

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

平成30年 4月24日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 辻 井 昭 雄 様

所属部局 ウイルス・再生医科学研究所

職 名 准教授

氏 名 加藤博己

助成の種類	平成29年度 ・ 研究活動推進助成			
研究課題名	植物由来二本鎖RNA投与による抗ウイルス自然免疫応答の活性化			
共同研究者	(所属・職名・氏名) 北海道大学 獣医学部 迫田義博教授			
発表学会文献等	(この研究成果を発表した学会・文献等) 特になし			
成果の概要	添付の通り			
会計報告	交付を受けた助成金額	1,000,000 円		
	使用した助成金額	1,000,000 円		
	返納すべき助成金額	0 円		
	助成金の使途内訳	費 目	金 額 (円)	
		物 品 費	28,301	
		旅 費	389,809	
		論 文 掲 載 料	541,437	
郵便・宅配便料		40,453		
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 科研費等で支払いにくいものの購入等に充てられ非常に助かりました。			

成果の概要／加藤 博己

植物由来二本鎖 RNA 投与による抗ウイルス自然免疫応答の活性化の解明を目的とし研究を進めた。その結果、マウスを用いた実験系において、植物由来二本鎖 RNA が自然免疫応答の活性化により高病原性鳥インフルエンザウイルスなどに対しても抗ウイルス効果を持ち、さらにアジュバント効果があることが明らかとなった。また、メラノーマ細胞に対する抗腫瘍活性も認めた。現在上記内容を論文として投稿する準備を進めている。上記成果の一部の詳細は以下に記述する。尚、貴財団の助成金は、上記研究成果を得るための実験に必要な物品購入や情報収集のための旅費などに使用させて頂いた。

<成果の詳細>

植物由来二本鎖 RNA(GP)投与による抗ウイルス自然免疫応答の活性化に関して、特にメラノーマ細胞に対する抗腫瘍活性に関する知見の詳細を報告する。

[予防モデルにおける GP の抗腫瘍効果の予備的検討]

腫瘍接種後、GP を腫瘍形成前から投与することで、予防効果があるのかを検討した。まず、条件検討を行う意味で、予備的実験を行った。PBS、PolyI:C、GP についてそれぞれ各群 2 匹ずつ用意し、B16F10 細胞を皮下接種した翌日から週に 2 回腹腔内投与した (図 1A)。その結果、過去の報告からも予想されたように、PolyI:C 投与群では PBS 投与群と比較し、腫瘍増殖の抑制を示唆する結果が得られた。さらに、GP 投与群においても PolyI:C とほぼ同等の腫瘍増殖抑制効果が示唆された (図 1B)。

[予防モデル、治療モデルにおける GP の抗腫瘍効果の検討]

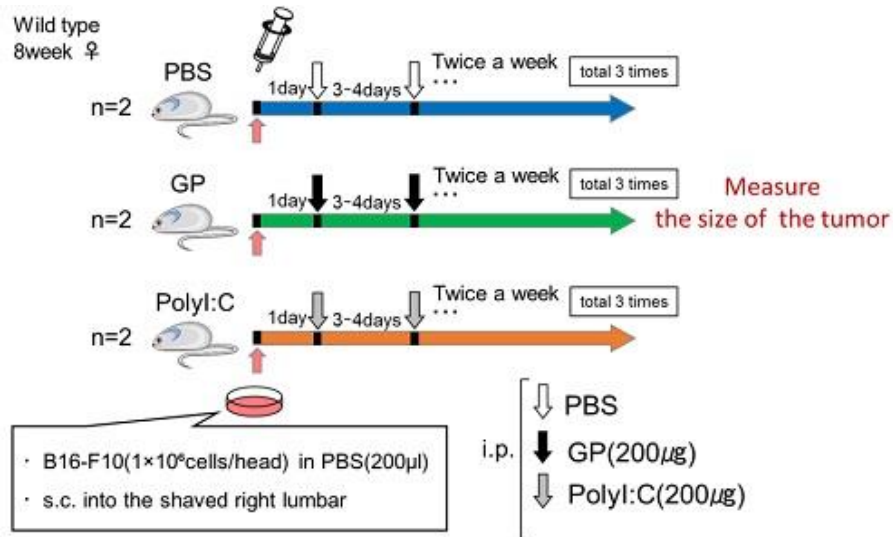
次に、上に示した予防モデルに加え、より臨床に近いと考えられる、腫瘍形成後から GP 投与を開始する治療モデルを作成し、GP の抗腫瘍効果を検討した。

