インターフェロン

——生産機構とインターフェロンによる細胞の抗ウイルス性獲得の機構——

金沢大医学部がん 飯 田 克 平*

研究施設生化学 “ 石 浜 明*

ウイルス増殖過程においては、ウイルスの遺伝情報の新しい発現、宿主細胞の生合成過程の停止など、物質代謝の調節機構が時間的経過にともなって発現していく。この過程において、ウイルスの遺伝情報にもとづいてウイルス粒子素材を始め、関連物質が合成される。これとは対照的に、動物ウイルス感染細胞においては、バクテリオファージ感染系ではみられない現象——ウイルス増殖阻止因子、インターフェロンの生産とそれによる感染ウイルスの増殖阻止——がみられる。このインターフェロンの生産はウイルス感染によって誘導された宿主細胞の遺伝情報の新しい発現によるものである。この事実は、ウイルス・宿主細胞間の相互作用の解明を新しい観点から取り上げることが可能にした。

別の角度からみると、この現象は動物細胞の遺伝情報の停止と発現を意味し、インターフェロンという機能的蛋白質の合成をその指標としている。またインターフェロンの作用をうけて動物細胞が抗ウイルス性を獲得する過程には新しい伝令 RNA と蛋白質の合成を必要とするという報告の立場にたつならば、ウイルス感染によるインターフェロンの誘導と、インターフェロンによる細胞の抗ウイルス性獲得という二段階の遺伝情報の発現が、調節因子的機能をはたすインターフェロンを介して連携していると判断される。さらにインターフェロンのウイルス増殖阻止の作用機能に関する研究の結果、動物ウイルスの増殖が RNA 合成の段階で第一次的に阻止されることが明らかになり、ウイルス核酸の遺伝情報の発現阻止の物質過程の解明が可能になってきたように思われる。

インターフェロン誘導能は動物ウイルスに固有の性

Interferon;

※ Katsuhira IIDA, Akira ISHIHAMA: Biochemistry Division, Institute of Cancer Research, School of Medicine, Kanazawa University

質と考えられてきたが、現在ではもっと広い範囲の微生物および生体物質がインターフェロン誘導能をもつことが明らかにされた。^{2,7,8)} おそらく、インターフェロンによる生体防禦機構は微生物感染因子に対して普遍的に作用する機能をもっているものであって、微生物感染因子に対して、特異的な抗体を生産して、生体を防禦する免疫機構とならんで、非特異的に感染因子に作用するこのインターフェロン系の防禦機構は、生体の防禦反応全体の中で、重要な役割をはたしていると考えられる。実際抗体が生産される以前にインターフェロンがウイルス増殖阻止にはたらくことが示されている。⁹⁾ またインターフェロン生産能は少くとも哺乳類・鳥類の動物細胞のもつ普遍的な機能と考えられているが、細網内皮系 (reticulo-endothelial system) の細胞のインターフェロン生産能が比較的高いことが報告され、¹⁰⁾ インターフェロン生産の問題も解明さるべき課題となってきた。こうした事実は、外来微生物感染因子に対する防禦機構の総体的な理解のためにはインターフェロンによる防禦反応機構の解明が必要となってきたことを示している。将来進化的な立場から生体の感染防禦の機構の歴史的な形成過程を統一的に理解するために重要な基盤を与えるであろう。

すでにインターフェロンに関するいくつかの総説が発表されており*、またインターフェロンによるウイルス増殖阻止機構についての最近の進歩はわれわれの研究グループの発表および総説**にのべられているの

* インターフェロンに関する総説としては次のようなものが考えられる。

小田昌彦: 蛋白質・核酸・酵素, 8, 330 (1963)

野島徳吉: ウイルスの生物学 (川喜田編) 165 岩波書店 (東京, 1965)

R. R. Wagner: Ann Rev. Microbiol., 17, 285 (1963)

M. R. Hilleman: J. Cell. Comp. Physiol., 62, 397 (1963)

A. Isaacs: Ad. Virus Res. 21, 1 (1963)

** 大野真介: 蛋白質・核酸・酵素, (1966)

で、ここでは主として、未解決の多くの問題を含むインターフェロン生産機構およびインターフェロンによる細胞の抗ウイルス性獲得の機構の問題を中心にして現状を整理してみたい。なお、インターフェロンという場合、私達はいまのところ次の様に理解している。動物ウイルスその他の微生物感染因子またはある種の生体高分子によって誘導される宿主細胞由来の蛋白性の因子でウイルスの細胞内増殖を阻止する*（ウイルス粒子に直接作用しない）。その作用は強い種特異性と幅広い抗ウイルス性によって特色づけられる。

I インターフェロンの精製と化学的性質

1957年, Isaacs と Lindenmann が不活化インフルエンザウイルスで処理されたニワトリ胚しょう尿膜の培養液は活性インフルエンザ・ウイルスの増殖を阻止する能力をもつという事実を報告した。¹¹⁾ pH 2 の領域で安定であること、超遠心によって沈澱しないことから、不活化ウイルス粒子と区別されるトリプシン感受性の蛋白性の物質によってこの現象が引き起こされたと考え、その物質をインターフェロンと呼んだ。Isaacs らの発見した事実に類似した現象は、日本の長野らを始め、相前後して多数報告されている。^{12,13,14)}

動物ウイルス間の干渉現象、とくに不活化ウイルスと活性ウイルスの間にみられる干渉現象は多くの研究者の注目を集めてきたが、ここにウイルス干渉現象の一部の機構を解明する物質的基礎が与えられるにいった。¹⁵⁾ ** 実際、現在では後でのべるように、動物ウイルス以外の微生物によっても、インターフェロンが生産されることが明らかにされた。これら諸インターフェロンは互いに若干の性質をことにするので、ここでは、研究の進んでいるウイルス刺激によって誘導合成されたインターフェロンの精製と化学的性質についてのべる。

Lampson らはインフルエンザ感染ニワトリ胚のしょう尿液から出発して、4000倍に精製した。¹⁶⁾ 彼らは共存蛋白の酸沈澱、 Zn^{++} との結合によるインターフェロンの沈澱、CM-セルローズカラムクロマトグラフィー、電気泳動を利用して 50 μ l のしょう尿液（約 250 g の蛋

