

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 伊地知 功史

本研究はアヒル B 型肝炎ウイルス (DHBV) の肝細胞内増殖過程において、インターフェロン (IFN) 誘導体として知られているミスマッチ 2 本鎖 (m-dsRNA) の抑制効果を明らかにするため、DHBV に感染したアヒルを用いた実験系と DHBV 感染アヒルの肝細胞を使用した実験系で解析を試みたものである。さらに DHBV に対する抑制効果が知られている既知の核酸アナログ (D-FMAU) との比較検討も行い、下記の結果を得ている。

1、m-dsRNA 単回投与により、投与した全てのアヒルの血液中 DHBVDNA 量の減少が認められた。スポットハイブリダイゼーション法により血液中の DHBVDNA 量を定量化し、その経時的変化率の解析を行った結果、m-dsRNA 投与群は対照群に比べ約 50～80% の抑制が認められ、有意な DHBVDNA 量の減少を示すことが明らかとなった。また、肝組織における DHBV 複製に対する作用を調べた結果、m-dsRNA 投与アヒルの全例で DHBVDNA の合成抑制が認められ、m-dsRNA は DHBV 持続感染アヒルにおいて DHBVDNA 複製の抑制作用を有することが明らかにされた。

2、IFN 活性は m-dsRNA を投与した全てのアヒルにおいて認められた。また、2'-5' オリゴアデニル酸合成酵素活性も、IFN 活性の極値後から高い活性が認められ、m-dsRNA 投与により DHBV 感染アヒルの末梢血液中に IFN および 2'-5' オリゴアデニル酸合成酵素活性が誘導されることが示された。

3、m-dsRNA の連続静脈内投与により、投与終了時には全てのアヒルで血液中 DHBVDNA 量の低下が認められた。また、一部のアヒルには投与終了後においても持続的な抑制作用が示され、m-dsRNA の連続投与により、単回投与では認められなかった DHBV 複製の持続的な抑制

を示すことが明らかとなった。

4、DHBV感染初代肝培養細胞のm-dsRNA添加培養では、濃度依存的にDHBVDNA複製の抑制が認められ、さらに、m-dsRNAの抑制作用は化合物添加中止後、持続的に抑制することが明らかにされた。D-FMAU添加培養ではm-dsRNAに比べ強いDHBVDNA複製の抑制が得られたが、m-dsRNAで示された持続的抑制は認められず、両者の化合物におけるDHBVDNA複製抑制作用機序の相違が示された。

5、DHBV感染初代肝培養細胞系を用いてDHBVRNA転写に対する抑制作用を検討した結果、m-dsRNAは主としてDHBVRNA転写阻害を、D-FMAUは主としてDHBVDNA複製阻害をきたす事が明らかとなった。

以上、本論文はDHBVの増殖過程において、DHBVDNAとDHBVRNAの複製転写時の解析から、m-dsRNAがDHBVDNAの複製を阻害するのみならず、DHBVRNA転写阻害を強力に抑制することを明らかにした。本研究は、DHBVの複雑な複製過程においてm-dsRNAが、D-FMAUなどの核酸アナログとは異なるユニークな抑制効果を示すことを示し、肝炎ウイルスに対する治療薬の標的選択に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。