GP 非投与群、腫瘍接種後 1 日目から GP を投与する群(予防モデル群)、腫瘍が 20～50 mm³になる接種後 7 日後から GP を投与する群(治療モデル群)の 3 群を作成し、週に 2 回 GP (非投与群では PBS) を投与した。投与回数は、予防モデル群では計 7 回、治療モデル群では計 5 回となった (図 2A)。

その結果、予防モデル群では予備実験でも見られたように (図 2B)、腫瘍の成長が抑制されており (図 2B)、接種後 13 日、16 日では GP 非投与群と比較して統計的有意差を持って腫瘍増殖抑制効果が認められた (図 2C)。また、マウスの生存も GP 非投与群と比較して優位に延長させることが分かった (図 2D)。一方で、治療モデル群では、腫瘍増殖抑制効果においても、延命効果においても、有意差を持った効果は示さなかった (図 2B-D)。

現在この腫瘍抑制効果の詳細なメカニズムを検討している。

A



B

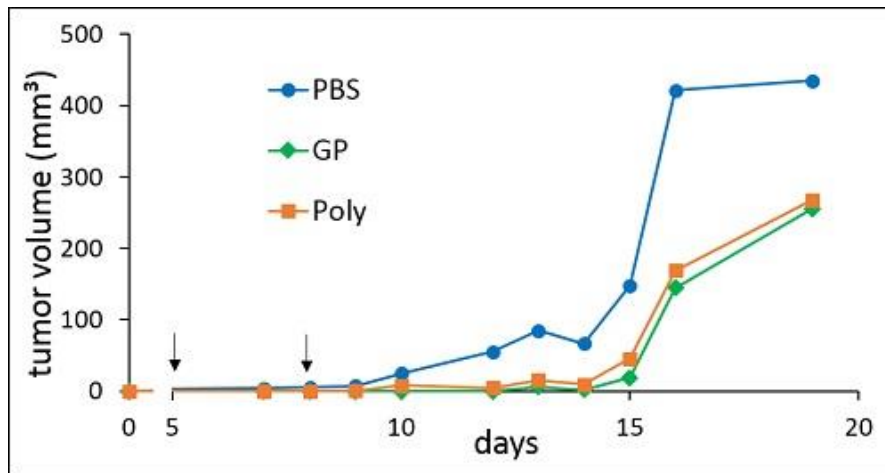
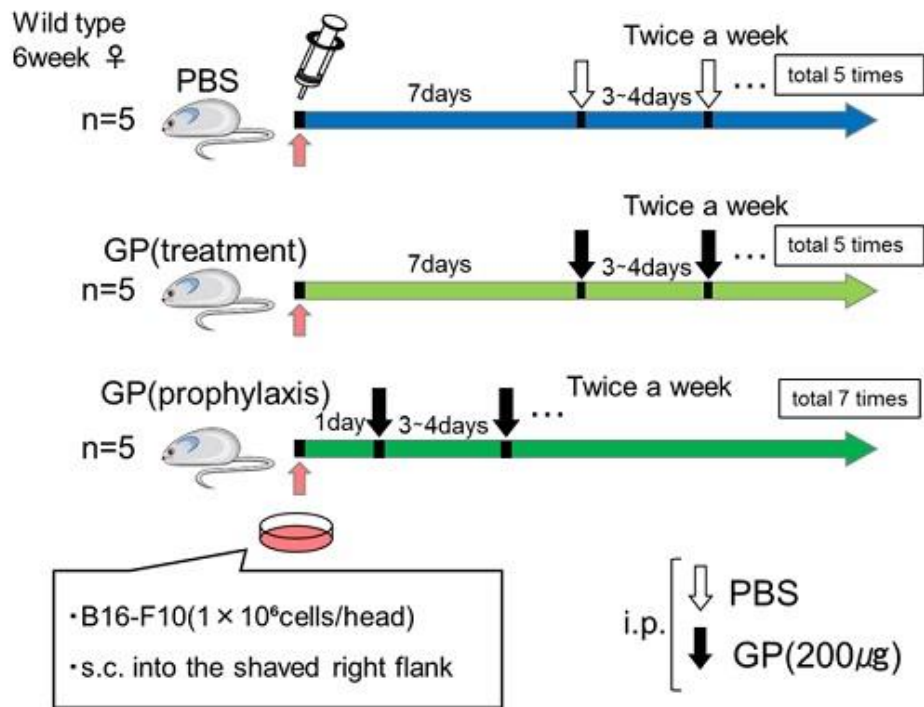


