

インターフェロン並びにインターフェロン 誘起剤に関する基礎的・臨床的研究

第 1 編

インターフェロン並びにインターフェロン誘起剤の好中球 Chemiluminescence に及ぼす影響

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

福 本 光 宏

(平成 3 年 12 月 9 日受稿)

Key words : Interferon, Ge-132, OK-432, Neutrophil Chemiluminescence

緒 言

Interferon (IFN) は、1957年 Isaacs ら¹⁾の発見以来抗ウイルス作用²⁾、抗細胞増殖作用³⁾、マクロファージ⁴⁻⁷⁾並びにNK細胞活性化作用^{8,9)}、Antibody-dependent cell cytotoxicity (ADCC) 活性化作用^{7,10)}、遅延型過敏反応の抑制作用¹¹⁾、好中球 Fc レセプター増加作用¹²⁾など種々の生物学的活性が明らかにされている。なかでも抗腫瘍効果に関しては Gresser ら¹³⁾の報告以来多くの研究が重ねられ¹⁴⁻¹⁶⁾、現在多発性骨髄腫^{17,18)}、腎癌¹⁹⁾、有毛細胞白血病^{20,21)}、慢性骨髄性白血病^{22,23)}などにおいて抗腫瘍剤としての地位を確立しつつある。また近年、Biological response modifiers (BRMs) の主たる作用が IFN 誘起能に起因することが明らかにされているが、その一つである Ge-132 (β -Carboxyethyl-germanium sesquioxide, 分子量339.34) についても強力な IFN 誘起能を持つことが明らかにされ、その薬理活性としてのマクロファージ・NK細胞活性化作用、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用は誘起 IFN に基づくことが報告されている²⁴⁻²⁶⁾。

さて生体防御機構は非特異的、特異的防御機構の2つから構成され、各々体液性、細胞性に分類される。すなわちその成立は、好中球、単球-マクロファージによる異物あるいは細菌の

貪食という非特異的防御機構の発動から T リンパ球、B リンパ球への抗原提示という一連の過程によるが、なかでも「遊走-異物の認識-貪食-殺菌-消化」という一連の機能をもって初期の生体防御に関与する好中球の役割は大きい²⁷⁾。すでに述べたごとく、IFN は多くの生物学的活性を有しており、マクロファージ並びにNK細胞の活性化、ADCC 活性化、遅延型過敏反応への関与さらに好中球 Fc レセプターの発現など生体防御へのひろい関与が報告されているが、好中球殺菌機構、特に酸素依存性の殺菌機構に対する体系的検討は少なく、その検討は生体防御における IFN の位置づけをより明確にするものと思われる。

今回著者は以上の観点にたち、IFN 並びに IFN 誘起剤の好中球 Chemiluminescence (ChL) に及ぼす影響を臨床例において経時的に検討するとともに in vitro システムにおいても検討を加え、その生体防御への関与を明確にするとともに臨床応用への一助とせんとした。

研究対象並びに方法

1. 対象症例

IFN 投与群 9 例、Ge-132投与群11例の計20例を対象とした。各群の疾患内訳は表 1 に示すごとくで、IFN 投与群は悪性リンパ腫 3 例、多発性骨髄腫 3 例、腎細胞癌 2 例、精上皮腫 1 例で、