白、5000コの卵）から出発して 2~3 mg 以下の精製インターフェロンをえた。^{*} 彼らのえた最終標品の純度に関する記載はないがなお、他の不純物を含む可能性は否定できない。最近、Merigan らは類似の方法でインターフェロンを精製した。¹⁸⁾ それによれば、ウイルス刺激によって誘導されたインターフェロンは、ニワトリ胚、ハツカネズミ血清、ヒト血清、ハツカネズミ、ヒト、ニワトリの各培養細胞等その由来と無関係に、ほとんど類似の方法で精製できると報告している。彼らはニワトリ胚しょう尿液インターフェロンについて約6500倍に精製、 10^5 unit/mg protein のものをえたが、なおポリアクリルアミド・ゲル電気泳動で少なくとも4成分に分れるので、最低 10^6 /mg protein までは精製されるのではないかと推定している。また Fantès は最近の速報において、以前の方法を改良して、にわとりのインターフェロンを10,000倍に精製し、 10^6 unit/mg protein の標品をえ、ゲル電気泳動的に均一であったと報告している。¹⁹⁾ 彼らのえた標品の性質のくわしい報告はまだなされていない。Lampson および Merigan らの報告にしたがって精製インターフェロンの性質を表1にまとめた。

表 1. 精製ニワトリインターフェロンの性質

1. 蛋白分解酵素感受性
2. pH 安定性: pH 2~10で安定
3. 耐熱性: 56° , 1時間で, 25%失活
 86° , 1時間で, 75%失活
4. 凍結融解で失活
5. Cysteine, β -mercaptoethanol により失活
6. ガラスその他へ吸着, tween 80などにより脱離
7. Zn^{++} との可逆的結合により沈澱
8. 非透析性
9. 分子量 (推定) 26,000~36,000
10. 等電点 (推定) pH 6.8

表2には、Merigan らの研究¹⁷⁾にしたがって、ウイルス刺激によってえられたハツカネズミ、ニワトリ、

* 通例、インターフェロンの活性は、培養細胞に対する動物ウイルスのプラーク形成を50%阻害したとき 1 unit として表現する。インターフェロンに関する研究は哺乳類、鳥類の動物を用いた場合にかぎられているので、以下この論文で、動物という場合はこれらの類に属する動物をさす。

** 前述の小田昌彦の総説にくわしくのべられている。

* 彼らの論文には、最終標品についての分析の結果が報告されている。それによれば主成分は蛋白質で約7%のアルギニンと11%のリジン、約2%のチロシン、トリプトファンを含むが、アミノ酸の完全分析は報告されていない。痕跡の糖成分を含むが核酸は存在しなかった。また粗インターフェロン標品を用いた実験結果にもとづいて Isaacs はインターフェロンは核のエネルギー代謝を阻害するという仮説を提唱したが¹⁷⁾、Lampson らは精製インターフェロンは、ミトコンドリアの酸化的磷酸、化癌細胞、培養細胞の糖代謝にほとんど影響を与えなかったとしている¹⁶⁾

表 2. ウイルス刺激によりえられたインターフェロンの性質の比較

	ニワトリ (<i>in vivo</i>)	ハツカネズミ (<i>in vitro</i>)	ヒ ト (<i>in vitro</i>)
分 子 量 (推定)*	38,000	26,000	26,000
等 電 点	pH 6.75~7.0	左に同じ	左に同じ
安 定 性 pH (2~10)	安 定	安 定	安 定
熱 (56°, 60分)	20%失活	60%失活	—
8M Urea	安 定	失 活	—
β mercapthoethanol	失 活	失 活	失 活

ヒトの精製インターフェロンの性質が示されている。三種のインターフェロンはいずれも分子量 3×10^4 前後のはば中性の蛋白質で、pH に対する安定性、SH 化合物による失活等の共通した性質をもっている。しかし、蔗糖密度勾配遠心ではほぼ同一の沈降（推定分子量 2.6×10^4 ）を示すにもかかわらず、Sephadex を用いた分子ふるいでは大きさのちがいを示すこと、また、8M urea に対する安定性、熱安定性の差異は、種のことになったインターフェロンは、互いに極めて類似した蛋白構造をもちながらも、わずかのちがいが、これらの諸性質のちがいに反映しているように思われる。

なお、先にのべた Lampson らの報告では、²⁰⁾ インターフェロンが好塩基性の蛋白であることが強調されているが、その後の研究の結果少なくとも、にわたりのウイルス刺激インターフェロンは中性の蛋白質であると考えられるにいたった。^{18, 20)} 誘導因子が RNA 型ウイルスによると、DNA 型ウイルスによるとにかかわらず、にわとり胚しょう尿液から精製したインターフェロンは同一の性質を示した。このことは、どのようなウイルスによっても、刺激をうけた細胞は一種のインターフェロンのみを生産することを示唆し、またインターフェロンの広い抗ウイルス性とも照応しているように思われる。

現在では、大量の粗インターフェロン標品から出発するならば、均一インターフェロンをうることも可能となったので、種特異性と構造、作用と構造との関係に関する研究の発展も期待される。

以上の研究とはちがって、非蛋白性のインターフェロンをえたという報告がある。長野らは、ワクチニアウイルス感染ウサギ皮膚よりインターフェロンを精製し、糖蛋白と分子量 10^4 程度の多糖類との二種のインターフェロンをえ、後者はウサギ培養細胞ではその作用を示さず、ウサギ皮膚においてのみその活性を測定できると報告している。^{21, 22)} また Davies はインフルエンザ感染後培養細胞より塩酸酸性エタノールにより抽出

して非蛋白性のインターフェロンをえたと報告し、²³⁾ アルブミンとの結合を論じている。これらの研究と、先にのべた Lampson らの研究結果との差異について結論を出すことは困難であるが、蛋白性のインターフェロンとならんで多糖類生のインターフェロンの存在の可能性、Daies, 長野らのいうインターフェロンがインターフェロン誘導能を有する多糖類である可能性等が考えられる。

II インターフェロン生産機構

a. ウイルス刺激によるインターフェロンの生産

Isaacs の最初の仕事以来、試みられたほとんどの動物細胞—ウイルスの系でインターフェロンの生産されることが報告されている。²⁴⁾ しかし実際にえられたインターフェロン標品の活性は誘因として用いたウイルスの種類、インターフェロン生産細胞の種類によってことなる。その一例として Gifford らの研究の結果を表 3 に示した。

同一の培養細胞を用いても、誘因としてチクングニアウイルスを用いた場合はワクチニアウイルスを用いた場合の 40~200 倍以上の活性のインターフェロン標品がえられることを示している。今のところ、このような活性の差を生ずる理由を明確に説明することはできない。おそらく感染細胞内の諸物質代謝の変化——ウイルス感染後の宿主細胞の核酸・蛋白質合成・分解の変化、ウイルスの一段階増殖の時間および増殖率、ウイルス標品中の不活性粒子の割合、インターフェロンに対するウイルスの感受性の差等——の総和として説明されよう。また、後にのべるように異種核酸がインターフェロン誘因能をもつとするならば、各ウイルスの核酸構造のちがいが、上記のインターフェロン誘因能の根拠である可能性もある。この点で Wagner が VS ウイルス (Vesicular stomatitis virus) について、インターフェロン生産能の高い株と低い株を分離していることも興味がある。²⁶⁾