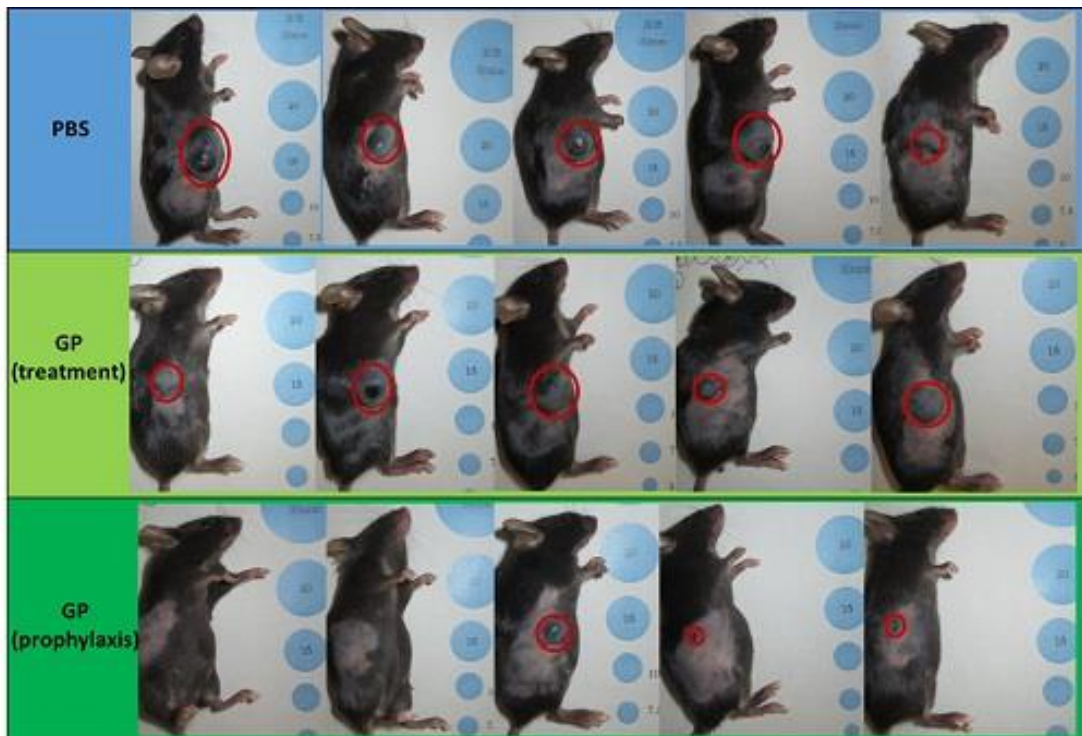
図1 マウスへの GP 投与実験 1 (予防モデルの予備的実験)

