

氏 名 (本籍)	かわ 川	かみ 上	かず 一	たけ 岳
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	医	第	1993	号
学位授与年月日	昭 和 63 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 54 年 3 月 東北大学医学部医学科卒業			

学位論文題目 Synergetic effect of interferon and interleukin 2 on the induction of cytotoxic T lymphocytes specific for herpes simplex virus (HSV)  
(単純ヘルペスウイルスに特異的なキラーT細胞の誘導におけるインターフェロンとインターロイキン2の協同作用)

(主 査)

論文審査委員 教授 佐藤 寿雄 教授 今野 多助  
教授 菅村 和夫

# 論 文 内 容 要 旨

## 目 的

単純ヘルペスウイルス (HSV) の感染に対する免疫応答機構は多彩であるが、感染防御機構の主体をなすものは、HSV特異的なキラー T 細胞 (CTL) であると考えられている。しかし、その活性は一般に低く、強毒株を接種されたマウスは死亡する。近年、免疫調節因子として各種のリンフォカインが明らかにされつつある。中でもインターフェロン (IFN) とインターロイキン 2 (IL 2) は特異的、あるいは非特異的なキラー細胞に働き、その分化・増殖を促進することが知られている。そこで筆者は最も強力なキラー活性を得るために、このHSV特異的なCTLを用いて、IFNとIL 2とを併用することを考え、in vivo及びin vitroの両面から検討した。

## 方 法

(1)in vitroの誘導系；HSVを感作しておいたC3H/Heマウスの脾細胞をresponderとして用い、HSVを感染させたリンパ芽球 (stimulator) とともに数日間培養し、 $^{51}\text{Cr}$ 遊離法にてCTL活性を測定した。次にIFN、IL 2でresponderまたはstimulatorを処理し、あるいは培養液中加入ることによるCTL活性の変化を検討した。また、リンパ球表面抗原に対するモノクローナル抗体を用いて、CTL及びその前駆細胞 (CTLp) の同定を行なった。(2)in vivoの誘導系；マウスにHSVを投与する前日にIFNを投与しておくことによって、in vivoでCTLを誘導し、そのCTL活性を $^{51}\text{Cr}$ 遊離法にて測定した。IFN及びIL 2を種々の時期に投与し、CTL活性の変化をみるとともに、これらの投与によるマウスの生存率の変化をも検討した。

## 結 果

(1)in vitro；in vitroで誘導されたCTLはHSVに感染した、ハプロタイプの等しい標的細胞にのみ障害活性を示した。このHSV特異的なCTL及びCTLpはともにThy1抗原及びLyt 1抗原が陽性で、Lyt 2抗原は陰性であった。CTLpを1000単位/mlのIFN $\beta$ で3時間処理し、その後stimulatorとともに培養すると、4日目で既にCTL活性が誘導された。しかし、培養7日後の活性及び細胞数は無処理群と変わらなかった。IFN $\beta$ を培養液中加入ると、CTL活性は著明に抑制された。IFNと異なり、IL 2によるCTLpの前処理は全く無効であった。しかし、培養液中加入るとCTL活性は4日目で10倍、7日目で3倍に増強された。

IFNで前処理し、更にIL 2を加えると、CTL活性及び細胞数はIL 2のみの群に比し、それぞれ2倍、1.5倍と著しく増加した。従って、IFNで前処理し、IL 2とともに培養した系が最も高いCTL活性を示した。(2)in vivo ; マウスに $5 \times 10^4$ 単位のHSVを腹腔内投与すると全例死亡した。しかし、HSV投与1日前に1万単位のIFNを投与しておくで、38%の生存率が得られ、生存したマウスの脾細胞には感染4日目で既にCTL活性が誘導されていた。IFNの投与は感染前日が最も有効であったが、感染1日後までは生存率を上昇させた。しかし、それ以後の投与は全く無効であった。一方、IL 2の前投与は全く無効であったが、感染5~6日後に投与した群では高いCTL活性が得られた。しかし、生存率は10%と低値であった。IFNを前投与し、感染5~6日後にIL 2を投与した群では最も高いCTL活性が得られ、生存率も62%と著しく改善した。従って、in vitroの結果と同様に、IFNを前投与し、その後IL 2を投与した系が最も有効であった。