表 3. 誘導ウイルスをことにする各種インターフェロン標品の活性

	インターフェロン誘導系		インターフェロン活性測定系		インターフェ ロン活性 *
	誘導ウイルス	宿主細胞	測定ウイルス	培養細胞	
1	Chikungunya	Chick culture	Vaccinia	Chick culture	2.0
2	Chikungunya	Chick culture	Vaccinia	Chick culture	12.5
3	Kumba	Chick culture	Vaccinia	Chick culture	17.6
4	Newcastle disease	Chick culture	Vaccinia	Chick culture	472.8
5	Vaccinia	Chick culture	Vaccinia	Chick culture	468.4
6	Influenza	Chick embryos	Vaccinia	Chick culture	148.6
7	Chikungunya	Chick culture	Vaccinia	Chick culture	6.7
8	Chikungunya	Chick culture	Chikungunya	Chick culture	2.1
9	Chikungunya	Chick culture	Chikungunya	Chick culture	5.8
10	Newcastle disease	Mouse culture	Vaccinia	Mouse culture	176.1
11	Influenza	Mouse lung	Vaccinia	Mouse culture	16.4

* ウイルスの形成するプラーク数を半分に減少させるのに必要なインターフェロン標品の量 (μ l)
(活性は数値が低い程高い)

また川出らは、合成ポリヌクレオチドを用いて、誘因能と核酸構造との関係を追求している。^{27,28)}

熱不活性化ウイルス・紫外線不活化ウイルスが、活性ウイルス標品より有効にインターフェロンを生産する場合も知られている。このことは、インターフェロン生産には、ウイルスの増殖過程の完全な進行は必要ないことを示唆している。実際、パラインフルエンザウイルス I やハシカウイルスがひと白血球に感染した場合にインターフェロンが誘導されること等が報告されている。(この場合、ウイルスの増殖はみとめられない)^{30,31)} 活性ウイルス粒子がインターフェロン生産に機能しているという研究結果も報告されているが、活性ウイルス標品はかなりの不活化ウイルスを含んでいるので、活性ウイルス粒子のインターフェロン誘導能については今後さらに検討を必要と思われる。

インターフェロン誘導能を有する紫外線不活化インフルエンザウイルスにさらに紫外線を照射するとインターフェロン誘導能を失う。³³⁾ このとき、ウイルスの抗原性、ウイルスのノイラミダーゼ活性が残っていることから、³³⁾ Isaacs らはウイルスの構成成分のうち核酸がインターフェロン誘導の直接的な誘因として機能していると推論した。³⁴⁾ Isaacs および Jensen らは培養細胞を異種核酸で処理すると培養細胞は抗ウイルス性を示し、培養液中にインターフェロン様活性が見出されることを報告した。³⁵⁾

表 4. 異種核酸による培養細胞の抗ウイルス性の獲得

	核 酸 処 理	ワクチン・ウイルスの プラーク数 (平均)	
		ハツカネ ズミ 培養細胞	ニワトリ 培養細胞
Exp. 1	Control	(μ g/ μ l)	
	—	116	320
	Chick RNA	50	17
	10	79	80
	2	103	259
	Mouse RNA	50	309
Exp. 2	—	122	8
	10	105	45
	2	97	308
	Control	19	175
	Chick RNA	50	5
	10	11	126
	Mouse RNA	50	182
	10	11	0
		14	29

この結果から、インターフェロン誘導の作用物質の本体は異種核酸であるという Isaacs らの仮説が提唱された。³⁵⁾ しかし彼らや Jensen らの実験結果は、通例のウイルス刺戟の場合とはことなっており、インターフェロンの生産には異種核酸と培養細胞との持続的接触が必要であることを示し、物質としてのインターフェロンに関する記載も明確でないで、なお今後の検討を必要とするように思われる。一方、川出らは、大腸菌ファージ MS2 の RNA がインターフェロン誘導能を持ち Lampson らの方法にしたがってインターフェロンが部分的に精製されたことを報告している。¹⁶⁾ また合

表 5. 諸誘導因子により生産されたインターフェロンの分子量の比較

誘 導 因 子	インターフェロンの由来	インターフェロンの性質	
		分 子 量	そ の 他 の 性 質
ウ イ ル ス	<i>in vivo</i> 血 清	I $2.5 \sim 3.0 \times 10^4$ [52] II 10×10^4	pH 2 : 安定
	<i>in vitro</i> 白 血 球	1.8×10^4 [53]	pH 2 : 安定[51]
	培養細胞	$2.5 \sim 3.5 \times 10^4$ [17]	pH 2 : 安定[17] 等電点わずかに酸性
ベドソニア (トラコーマ)	<i>in vitro</i>	5.0×10^4 [47]	pH 2 : 安定
マイコプラズマ	<i>in vivo</i> 血 清		pH 2 : 安定
リケッチャ			
細菌* ブルセラ	<i>in vivo</i> 血 清	I 5.4×10^4 II 7.7×10^4 5.4×10^4 [44]	pH 2 : 安定
	<i>in vitro</i>		
	<i>in vivo</i> 血 清		
大腸菌			
大腸菌エンドトキシン	<i>in vivo</i> 血 清	I 5.6×10^4 [52, 55] II 10×10^4	pH 2 : 不安定
スタトロソ	<i>in vivo</i> 血 清	$8.5 \sim 8.9 \times 10^4$ [49]	等電点弱塩基性
	すいぞう	3.3×10^4 [50]	
	<i>in vitro</i> 培養細胞	3.4×10^4 [49]	等電点, わずかに酸性
フィトヘマグルチニン 核 酸	<i>in vitro</i> 白 血 球	1.8×10^4 [53]	pH 2 : 不安定[51]
	<i>in vivo</i>		
	<i>in vitro</i>		

* *Serratia marcescens*, *Shigella Sonnai*, *Batillus subtilis*, *Staphylococcus albus* によってはインターフェロン活性は血清中に出現しなかった。[43]

成ポリヌクレオチドのうちポリUは有効な作用を示したが、ポリA、ポリCはほとんど作用を示さなかった。²⁸⁾

なお、ウイルス誘導因子によって、インターフェロンが生産される場合には、新しい伝令 RNA、蛋白質の合成が必要とされることが、アクチノマイシンD^{1,37,38)}等の阻害剤を用いた実験によって示されている。またこの伝令 RNA の合成は、ウイルス感染の比較的初期におこり数時間で停止する。その後、インターフェロン合成系は比較的長時間安定に存在することが報告されている。^{39,40)}

b. ウイルス以外の微生物、生体高分子によるインターフェロンの生産

カビの一種 (*Penicillium Stoniferum*) の生産する抗生物質 スタトロソ (statolon) の抗ウイルス性の作用機作の研究の結果、スタトロソは直接ウイルスに作用するのではなく、インターフェロン誘導を介して、

