The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Rous肉腫のフェノール抽出物中のインターフェロン産生物質 |
| Author(s) | 佐藤, 光信 |
| Citation | 大阪大学, 1969, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/29655 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【4】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 佐藤光信（さとう みつのぶ） |
| 学位の種類 | 歯学博士 |
| 学位記番号 | 第 1666 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和44年3月28日 |
| 学位授与の要件 | 歯学研究科歯学臨床系<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 論位論文題目 | **Rous 肉腫のフェノール抽出物中のインターフェロン産生物質** |
| 論文審査委員 | (主査)<br>教授 川勝 賢作<br>(副査)<br>教授 小谷 尚三 教授 竹田 義朗 |

## 論文内容の要旨

腫瘍ウイルスによる細胞の transformation の機構については，現在なお不明の点がきわめて多い。この問題を解明する手段の一つとして，腫瘍ウイルスまたは腫瘍組織から抽出した核酸の生物学的活性についての研究が行なわれている。著者も，RNA ウイルスである Rous 肉腫ウイルス (RSV) によりニワトリ胎児漿尿膜 (CAM) 上に発生した腫瘍組織から抽出した RNA の粗標品の感染性を検討中，このもので処理したニワトリ胎児細胞 (CEC) の単層培養では RSV のフォーカス形成能が低下し，また培養液中に RSV の CEC での増殖を抑制する因子が産出されていることに気付いた。

この論文では，このような抑制物質の産生を induce する因子，および産生される抑制物質の本態を明らかにする目的で行った研究の結果が述べられている。

実験に用いたニワトリ胎児細胞は RIE free の受精卵を孵化してえたもので，常法によってえた細胞を Eagle の基礎培地に tryptose phosphate broth (Difca)，および仔牛血清をそれぞれ10および5％となるように加えた培養液中で培養した。

RSV は Bryan の high titer strain で，ウイルス力価の測定は，フォーカスおよびポック算定法によった。なお産生された抑制物質が CEC 以外の細胞，あるいは他のウイルスに対して作用するかどうかを調べるために，それぞれ L細胞，ならびに Vesicular stomatitis virus (VSV) あるいは Sindbis virus (Sb) を用いた。VSV, Sb の力価はプラック算定法によって測定した。

研究の出発材料であるフエノール抽出物は，CAM に RSV を接種した。12日孵化卵を 38°C で7日間 incubate し，CAM 上に生じた腫瘍組織から冷フエノール法により作製した。RNA と多糖類との分画には，Kirby および Westphal の方法を利用し，また cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) を用いてヒアルウロン酸を精製した。各画分に RSV 増殖抑制物質を CEC で産生させる活性があるかどうかは，これらの画分で処理した CEC の培養液を培養の 2 日間後に採取し，0.05 M

KCl-HCl 緩衝液 pH 2.0, Dulbecco's PBC, ついで Eagle の培養液に対して24時間ずつ透析したものの内液を 100,000×g 2時間超遠心した上清について調べた。

酸性ムコ多糖類およびウロン酸の定量にはそれぞれ Bollet の方法およびカルバゾール反応の Bitter による変法を使用した。またヘキソサミンは Elson-Morgan 法の Boas の変法で定量し，RNA 量は Mejbaum のオルシノール反応および紫外部吸収法によって測定した。

この研究で明らかにされた結果を要約すると，つぎのようである。

1. CEC を Rous 肉腫のフエノール抽出物あるいはその画分で処理することによって産生されたウイルス増殖抑制物質は，透析膜を通過せず，56°C 20分間の加熱に耐え，pH 2.0 に安定であるが，タンパク分解酵素処理によってその活性を失った。また cell species specificity を示したが，virus specificity を有せず，Actinomycin D によってその作用や産生が阻止されるなど，インターフエロン（IF）に一致する特性を示した。

2. フエノール抽出物の示す IF 産生能は RNase 処理によって失われず，また抽出物を分画してえた RNA および多糖類について，IF 産生能をしらべた結果，CEC 処理によって IF を産生させる活性因子は核酸ではなく，多糖類であることが明らかとなった。

3. IF 産生能を有する多糖類は，ほぼ等モルのウロン酸とヘキソサミンとを含み，そのウロン酸の90%以上がプロタミンによって沈澱する，酸性ムコ多糖類で，しかも toluidine blue や Azur A との反応で metachromasia を呈さず，またヒアルウロニダーゼ処理によってその IF 産生能を完全に失なうことが示された。一方フエノール抽出物より CTAB を用いて精製，分離したヒアルウロン酸画分にも IF 産生能がみとめられた。

この論文では，以上の実験結果から，ニワトリ胎児の漿尿膜上に発生した Rous 肉腫のフエノール抽出物にはインターフエロンの産生を induce する因子が存在し，この因子がヒアルウロン酸またはその類似物質であることが結論されている。

## 論文の審査結果の要旨

本研究者は，Rous 肉腫のフェノール抽出物にインターフェロンを産生させる活性のあることを確認し，かつこの活性が酸性ムコ多糖類画分に局在し，またヒアルウロニダーゼ処理により破壊されることを示した。

このように新しい型のインターフェロン産生物質が存在するという重要な知見をもたらした点で，この研究はきわめて価値ある業績と考える。

よって，本研究者は歯学博士の学位を得るに十分な資格があるものと認める。