表1 IFN 並びに Ge-132投与症例

症例	No.	年齢	性	疾 患	投与前	CRP*	
						1 週目	1 ヶ月目
IFN 群							
	1.	52	男	悪性リンパ腫	6+	4+	5+
	2.	50	男	悪性リンパ腫	4+	5+	6+
	3.	70	男	悪性リンパ腫	+		
	4.	67	男	多発性骨髄腫	±	-	
	5.	66	女	多発性骨髄腫	-	±	±
	6.	60	男	多発性骨髄腫	±	+	±
	7.	73	男	腎細胞癌	5+	5+	4+
	8.	79	男	腎細胞癌	-	-	±
	9.	29	男	精上皮腫	6+	3+	4+
Ge-132 群							
	1.	69	男	急性単球性白血病 (CR)	2+	5+	4+
	2.	58	男	急性単球性白血病 (CR)	6+	2+	+
	3.	22	男	急性単球性白血病 (CR)	+		3+
	4.	56	女	急性骨髄性白血病 (CR)	-	-	-
	5.	38	男	急性骨髄性白血病 (CR)	-	-	-
	6.	17	女	急性骨髄性白血病 (CR)	2+	2+	2+
	7.	53	男	急性前骨髄性白血病 (CR)	4+	3+	4+
	8.	43	男	赤白血病	4+	+	3+
	9.	67	男	多発性骨髄腫	-	-	±
	10.	63	男	肝細胞癌	±	-	-
	11.	30	男	肺結核	±	±	±

* : 好中球 ChL 測定時における CRP 値 CR : Complete remission

腎細胞癌 2 例は未治療例であり、他の 7 例は化学療法不応例である。一方 Ge-132 投与群の疾患内訳は急性単球性白血病 (AMoL) 3 例、急性骨髄性白血病 (AML) 3 例、急性前骨髄性白血病 (APL) 1 例、赤白血病 1 例、多発性骨髄腫 1 例、肝細胞癌 1 例、肺結核 1 例で、AMoL, AML, APL の 7 例は完全寛解状態にあり、多発性骨髄腫例は化学療法不応例、赤白血病、肝癌症例は未治療例、肺結核症例は抗結核剤を投与中の症例である。なお、正常健康人 31 例〔男性 18 例、女性 13 例、年齢構成 21~92 才 (平均年齢 42.4 才)〕を対照とした。

2. 薬剤投与方法

IFN は Burkitt lymphoma (Namalwa 株) 由来の天然型 IFN- α (HLBI, 住友化学工業株式会社) を用い、1 日 1 回 300 万単位を連日筋注法にて 1 ヶ月以上継続投与した。Ge-132 (β -carboxyethylgermanium sesquioxide, 浅井ケ

ルマニウム研究所) は 1 日 3 回、計 9 カプセル (2,250mg) を連日経口にて 1 ヶ月以上継続投与した。

3. 好中球 ChL の測定

ChL の測定は IFN あるいは Ge-132 投与前、投与後 1 週目、投与後 1 ヶ月目に測定した。測定に際しての採血は早朝空腹時に行い、ヘパリン加静脈血 5 ml に 6% デキストラン生食水を 5 : 1 の割合で加え、室温にて 35~45 分間静置した後、buffy coat をプラスチック遠沈管にとり 4℃にて 150 g, 10 分間遠沈した。さらに上清を捨てたのち、沈層に 5 ml の氷冷蒸留水を加え、十分に pipetting しつつ赤血球の低張処理を行った。60 秒間の pipetting の後 1.8% 氷冷食塩水 5 ml を加え等張に戻し、4℃にて 150 g, 10 分間遠沈した後、0.9% 氷冷食塩水を 10 ml 加え洗滌し、再度 4℃にて 150 g, 10 分間遠沈を行った。上清を捨てた後沈層に Medium 199 (pH 7.2) を加え、

細胞浮遊液を作成した。その後測定用 tube に好中球浮遊液80 μ lを加え、さらに luminol 溶解液 10^{-2} μ Mを加え10秒振盪した後5分間静置し、Photocounter (Biocounter 2000, Lumac 社製)を用い、刺激前化学発光 (Base line) を測定した。なお、測定用 tube 内の細胞数が 5×10^5 個/mlになる様に、あらかじめ細胞浮遊液を Medium 199を用いて調整した。その後 concanavalin A (Con A) を200 μ g 反応液に加え、刺激後の最大化学発光量 (Peak level), 刺激後の最大化学発光到達時間 (Peak time) を測定し各群で比較検討した。好中球の分離は無菌的に操作し、ChL 測定は暗室において37 $^{\circ}$ C, pH 7.2の条件下で行い、発光量の単位は好中球 10^5 個に対する relative light unit (RLU) で表現した。