抗ウイルス作用を発現することが 1964 年に Kleinschmidt²⁾ らによって明らかにされた。彼らはスタトロソが酸性複合多糖類であることに注目し細菌の多糖類⁴²⁾、合成酸性高分子が抗ウイルス作用を示すという報告に注意を喚起した。インターフェロン誘導因子の本体は異種核酸であるという Isaacs^{34,35)} の仮説を修正し、ある種の酸性高分子が誘因となってインターフェロンの生産が誘導されとの考察を発表した。²⁾ なお、スタトロソによるインターフェロンも、その種特異性、広い範囲の抗ウイルス作用、酸性側での安定性など、ウイルス誘導のインターフェロンとほとんどかわらなかった。²⁾

その後、この報告に続いて、多くの微生物や生体高分子の誘導によってインターフェロンが生産されることが明らかにされた。その範囲は、表 5 に示されているように、微生物では、*E. coli*, *Brucella abortus* 等

の細菌、マイコプラズマ、リケッチャー、トラコーマ、^{7,43,44)} ウイルスなど、生体物質では先にのべた核酸に加え、⁴⁵⁾ スタトロン、大腸菌のエンドトキシン、⁴⁶⁾ フイトヘماغ⁴⁷⁾ ルチニン (phytohemagglutinin) などにおよんでいる。なお、同じ細菌、または細菌由来の多糖類の中にも、インターフェロン誘導能を有するものと有しないものがあるのをどのように解釈すべきか。またインターフェロンによってその増殖がおさえられることが明らかにされているのはウイルスとトラコーマの場合にすぎず、⁴⁷⁾ 誘導因子として働く他の微生物もはたしてインターフェロンの作用をうけるかどうかは、今後なお検討しなければならぬ。

大腸菌のエンドトキシン誘導によるウサギのインターフェロン (*in vivo*) はウイルス誘導によるインターフェロン⁵²⁾と比較して、pH 2 の酸性側で不安定であるなど、同一動物種由来のものであっても、誘導因子をこにすることによって、わずかに化学的性質を異にするインターフェロンが生産される可能性を示唆している。つまり、このことはインターフェロンの生産過程で宿主細胞のもつ遺伝情報と、誘導因子の構造とによって、インターフェロンはその構造を二重に規定されているということを想像させる。さらにおどろくべきことは、ウイルス刺激によってえられるインターフェロンの分子量は通常 $2.5 \sim 3.6 \times 10^4$ であるのに対し、各種刺激によって、 $1.8 \sim 10 \times 10^4$ の分子量のインターフェロンがえられるという事実である。これらの諸インターフェロンの間の相互関係を論ずることは困難であるが、一つの可能性を示しておきたい。インターフェロンの分子量を大きさの順にならべると、

in vitro で合成されたインターフェロン

18,000→36,000→54,000 の分子量

in vivo で合成されたインターフェロン

54,000→72,000→90,000 の分子量

となる。この分子量間にみられる系列から、インターフェロン蛋白質には、基本的な単位構造があり、白血球のインターフェロンの場合にみられるようにもっとも単純な系ではその最小ポリペプチド単位がインターフェロンとなる。誘導因子のちがいは単位ポリペプチドの構造をわずかに変化させ、その結果としてポリペプチド間の親和性が変化し、2本または3本のポリペプチド単位よりなるインターフェロンが生合成されることとなる。*in vivo* においてみられる比較的分子量の大きいインターフェロンは、血清中に見出されたもので、アルブミンその他の高分子と結合した運搬体と

考えたい。上記の考察はあくまで一つの考え方であって他の多くの可能性とともにその当否は今後の研究にまたねばならない。スタトロン誘導によって *in vivo* でのインターフェロンの生合成をしらべると、血液中には分子量 10×10^4 のインターフェロンが見出されるのに対して、すいぞう中には 3×10^4 のインターフェ⁵⁰⁾ロン以外には存在しないという報告が最近発表された。別の可能性としては、*in vivo* で見出されるインターフェロンはすいぞうなど特種な器管が生産するという考え、誘導因子がことになると、それに対応する細胞または細胞内の遺伝情報をこにするなどが考えられる。この考えは次のようにウイルス刺激とエンドトキシン刺激によってインターフェロンの血液中への出現の様式がことなるという事実と関連して今後研究していかなければならぬであろう。

in vivo において大腸菌のエンドトキシンにより誘導されるインターフェ^{7,8,52)}ロンは処理後、2時間で最大に達し数時間で消失する。この出現はアクチノマイシン^{52,54)}Dまたはピウロマイシン処理によってその出現が阻害されないの、既存の蛋白の放出の現象と考えられる。一方ウイルス刺激により *in vivo* で血液中に出現するインターフェロンは6~12時間で最大に達し、48時間後には完全に消失する。^{52,54)}このインターフェロンの出現はアクチノマイシンD感受性を示すので新しい蛋白合成を伴うと考えられている。また両刺激によって血流中に出現したインターフェロンが同一の早さで血流中から失われるならば、エンドトキシンによって出現するインターフェ^{52,54)}ロンの量は、ウイルスの場合の $\frac{1}{6}$ 以下である。別の実験ではスタトロンにより *in vivo* で血流中にインターフェロンは6~12時間で最大値に達し、この場合も蛋白合成阻害剤否感受性であるので、既存の蛋白の放出と考えている。またスタトロンによって出現した既存のインターフェロンとエン⁴⁸⁾ドトキシンのとは別のものであるという報告もある。なおエンドトキシンは真の誘導因子ではなく自然感染により作られたインターフェロンを血液中に放出させるにすぎないという考えも可能である。

以上の事実は、インターフェロンは単にウイルスによるだけではなく、微生物感染因子に誘導されて動物細胞が生産する蛋白質で、種々の分子量のものがえられることを示しており、インターフェロン生産機構を細胞の場と関係させて考えて行くことを要求しているように思われる。

c. 動物細胞のインターフェロン生産能について

前節でのべたように、いろいろ異なった分子量のインターフェロンが生産される現象を理解するための一つの方向として、インターフェロン生産細胞が存在するかなどインターフェロンを生産する細胞の側の機能を解析することが必要になってくる。しかしこの面の系統的解析はまだなされておらず知識はまだきわめて断片的である。