(A) 8週齢の C57BL6/J に B16F10 メラノーマ細胞株を 1×10^6 cells/匹、右腰部に皮下接種した。皮下接種した翌日から週に 2 度、PBS、PolyI:C、あるいは GP の腹腔内投与を行った。(B) 腫瘍体積を経時的に計測した。矢印：腹腔内投与を示している (ただし、1 日目の投与はグラフ中には記載していない)。

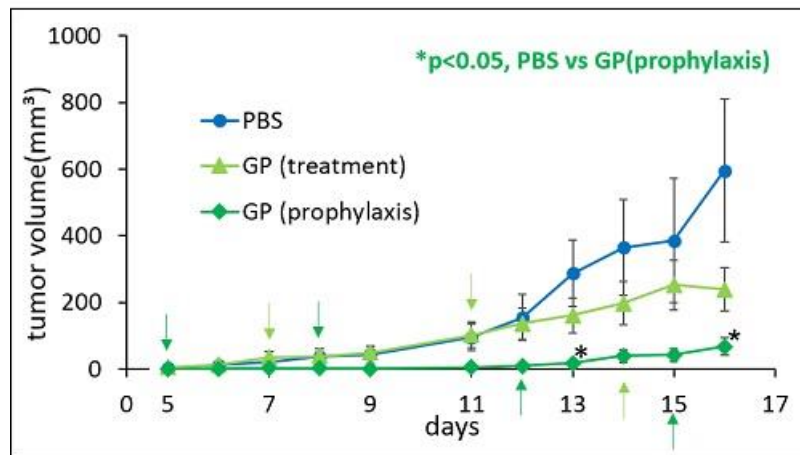
A



B



C



D

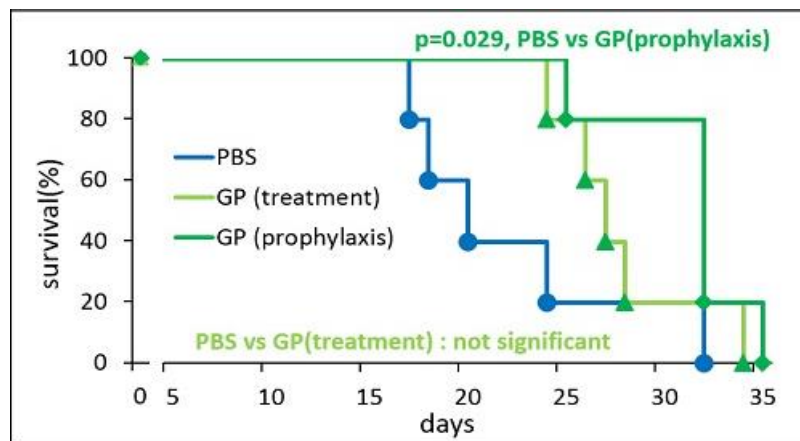


図2 マウスへの GP 投与実験 2 (予防モデルと治療モデル)

(A) 8週齢 C57BL6/J に B16F10 メラノーマ細胞株を 1×10^6 cells/匹、右側腹部に皮下接種した。接種翌日から GP の投与を開始した群(予防モデル群)、7日後から GP の投与を開始した群(治療モデル群)を作成した。GP 非投与群 (PBS 投与群) もコントロールとして作成した。それぞれ週に 2 度腹腔内投与を行った。GP の投与は、予防モデル群で計 7 回、治療モデル群で計 5 回、行った。腫瘍体積とマウスの生存率を経時的に計測し、腫瘍の成長を写真撮影して(接種後 15 日目、B)、それぞれグラフ化した (C、D)。(C) 矢印：腹腔内投与を示している(ただし、1 日目の投与はグラフ中には記載していない)。