

氏 名 (本籍) さい 齋 とう 藤 のり 紀 ゆき 行

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1399 号

学位授与年月日 昭和 57 年 2 月 24 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴 昭和 45 年 3 月
山形大学文理学部理学科
化学専攻卒業

学位論文題目 Antiviral effect of interferon in the
influenza virus infected mice.
(インフルエンザ感染マウスにおけるイン
ターフェロンの抗ウイルス作用の機序に関
する研究)

(主 査)

論文審査委員 教授 石 田 名 香 雄 教授 山 根 績

教授 橘 武 彦

論文内容要旨

インターフェロン (IFN) は現在知られている抗ウイルス活性を持つ物質の中でウイルス感染症の制圧に最も有効な物質と考えられている。しかし臨床応用に先だち、投与された IFN の生体内での運命や IFN が実際の有効性を発揮するための生体内条件については明確にされていないのが現状である。この様な問題意識の基に基礎的研究の1つとして、投与された IFN の生体内分布とウイルス感染症に対する防御効果をマウスのインフルエンザ感染症の系で実験を行った。

結果と考察

マウス由来の L-MS 細胞対 NDV で誘起し部分精製したマウス IFN (6.5×10^5 U/ml) を DD I マウスの腹腔内 (ip), 尾静脈内 (iv) および鼻腔内 (in) に投与した。マウス 5 匹を 1 群として経時的に屠殺し血液を集め血清を分離した。一方、肝、脾、腎および肺の各臓器を摘出し、それぞれを海砂と共に磨潰しハンクス液を加え遠心後、上清を得た。各臓器の上清と血清とをそれぞれ L-929 細胞対 VSV の系で 50% plaque reduction 法によって IFN 力価を求め、各臓器については臓器当りに、血清は ml 当りに換算して IFN の体内分布を調べた。その結果、血中および肺での IFN 力価は他の臓器に比べ有意の変化を認められた。すなわち 2.5×10^7 U/kg を ip 投与した場合、投与 5 分以内に高力価の IFN (2.6×10^4 U) が血中に検出されるがその後急速に消失する。肺での IFN 活性は最高値が 1.2×10^3 U と高くなく 30 分以内に消失する。 5×10^5 U/kg を in 投与した場合は肺に 4×10^4 U と高い IFN 活性が 5 分後に検出され、その後少し減少するが 90 分以後でも 5×10^3 U 以上の IFN 活性が保持される。一方、血中の IFN は 60 分以内に消失する。 2.5×10^7 U/kg 量を ip 投与した場合は血中および肺での IFN 活性の変動曲線は類似しており、最高値も到達時間は異なるが 10^4 U 以上と高い、 10^3 U 以上の保持時間は血中で約 45 分、肺で 90 分であった。

次に、インフルエンザ A₂ ウイルス (熊本株) を in より噴霧感染させたマウスに上記の 3 経路から各濃度の IFN を感染前 24、1 時間、感染後 1、3 時間と翌日から 1 日 1 回 6 日間の計 10 回投与し、生理食塩水を同じスケジュールで投与した群を対照として平均生存日数、生存率を比較して防御効果を調べた。その結果、IFN を iv 投与した場合、 5×10^5 U/kg と高濃度でも対照群と差がなく防御効果は認められなかった。in 投与では対照群のマウスが 10 日までで全て死亡する条件でも 5×10^5 U/kg 投与群で 20% のマウスが 30 日以上生存と高い防御効果を示した。ip 投与でも in 投与よりは弱いが明らかな延命効果が認められた。すなわち高力価の IFN が肺に長時間保持される投与方法がマウスインフルエンザ感染症に対して防御効果を発現することが示唆され

た。この感染防御効果が投与された IFN によるか否かを明らかにする目的で次の二つの実験を行った。まずはじめに 1.7×10^7 U/kg 量に相当するマウス IFN を 2 mg/ml のトリプシンで 3 時間処理して抗ウイルス作用を不活化したサンプルと 2 mg/kg の poly 1:C で誘起したウサギ血清 IFN とをインフルエンザ感染マウスに投与して感染防御効果を調べた。その結果、不活化した IFN と種の異なるウサギ IFN は共にマウスインフルエンザ症に対して全く防御効果が認められなかった。次に IFN がマウス体内で失活するか否かを調べる目的で、 1×10^4 U/ml のマウス IFN に 10% のマウス血清を加え 37°C に保ち活性の変化を調べた。1 時間までは全く失活せず、48 時間目に約 20% 程度の活性低下が認められたただけであった。この二つの実験から、マウスに IFN を投与した場合、体内で急速に失活することなく、発現される抗ウイルス作用は exogenous IFN によるだろうと推測された。

一方、IFN 誘起剤によるインフルエンザ感染症に対する防御効果においても先の実験と同様の結果が得られた。すなわち 3 つの誘起剤、poly 1:C、デキストランホスフェイト (DP-40)、9-メチルストレプチミドン (9-MS) のマウスに於ける IFN 産生能とマウスインフルエンザ感染症に対する効果について調べると、poly 1:C は血中に高力価の IFN を誘起するが肺にはほとんど誘起しない、DP-40 はその逆で血中の IFN 値は低いが肺に高力価の IFN が誘起される、9-MS は肺および血中に高力価の IFN を誘起する。マウスインフルエンザ症に対しては DP-40 および 9-MS は高い感染防御効果を発現するが poly 1:C は全く効果を示さなかった。

以上の実験結果から、インフルエンザ感染マウスにおいて IFN が感染防御効果を発現するためにはウイルスが直接増殖する組織に十分量の IFN が保持されることが必要条件であることが推察された。

審査結果の要旨

インターフェロン（IFN）の抗ウィルス効果をマウスのインフルエンザ感染症を用いてしらべ、また3種類の誘起剤（poly I:C, DP-40, 9-MS）についてもしらべ、インフルエンザ感染マウスに於てIFNが感染防御効果を発揮するためにはウィルスが増殖する組織に十分量のIFNが保持されることが必要である事を明らかにした論文である。

先ず最初にマウスIFN α/β をマウスの腹腔内（ip）、尾静肺内（iv）、および鼻腔内（in）より投与して、各臓器に於けるIFN力価を追跡した。大量をipした場合と、少量でもinした場合にのみ、肺に高単位のIFNが証明されたが、ivした場合には肺にIFNは証明されなかった。これと調子を合わせた様に、これらマウスをインフルエンザA2ウィルスで攻撃した場合、IFNのin投与が高い防御効果を示し、ipはそれより弱い延命効果を示したが、ivでは延命効果は認められなかった。

また誘起剤を用いた実験でもpoly I:Cは血中に高力価のIFNを誘起するが、肺には誘起せず、DP-40はその逆で血中のIFNは低く肺のIFNは高い。一方9-MSは肺および血中に高力価のIFNを誘起する。マウスのインフルエンザ感染症に対しDP-40と9-MSは高い感染防御効果を発現したが、poly I:Cは全く無効であった（参考論文）。

以上本論文はウィルス感染組織に於けるIFN濃度がIFNのSystemic administrationのあとの抗ウィルス効果を決定する因子である事を指摘した論文で、学位授与に値する。