株化されたはつかねずみの腎細胞の多数の分離された株について、その中にはインターフェロン生産能を異にする株があることが報告されている。また癌ウイルス、炭化水素化合物によって処理された培養細胞のインターフェロン生産能の低下などが報告されている。一方、*in vivo* において微生物感染因子感染後のインターフェロンの出現、各種臓器への分布等をしらべた結果、細網内皮系の細胞にとむすいぞうに量的に多く且つ時期的に早くインターフェロンが存在することから、インターフェロン生産における細胞内皮系の役割が注目されてきている。また白血球は強いインターフェロン生産能をもち、ウイルス感染に対する防禦との関係も考慮されている。

一方、ウイルス、エンドトキシン、スタトロンによって動物を一度処理後、6日間程は、第2回の刺戟に対して動物は感応を示さず、インターフェロンを生産しないことが報告された。またこのとき、エンドトキシンとスタトロンは相互に、前処理の効果をおよぼさないで、これら二つの刺戟に感応する細胞又は細胞内構造がちがうのではないかとの推論も行なわれている。また逆に弱毒結核菌を動物に与えると、hyper reactive の状態になり、インターフェロン生産能も高まるという。

インターフェロンに関する研究は哺乳動物・鳥類についてのみ行なわれ、他の動物がインターフェロン生産能をもつかどうかは不明確であって、最近、亀の腎臓細胞にインフルエンザ感染後、インターフェロン活性を見出したという一例があるのみである。なお、ニワトリの初期発生過程で6日までの胚細胞はインターフェロン生産能もインターフェロンに対する感応性もともに弱く、これらの能力は9日頃より出現するという。

ここにのべたいずれの現象の研究も緒についたばかりである。動物細胞のインターフェロン生産能の質的差異、その誘導因子に対する感応機構の異同、さらに諸誘導因子とインターフェロン分子量の変化との関係等、その背後に、動物細胞のもつ高次の調節機構の存

在が予想され、今後の発展が期待される。

Ⅲ インターフェロンによる細胞の抗ウイルス性獲得の機構

(A) インターフェロンの細胞内吸収と維持

一般に、蛋白質の細胞へのとりこみと、それに伴う細胞の機能変化は、核酸の場合ほど整理されてはいない。インターフェロン蛋白の細胞内吸収と、細胞内での維持、そして抗ウイルス性発現にいたるまでの過程は、インターフェロンに関する諸問題の中でも比較的混沌とした部分であろう。

インターフェロンが、細胞内に吸収されるか、または細胞表面での吸着、接触に伴いその機能を発現し得るのかさえ明らかではない。かつて、Lindenmann³⁰⁾らは、インターフェロンは細胞に吸収されて細胞内でのウイルス増殖を阻害しているに違いないが、細胞をインターフェロンで処理した後もなお、培地中に大部分が残るので、インターフェロンは極めて少量で作用しているであろうと指摘している。

同様に、インターフェロン処理ニワトリ胚せい芽細胞およびマウス胚細胞の培養液中の残存インターフェロン活性を追求した Buckler⁶⁵⁾らは、インターフェロン濃度に関係なく、活性の減少がほとんど認められないことから、インターフェロンは、細胞内には吸収されないうで細胞との接触で、実際の抗ウイルス性作用物質を誘導するか、または、細胞表面構造要素との結合によって、抗ウイルス状態を形成するのに参加するものであると報告している。

Wagner⁶⁶⁾は、この実験の精度に疑問を提出し、実際には、少量のインターフェロンが吸収されていようと指摘し、これまでのインターフェロン吸収の立場を支持している。

なお、培地中から多量のインターフェロンが細胞中に吸収される結果も提示されているが、このような系では培地中のインターフェロンの失活または細胞への非特異的吸着も予想され、単純に、培地中のインターフェロンの減少で細胞吸収を論ずることには問題が残る。

ちなみに、Merigan¹⁷⁾らの実験によれば、このような測定法を適用して、高度に精製したニワトリ・インターフェロンの VS ウイルス増殖を50%に阻害するのに要する量は、ニワトリ胚せい芽細胞系で、細胞当たり4,500分子という値が報告されている。

この値も、インターフェロンの失活または非特異的吸着を防いだ系で測定すれば、その量はさらに減少し

よう。

インターフェロンが細胞中に吸収されているかどうか、吸収されていれば、細胞内のどの部域で作用を発現しているのか、等については、インターフェロンの作用機作を論ずる上にも重要な点であり、筆者らも、精製されしかも放射性物質で標識されたインターフェロンと、細胞の相互作用に伴うインターフェロンの行方を追跡することによって、今後明らかにしていきたいと考えている。一方、インターフェロンが細胞に与えた抗ウイルス性は、培地からインターフェロンを除くと比較的ゆるやかに、その活性が減少することから、吸収されたインターフェロンが細胞から再び放出されると考えて、その放出速度を算定する試みもある。

(B) インターフェロンの抗ウイルス作用発現の機構

インターフェロンで処理された細胞は、ウイルスのその中での増殖を抑制する。しかし、そのような抗ウイルス作用は、インターフェロン自体の生物活性として、発現されているのか、あるいはまた、細胞の何らかの代謝的活性が関与することによるものかについては、まだ明らかでない。

インターフェロンを4℃で細胞と接触させたのみではインターフェロンの吸収はあるが活性発現はなく、作用を発現させるためには、なお、処理細胞をウイルス感染前にあらかじめ比較的長時間37℃で培養することが、必要であるという知見は、インターフェロンの作用発現にいたるまでには、吸着・吸収(Adsorption)と作用(Action)の過程があり、Actionの段階で細胞

の代謝的活性の関与が予想されると考える、いわゆる「間接作用」の立場をうみだした。

Taylor は、SF ウイルス (Semliki Forest) のニワトリ胚せんい芽細胞での増殖に対するインターフェロンの阻止作用は、アクチノマイシンD存在下では発現されないことから、インターフェロンの作用には、新たな DNA 依存の RNA 合成過程が要求されるという仮説を提唱した。

つづいて、SF ウイルス—ニワトリ胚細胞系で、インターフェロンの作用が、FPA (フロロフェニルアラニン) で阻止され、また、WEE ウイルス (西部馬脳炎ウイルス) —ニワトリ胚細胞系で、プロマイシンによってその作用が抑制されることが認められ、伝令 RNA 合成につづく蛋白合成過程も要求されると主張される根拠となった。また、アデニンがインターフェロンの作用を阻害することが、新たに誘導される伝令 RNA 合成を阻害するという立場で考えた報告もある。

