



Title	インターフェロンによる亜急性硬化性全脳炎ウイルスの増殖抑制
Author(s)	塩見, 正司
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37602">https://hdl.handle.net/11094/37602</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	しお 塩	み 見	まさ 正	し 司
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	第	9 2 3 3	号	
学位授与の日付	平 成 2 年 5 月 14 日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	インターフェロンによる亜急性硬化性全脳炎ウイルスの増殖抑制			
論文審査委員	(主査) 教 授	上 田 重 晴		
	(副査) 教 授	高 橋 理 明	教 授	岡 田 伸 太 郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) は、変異麻疹ウイルス (SSPEウイルス) による亜急性進行性の中枢神経系の感染症である。分離されたSSPEウイルスは、感染性が細胞依存性で、遊離ウイルス粒子を産生しない株が多く、患者の脳内でも、同様の性質を示していると考えられている。患者の血清や髄液には、麻疹ウイルスに対する高値の中和抗体が検出され、SSPEでは特異抗体が病気の進行を阻止できないことを示している。一方非特異的な抗ウイルス作用のあるインターフェロンは、以前は、SSPEに対して短期間の全身投与が試みられ、効果がないと報告されたが、近年量産が可能となり、Ommaya reservoir を利用した脳室内持続投与も試みられ、有効性が示唆されるようになっている。しかし、SSPEウイルスに対する *in vitro* でのインターフェロンの効果を調べた報告は少なく、SSPE患者に対する投与量は経験的に決められてきたので、今回、SSPEウイルスに対するヒト各種インターフェロンの *in vitro* での増殖抑制作用を検討し、SSPEの治療に役立つ情報を得ることを目的とした。

### 〔材料と方法〕

- ① インターフェロン (IFN): ヒト白血球インターフェロン- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ )、ヒト線維芽細胞IFN  $\beta$  (IFN- $\beta$ )、および組換え型ヒトINF $\gamma$  (rIFN- $\gamma$ ) を用いた。
- ② ウイルス: 麻疹ウイルス、細胞依存性SSPEウイルス (微研株、HEL細胞に感染した状態で継代)、遊離SSPEウイルス (微研株感染細胞のサイトカラシンD処理により得た遊離感染性粒子) を用いた。
- ③ 麻疹ウイルス持続感染細胞 (piFL/M): FL細胞に麻疹ウイルスを moi 1.0 で感染させ、生残細

胞に限界希釈法によるcloningを2回行い、蛍光抗体法でウイルス抗原を確認しながら継代を続け、持続感染細胞を樹立した。piFL/Mは、上清に少量のウイルスを産生し、CPEは軽度で、すべての細胞にウイルス抗原の発現を認めた。

- ④ IFNのウイルス増殖抑制作用：3.5 cm径のプラスチックシャーレに単層になったHEL細胞を $10^1 \sim 10^4$  IU/mlの濃度の各種IFNを含む維持培地で24時間前処理後にウイルスを接種し、一定時間培養後、麻疹ウイルス感染価またはSSPEウイルス感染細胞数を測定し、インターフェロン前処理をしない対照と比較した。麻疹ウイルス感染価は、プラーク法により、感染シャーレ当りの感染価を求めた。SSPEウイルスの感染価は、感染シャーレ当りの感染細胞数を感染中心測定法により求めた。
- ⑤ IFN- $\alpha$ のウイルス蛋白合成抑制作用：Vero細胞に麻疹ウイルス（Vero/M）、HEL細胞に細胞依存性SSPEウイルス（HEL/S）を接種した2つのlytic infection、及び麻疹ウイルス持続感染細胞のpiFL/Mで調べた。lytic infectionでは、IFN前処理後にウイルスを感染させ、一定時間培養後（ $^{35}\text{S}$ ）-メチオニンでラベルし、持続感染細胞は、単層になった細胞をIFNで前処理後、（ $^{35}\text{S}$ ）-メチオニンでラベルした。蛋白を可溶化し、抗麻疹ウイルス免疫血清による免疫沈降後、SDS-PAGE, fluorographyによりウイルス蛋白合成を調べた。

#### 〔成績〕

- ① 麻疹ウイルスの90%増殖抑制に要するIFNの濃度：IFN- $\alpha$ 、 $\beta$ とも10 IU/mlであったが、細胞依存性SSPEウイルスでは $10^4$  IU/mlであった。遊離SSPEウイルスに対しては、 $10^2$  IU/mlであった。rIFN $\gamma$ はIFN- $\alpha$ 、 $\beta$ に比し、増殖抑制作用が劣っていた。
- ② IFN- $\alpha$ 前処理の効果持続：IFN- $\alpha$   $10^4$  IU/ml 24時間の前処理は、IFN除去後24時間までは細胞依存性SSPEウイルスの増殖を抑制したが、48時間では増殖抑制はみられなかった。
- ③ IFN- $\alpha$ 持続存在下でのSSPEウイルスの増殖抑制：IFN- $\alpha$ は濃度依存的に細胞依存性SSPEウイルスの増殖を抑制するが、 $10^4$  IU/mlの濃度でも感染は徐々に拡大していた。
- ④ IFN- $\alpha$ のウイルス蛋白合成抑制作用：ウイルス増殖抑制作用の結果と同じく、Vero/Mでは、IFN- $\alpha$   $10^2$  IU/mlでウイルス蛋白の合成は著しく抑制されたが、HEL/Sでは、 $10^4$  IU/mlでウイルス蛋白合成抑制が中等度みられる程度であった。piFL/MにおけるIFN- $\alpha$ のウイルス蛋白合成抑制はHEL/Sと同程度であった。

#### 〔総括〕

これらの結果、細胞依存性SSPEウイルスのin vitroでのウイルス増殖抑制には、麻疹ウイルスの場合の1000倍量を要したが、IFN- $\alpha$ 、 $\beta$ にはSSPEウイルスの増殖抑制効果のあることがわかった。臨床的には、IFNの効果持続期間を考慮して、脳室内投与による治療には、IFN- $\alpha$ または $\beta$ を少なくとも2日以内の間隔で、脳内のIFNが $10^4$  IU/ml以上の高濃度の状態が持続するように、投与することが望ましいと考えられた。報告されている脳室内IFN投与では、多くの場合、1回当たり $10^6$  IU、

投与間隔は隔日または週 2 回投与であるので、量的には少ないと思われる。この 10 倍量を用いた場合にはもっと確実な治療効果が得られるであろうことが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) は根治療法がなく、臨床的にはインターフェロンの脳室内投与により効果があったとする報告がなされているが、SSPE ウイルスに対する *in vitro* における効果を調べた報告はなく投与量や投与間隔は経験的に決められてきた。

本研究は、SSPE ウイルスに対するインターフェロンの効果を *in vitro* で調べたもので、その結果、SSPE ウイルス (微研株) の場合、麻疹ウイルスと比較して、 $10^3$  倍の濃度が必要であるが、インターフェロン  $\alpha$ 、 $\beta$  では、 $10^4$  IU/ml で 90% 増殖抑制効果が認められた。また、インターフェロンで細胞を前処理すると SSPE ウイルスに対する増殖抑制作用は、インターフェロンを除去しても 24 時間は持続することが明かとなった。この結果から、治療には 48 時間以内の間隔で、脳内濃度が  $10^4$  IU/ml の濃度となるように投与することが望ましい事が示唆された。

本研究はインターフェロンによる SSPE の治療に実験的根拠を与えたものとして、博士論文に値するものと考えられる。