化学的性質と抗ウイルス作用との関係などについての研究は極めて困難であり, 十分な研究はなされていない現状にある。

本論文においては, 比較的多量にインタフェロンを産生するマウス L 細胞—ニューカッスル病ウイルスの系を用いてインタフェロンを精製し, その化学的全体などについて価値ある知見を得たものである。

精製としては, 酢酸亜鉛による沈澱法, ゲル 3 過, イオン交換クロマトグラフィーなどを攻妙に組み合わせ, 効果的な精製を得ている。

その結果, 従来の知見と異なり, インタフェロンが電気的性質の異なる 2 種の分子を中心とする多分子であること, また全体が糖タンパク質であることなどが明らかになった。精製試料のゲル電気泳動において活性と対応するタンパク質の存在が認められ, 精製が高度に行なわれたことが分る。比活性は極めて高く, 細胞 1 個当たり数 10 分子またはそれ以下で作用を発揮する生理活性物質であることが如実に

示されている。

以上の成果は、インタフェロンの化学的本体の解明に迫るものであり、今後、医薬としてのインタフェロンの利用に関して基礎研究としての価値を有するものである。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。