これら、伝令 RNA 合成または蛋白合成阻害剤が、インターフェロンの抗ウイルス性発現を抑制する作用は、細胞をインターフェロン処理の後数時間培養をつづけてから与えたときには効果を示さないことから、細胞の代謝的活性 (おそらくは、宿主細胞ゲノムの新たな情報発現) が関与する反応は、比較的短時間で成立し、しかも、その後安定に保持されるようである。

Baron らも、インターフェロンが、マウス胚細胞に、VS ウイルス増殖阻止能を与える条件を検討し、インターフェロンは、短時間でウイルス増殖阻止作用物質の合成系を確立し、その後のインターフェロンの継続

第1図 インターフェロンの抗ウイルス作用発現機構

した存在は必要ないと報告している。

さて、このような、インターフェロンの「間接作用」を考えると、その分子機構に関して、新たにさまざまな問題が提起されよう。

すなわち、インターフェロンそれ自体が、細胞の働きを受けて、抗ウイルス性作用物質に変化する可能性も否定できないように思われるが、「間接作用」の立場に立つ研究者の多くは、インターフェロンの誘導刺激のもとに、細胞 DNA の情報を受けた新たな物質を合成する機作を想定しているようである。

第1図は、これら、インターフェロンの作用発現機構の諸仮説を整理したものである。

ところで、「間接作用」説でいう、インターフェロン蛋白の誘導作用の分子機作はどのようなものであろうか、そしてまた、実際の作用物質は、インターフェロンとどの点で差異を示し、またその機能は何であらうか。

インターフェロンの抗ウイルス作用が、ウイルス核酸の合成阻害として認められることから、実際の作用物質を RNA 分解酵素に求めて、その活性をインターフェロン処理細胞で追跡する試みもあったが、検出できないようである。⁷²⁾ただ、RNA の酸可溶性分画への分解で測定するような精度の低い方法では検出できないことも想定される。

筆者らは、インターフェロンの抗ウイルス作用は、むしろ、ウイルス RNA 合成を直接阻害する可能性が⁶⁾つよい示唆を得ている。

一方、インターフェロン存在下で、より一層インターフェロン生産が高まるというインターフェロン生産の自己加速作用 (Ⅲ-(C) A参照) は、結果として、ウイルス増殖を抑制するに必要な充分量のインターフェロンを蓄積すると思われる。新たに生産される作用物質の実体は、インターフェロンそのものであっても何ら不都合がないようにも思われる。

ウイルスの感染を受けた細胞集団が、一方で、インターフェロンを生産しつつ、合成されたインターフェロンが相互に影響し合っ、ウイルス増殖を阻害する機構を根底に、「間接作用」を示唆する諸報告を検討するとき、阻害剤は、インターフェロンの新たな生産を阻害することによって、ウイルスの増殖を阻止できないという可能性が厳密に検証されることが必要であらう。

(C) インターフェロン生産の自己促進効果

インターフェロンによる細胞の抗ウイルス性獲得に

はインターフェロンが誘導する新たな作用物質の生産が伴うことが指摘されたが、先にも述べたように、その物質の実体に関しては推測し得る知見の蓄積がない。一方、少量のインターフェロンの存在が、インターフェロンの生産を促進する効果が、Lockart により報告⁷³⁾されていたが、近年、少量のインターフェロンの存在が、少量のウイルス感染に伴いその抗ウイルス作用を増幅するという現実の生体防禦の仕組みとの関連で注目されはじめた。

このような、インターフェロン存在下でインターフェロンの生産が加速される現象は、インターフェロンの“Priming 効果”と呼ばれ Friedman は、⁷⁴⁾あらかじめ存在するインターフェロンの濃度によって2つの形式すなわち、高濃度による“Feedback Inhibition”(End Product Inhibition)と、低濃度処理で観察される“Interferon Production-Priming Effect”に整理している。

前者は、一般にウイルス感染系のインターフェロン生産系の制御機構としても作用するものであろう。

さて、インターフェロンの示す自己促進効果発現の仕組みを、Levy⁷⁵⁾らは、インターフェロンが、ウイルス感染初期反応の進行に伴う宿主細胞ゲノムのインターフェロン領域の抑制解除を、促進ないしは加速すると説明した。

遺伝子の抑制解除 (De-repression) による情報発現は、次のような2つの形式のいずれかによって促進されるに違いない。すなわち、ゲノムに作用し、その状態を誘導物質すなわちウイルス核酸の作用を受け易い形に変化させるか、あるいは、誘導物質に作用し、誘導効果を十分発揮できる形で維持することによるものであろう。インターフェロンの作用が、ウイルス増殖過程で、ウイルス核酸の合成を阻害することに第一次作用点があることからして、インターフェロン処理細胞では、誘導物質＝ウイルス核酸が長く誘導能を維持したまま保持されていると考えた方が妥当性があるようにも思われる。

しかし、この可能性は、同時にまた、ウイルス増殖の阻害によって新たに誘因物質＝ウイルス核酸の蓄積ができず、インターフェロンの増産が阻止されるという矛盾を含んでいる。

これらの諸報告は、いずれも、インターフェロン生産の自己促進効果を示唆したものであるが、インターフェロン処理細胞の抗ウイルス性獲得に新たな蛋白合成が要求される機構との関連で考えると、「間接作

用」説のいう作用物質も、インターフェロンそのものと考えられないだろうか。ともかく、インターフェロン生産の分子機構と、「間接作用」説でいう作用物質の実体が明らかにされることが待たれる。

(D) インターフェロンによるウイルス RNA 合成の阻害

筆者らは、ニワトリ・インターフェロンのワクシニア・ウイルスおよび VS ウイルス感染ニワトリ胚せん芽細胞におよぼす、ウイルス増殖抑制作用を解析し、感染細胞に誘導されるウイルスの RNA 合成酵素 (Transcriptase および RNA Replicase) は、インターフェロン存在下でも正常に出現するが、RNA 合成の機能を *in vivo* では発現していないことを認めた⁶⁾。したがって、インターフェロン (または、その誘導で合成された作用物質) が、RNA 合成酵素の作用発現を阻害するという機構が想定される。

このような研究を基礎にして、ウイルス増殖のどの段階でインターフェロンの阻止作用が働いているかについて、第2図に示したが、このような作用機作が、推論されるにいたった経過と、インターフェロン処理細胞のウイルス RNA 合成阻害機構については、別稿で報告したので、ここでは省略したい。

(E) インターフェロン作用に対する細胞の感受性と種特異性

インターフェロンの作用域は、種特異的であり、作用感受性もまた、細胞依存性が強い。このことは、細

胞とインターフェロンの相互作用の、質と量の両面で、これまで述べたようなインターフェロンの抗ウイルス作用発現の機構に沿って考察すれば、その根底は、細胞膜の透過性の問題、すなわち、膜との相互作用の特異性としてか、あるいは、細胞内へ吸収されたインターフェロンの作用発現過程、とりわけ、RNA 合成酵素作用の阻害の能・不能の特異性として、理解できよう。