## 考 察

(1)in vitro ; HSVを感染させたりンパ芽球をstimulatorとして用いることにより、HSVの細胞毒性を除くことが可能となり、in vitroでHSVに特異的なCTLを誘導することができた。このCTL及びCTLpはLyt 1陽性Lyt 2陰性であった。アロ抗原に対するCTLに代表されるように、従来よりCTLはLyt 2陽性であるとされてきた。しかし、近年、クラスII抗原に対するCTLの中にはLyt 1陽性のものがあるという報告が見られる。この系ではIa陽性のリンパ芽球をstimulatorとして用いたため、クラスII抗原が認識に関わった可能性がある。IFNは前処理が有効であり、IL 2は培養液中への投与が有効であった。従って、IFNはCTLpに作用して、そのCTLへの分化を促進し、IL 2は分化したCTLに働いてその増殖を促進するものと考えられた。(2)in vivo ; in vitroの結果と同様に、in vivoでのCTL誘導においてもIFNは前投与が有効であった。IL 2単独投与では高いCTL活性は得られたものの、生存率は低いままであった。これはIFNと異なりIL 2にはCTLの分化誘導を早める作用はないからであると思われる。IFNを前投与した群に、更にIL 2を加えると最も高いCTL活性と生存率とが得られた。以上、in vitro, in vivoの両系において、IFNは感染早期に働いてCTLpのCTLへの分化を促進し、IL 2はその後、分化したCTLに働いて増殖を促進するものと思われる。従って、両者を適当な時期に併用することによって、最も高いCTL活性を誘導できるものと思われる。

## 審査結果の要旨

単純ヘルペスウイルス（HSV）の感染に対する免疫応答機構は多彩であるが、感染防御の主体をなすものはHSV特異的なキラーT細胞（CTL）であると考えられている。しかし、その活性は一般に低く、強毒株を接種されたマウスは死亡する。このキラー活性を増強させるものとして、近年、種々の免疫調節因子が明らかにされつつある。中でもインターフェロン（IFN）とインターロイキン2（IL2）は特異的、非特異的なキラー細胞に働き、その分化・増殖を促進することが知られている。しかし、両者の作用機序は全く異なっており、両者の併用効果に関しては殆んど知られていない。

本研究はIFN及びIL2によるキラー活性の変動を *in vitro* で検討し、その結果をHSV感染マウスに応用することによって *in vivo* での併用効果を明らかにしたものである。第1に、HSVを感染させたリンパ芽球を stimulator として用いることにより、HSVに特異的なCTLを *in vitro* で誘導することができた。第2に、このCTL及びその前駆細胞とともに、Thy-1抗原及びLyt-1抗原が陽性で、Lyt-2抗原は陰性であることを明らかにした。第3に、IFNで前駆細胞を処理すると、CTLが早期に誘導されることを示した。即ち、IFNは前駆細胞からCTLへの分化を促進するということを明らかにした。一方、IL2による前駆細胞の処理は全く無効であり、stimulatorとともに培養液中に添加することによってのみCTL活性は増強され、細胞数も増加した。即ち、IL2は既に分化したCTLに働き、その増殖・活性化を促進するということを示した。そしてIFNによる前駆細胞の処理と培養液中へのIL2の添加により、最も高いCTL活性が得られるということを明らかにした。第4にこれらの結果を *in vivo* に応用し、IFNとIL2との併用によるHSV感染の治療効果について検討した。マウスにIFNを投与し、その1日後に致死量のHSVを投与すると40%程度の生存が得られた。生存したマウスの脾細胞には感染4日目まで既にCTL活性が誘導されていた。IFN投与は感染前日の投与が最も有効であり、感染1日後までは生存率を上昇させた。一方、IL2投与は感染5～6日後が最も有効であり、IFNのような感染初期の投与は全く無効であった。そして初期のIFN投与と後期のIL2投与の両方を行なった群が最も高い生存率を示した。以上の結果は *in vitro* によって得られたIFN及びIL2の作用機序を裏付けるものであった。

本研究は、HSV特異的CTLをモデルにして、IFN及びIL2によるキラー活性の増強効果を *in vivo*、*in vitro* の双方で明らかにした独創的なものであり、この成績は腫瘍免疫等の他の系にも応用可能な価値の高いものである。よって、本研究は学位授与に値するものと認める。