インターフェロンの種特異性は、早くから知られ、インターフェロンとして同定する一つの指標ともされている。たとえば、インフルエンザ・ウイルスで誘導合成されたニワトリ胚しょう尿膜インターフェロンは、サルやウシの腎臓細胞には効果なく、逆にウシ腎細胞⁷⁶⁾のインターフェロンはしょう尿膜には無効である。

また、同様に、ワクシニア・ウイルス感染で、ウサギ皮膚とニワトリ卵しょう尿膜で作られたインターフェロン⁷⁷⁾とは相互にその作用に関して種特異性を示す。

その後、高度に精製されたインターフェロンの、培養細胞系での定量的解析でもこの現象は確認されて来た。

Baron⁷⁸⁾らは、ニューカッスル病ウイルス感染マウス血清から酸性処理で得たマウス・インターフェロンと、インフルエンザ・ウイルス感染ニワトリ胚尿液から、酸性処理、硫酸分画で部分的に精製したインターフェロンのマウス胚細胞、ニワトリ胚細胞に与える抗ウイルス性を定量的に解析し、種を交錯して抗ウイルス性を与えることは全くないと報告している。

第2図 ウイルス増殖過程に及ぼすインターフェロンの阻止作用

第3図 インターフェロン作用の感受性と種特異性

また、VS ウイルス感染マウスのインターフェロンは、マウス細胞系（同種細胞）で示す活性に比べて、ハムスター、ラット細胞（近縁種細胞）では、およそ1/20、ニワトリ、サル細胞系（異種細胞）では、1/1,000の活性しか示さないことから、インターフェロンの作用域に関しては、種の近縁性に応じたある勾配があることも示唆されている。⁷⁹⁾

インターフェロンの作用に関する種特異性は、さらに、無細胞系でインターフェロンがRNA合成酵素反応を阻害する段階でも認められると報告されている。⁸⁰⁾

仔牛、マウス、ニワトリの各種インターフェロンの、インフルエンザ感染仔牛腎細胞、ニューカッスル病ウイルス感染ニワトリ胚せいの芽細胞、MS2ファージ感染大腸菌等のRNA合成酵素の反応におよぼす影響は、同種細胞のインターフェロン-RNA合成酵素相互間では、ほとんど100%近い阻害が認められるのに反し、異種細胞間では、ほとんど阻害作用を示さない。

また、精製したニワトリおよびマウス・インターフェロンの、ニワトリ胚せいの芽細胞への吸収量は、培地中の残量の測定から計算すると、両者に差は認められない。⁸¹⁾

これらの事実は、種特異性が、細胞膜の透過の段階より、むしろ、細胞内でインターフェロンが作用を示す際に、決定されるようである。

一方、継代細胞ないし癌細胞におけるインターフェロンの生産と作用を考えると、細胞膜の果たす役割も無視できないものがある。たとえば、HeLa細胞は、インターフェロン生産能はあるが感受性をもたず、このインターフェロンは、ヒトの羊膜、腎臓の初代培養細胞に有効である。⁸²⁾

また、3-メチルコランソレン、3,4-ベンズピレンなどの発癌性物質で、*in vitro*に、形質変換をおこしたハムスター細胞が、インターフェロンの生産能・感受性共に低下することも報告されている。⁸³⁾

川出らは、²⁷⁾継代培養細胞など、一般的にインターフェロンがきかない場合は、このような細胞では、細胞膜の状態がインターフェロンの通過を許さなくなっており、インターフェロンの通過が許されれば、全ての系で、インターフェロンが作用すると考え、ファージ-細菌プロトプラスト系で、インターフェロンを作用させる試みを行なっている。

さて、以上のように見てくると、インターフェロンに対する感受性は、主に、細胞膜の透過性によって、また、種特異性は細胞内でのインターフェロンの機能発現の段階で決定されるようである。（第3図）

種特異性が、インターフェロンの機能発現の段階で規定されるとすれば、とりわけ、インターフェロンによるRNA合成酵素反応の阻害（または、インターフェロンによるRNA合成酵素反応を阻害する物質の誘導合成の阻害）の成立・不成立の特異性が注目されよう。

IV おわりに

インターフェロンの研究は、いまその緒についたばかりで、数少ない知見から、その生産と作用発現機構について憶せず述べて来た。その内容は、必ずしも一般に承認されているものばかりではなく、すぐにも書き改められねばならないことも多いことであろうから、むしろ、今後の研究方向を示唆するものとして受けとめていただきたい。

はじめにも触れたように、生産機構をめぐって、ウイルス感染が細胞のそれまでの形質発現を阻害することに加えて一方で新たに情報発現を誘導するという新しい形の調節機構が明るみにでた。また、作用発現機構の研究の中から、情報発現調節の素過程と、種特異性の実体的基盤を解く途が開けてくるようにおもわれる。

この研究はまた、生体防御機構など、より高次の生命現象の解析にもつながる。未解決のしかも重要な問題は、むしろ、この研究から展開される諸問題の中にあるようにおもわれる。

本稿の作成にあたって、討論に参加し、有益な示唆を与えられた共同研究者の一人、大野真介氏（金沢大学癌研究施設）に謝意を示したい。

文 献

- 1) R. R. Wagner: *Nature*, 204, 49 (1964)
- 2) W. J. Kleinschmidt, J. C. Cline and E. B. Murphy: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 52, 741 (1964)
- 3) J. Taylor: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 14, 447 (1964)
- 4) R. Z. Lockart: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 15, 513 (1964)
- 5) R. M. Friedman and T. A. Sonnaberd: *Nature*, 206, 532 (1965)
- 6) 石浜明, 飯田克平, 大野真介, 亀山忠典, 波多野基一, 野島徳吉: 第18回細胞化学シンポジウム (東京, 1965年12月)
- 7) W. R. Stinebring and J. S. Youngner: *Nature*, 204, 712 (1964)
- 8) M. Ho: *Science*, 146, 1472 (1964)
- 9) S. Baron: *Ad. Virus Res.*, 21 (1963)
- 10) M. Ho and J. Kono: *Virology*, 25, 62 (1965)
- 11) A. Isaacs and J. Lindenman: *Proc. Roy. Soc.*, B147, 258 (1957)
- 12) Y. Nagano and Y. Kojima: *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 148, 1700 (1954)
- 13) M. Ho and J. F. Enders: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 45, 385 (1959)
- 14) R. R. Wagner: *Bact. Rev.*, 24, 151 (1960)
- 15) W. Henle: *J. Immunol.* 64, 203 (1950)
- 16) G. P. Lampson, A. A. Tytell, M. M. Nemes and M. R. Hilleman: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 112, 468 (1963)
- 17) T. C. Merigan, C. A. Winget, and C. B. Dixon: *J. Mol. Biol.*, 13, 679 (1965)
- 18) K. H. Fantes: *Nature*, 207, 1298 (1965)
- 19) A. Isaacs, H. G. Klempner and G. H. Hichcock: *Virology*, 13, 191 (1961)
- 20) G. P. Lampson, A. A. Tytell, M. M. Nemes and M. R. Hilleman: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 118, 441 (1965)
- 21) T. Haneishi, M. Shirasaka, H. Okagaki, Y. Nagano, et Y. Kojima: *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 158, 1433 (1964)
- 22) 長野泰一: *ウイルス*, 15, 2 (1965)
- 23) A. Davies: *Biochem. J.*, 95, 20p (1965)
- 24) M. Ho: *New Eng. J. Med.*, 266, 1258 (1962)
- 25) G. E. Gifford, M. V. Musset and E. Heller: *J. gen. Microbiol.* 34, 475 (1964)
- 26) W. W. Wagner: *Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol.*, 27, 349 (1962)
- 27) P. Kawade, and T. Fukada: *Symposia on Cell. Chem.* 15, 55 (1965)
- 28) 深田哲夫, 慎智恵子, 川出由己: 第13回ウイルス学会総会 (長崎, 1965年10月)
- 29) D. C. Burke and A. Isaacs: *Brit. J. Exp. Pathol.*, 39, 452 (1958)
- 30) J. Lindenman, D. C. Burke and A. Isaacs: *Brit. J. Exp. Pathol.*, 38, 551 (1957)
- 31) I. Gresser: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 108, 799 (1961)
- 32) J. Vilcek: *Acta Virol.* 7, 107 (1963)
- 33) D. C. Burke and A. Isaacs: *Brit. J. Exp. Pathol.*, 39, 78 (1958)
- 34) A. Isaacs: *Nature*, 192, 1247 (1961)
- 35) Z. Rotem, R. A. Cox and A. Isaacs: *Nature*, 197, 564 (1963)
- 36) K. E. Jensen, A. L. Neal, R. E. Owens and J. Warren: *Nature*, 200, 433 (1965)
- 37) E. Heller: *Virology*, 21, 652 (1963)
- 38) R. M. Friedman and J. A. Sonnabend: *Nature*, 203, 366 (1964)
- 39) H. B. Levy, D. Axelrod and S. Baron: *Proc. exp. Med. Biol.*, 118, 384 (1965)
- 40) R. R. Wagner and A. S. Hrang: *Virology*, 28, 1 (1966)
- 41) F. L. Horstall and M. McCarty: *J. Exp. Med.*, 85, 623 (1947)
- 42) E. T. Feltz: *Nature*, 196, 642 (1962)
- 43) J. S. Youngner: *Science*, 144, 1022 (1964)
- 44) J. H. Hallun, J. S. Youngner and W. R. Stinebring: *Virology*, 27, 429 (1965)
- 45) W. R. Stinebring and J. S. Youngner: (私信)
- 46) H. E. Hopps, S. Kohno, M. Kohno and J. E. Smaedel: *Bact. Proc.* 115 (1964)
- 47) J. C. Merigan and L. Hanna: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (in press)
- 48) J. S. Youngner and W. R. Stinebring: (私信)
- 49) J. C. Merigan and W. J. Kleinschmidt: *Nature*, 208, 667 (1965)
- 50) J. C. Merigan and W. J. Kleinschmidt: (私信)
- 51) E. F. Wheelock: *Science*, 149, 310 (1965)
- 52) J. S. Youngner, W. R. Stinebring and J. V. Hallum: (私信)
- 53) E. F. Wheelock and J. C. Merigan: (私信)
- 54) M. Ho and Y. Kono: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 53, 220 (1965)
- 55) E. A. Glasgow and K. Habel: *J. Exp. Med.* 115, 503 (1962)
- 56) G. Henle and W. Henle: *J. Natl. Cancer Inst.* 31, 143 (1963)
- 57) Z. Roten, Y. Berwald and L. Sachs: *Virology*, 24, 483 (1964)
- 58) P. De Somer and A. Billian: (私信)

- 59) J. Gresser: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 108, 799 (1961)
- 60) L. A. Glasgow: (私信)
- 61) M. Ho, J. Kono and M. K. Breinig: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119, 1127 (1965)
- 62) J. S. Youngner and W. R. Stinebring: Nature, 208, 456 (1965)
- 63) E. Falcoff and B. Fauconnier: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 118, 609 (1965)
- 64) A. Isaacs and S. Baron Lancet ii 946 (1960)
- 65) C. Buckler, S. Baron and H. Levy: (私信)
- 66) R. R. Wagner: (私信)
- 67) S. T. Toy: (私信)
- 68) S. Levine: Virology 24, 586 (1964)
- 69) E. Mées: Acta Virol., 8, 475 (1964)
- 70) R. M. Friedman and J. S. Sonnabend: (私信)
- 71) S. Baron, C. E. Buckler and H. B. Levy: (私信)
- 72) K. H. Fantes, and I. G. S. Furminger: (私信)
- 73) R. Z. Lockart, Jr.: J. Bact., 85, 556 (1963)
- 74) R. M. Friedman: (私信)
- 75) H. B. Levy: (私信)
- 76) D. A. Tyrrell: Nature, 184, 452 (1959)
- 77) Y. Nagano: Proc. of the 2nd Inter. Sym. on Chemotherapy. (1961)
- 78) S. Baron, S. Barban, and C. E. Buckler: Science 145, 814 (1954)
- 79) C. E. Buckler, and S. Baron: Fed. Proc., 24, no. 1045 (1965)
- 80) A. J. Glasky, L. Simon, and J. C. Holper: Science, 144, 1581 (1964)
- 82) M. Ho and J. F. Enders: Proc. Natl. Acad. Sci., 45, 385 (1959)
- 83) Z. Rotem: Virology 24, 483 (1964)

東 洋 レ ヨ ン (科学技術賞 科学技術研究助成金) 候 補 募 集

科学技術賞 : 本賞金メダル, 副賞 250万円

研究助成金 : 1件 1,000万円程度 (約10件)

●科学技術賞および助成金について本学会の推薦をご希望の方は事務局あてお申し込み下さい。書類をお送り致します。

科学技術賞については他薦を認めます。

●応募〆切りは10月31日とします。必要事項を記入の上書類を事務局宛お送り下さい。