4. 好中球 ChL に及ぼす濃度並びに時間依存性の検討

正常健康人4例(男性, 年齢構成29~31才(中央値30才))より前述した方法にて分離した好中球を各濃度の IFN (10^2 u/ml, 10^3 u/ml, 10^4 u/ml), Ge-132 (10^{-2} mg/ml, 10^{-1} mg/ml, 1mg/ml), OK-432 (10^{-4} KE/ml, 10^{-3} KE/ml, 10^{-2} KE/ml) と37 $^{\circ}$ C, 60分間接触させ、その後0.9%食塩水にて2回洗滌し、好中球 ChL を測定することによって好中球 ChL に対する濃度依存性について検討した。また分離した好中球を IFN (10^3 u/ml), Ge-132 (10^{-1} mg/ml), OK-432 (10^{-3} KE/ml) と30分間, 60分間, 120分間37 $^{\circ}$ Cにて接触させ、好中球 ChL に対する IFN 並びに IFN 誘起剤の時間依存性について検討した。

なお、有意差検定は Wilcoxon の non-parametric 法を用いた。

成 績

1. 正常健康人における好中球 ChL の検討

正常健康人31名(男女比18:13, 年齢構成21~92才)における各測定値は図1に示すごとくで、Base line 199 \pm 141 RLU, Peak level 5,482 \pm 1,697 RLU, Peak time 4'43" \pm 1'06"であった。なお男女間あるいは年齢別(20~39才, 40~69才, 70才以上) 検討で有意の差は認められなかった。

2. IFN 投与症例における好中球 ChL の検討

IFN 投与症例における投与前, 投与後1週目, 1ヶ月目の好中球 ChL 値は表2, 図2に示すごとくである。Base line についてみると投与前 1,250 \pm 1,713 RLU, 投与後1週目1,461 \pm 2,466 RLU, 投与後1ヶ月目1,255 \pm 947 RLUと一定の傾向は認められず、投与後1週目に投与前値より上昇し1ヶ月目に投与前値あるいはそれ以下に低下したものが1例、1週目不変で、1ヶ月目に高値を示したものが4例、ほぼ不変であったもの3例、のこり1例は投与前に比し1週目1ヶ月目とも低値を示した。またコントロール群との比較ではいずれも有意の上昇が認められた。

つぎに Peak level についてみると、投与前 17,456 \pm 15,275 RLU, 投与後1週目25,958 \pm 20,194 RLU, 投与後1ヶ月目19,463 \pm 10,108 RLUと図2にしめすごとく投与前値に比し投与後1週目に有意の上昇が認められ、各症例についてみると、IFN 投与症例9例中7例が投与後1週目に上昇を示しており、この7例中3例は

症例数	31
年齢分布(才)	21~92
性別(男:女)	18:13
Base line (RLU)	199 \pm 141
Peak level (RLU)	5,482 \pm 1,697
Peak time (min)	4'43" \pm 1'06"

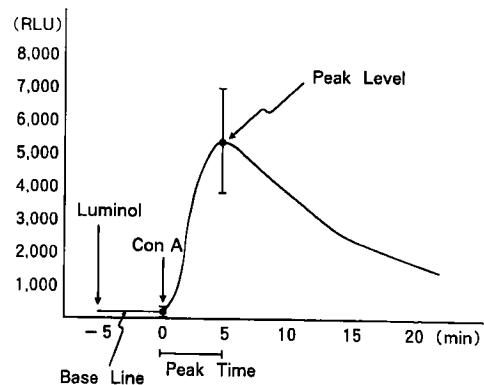


図1 正常健康人における好中球 Chemiluminescence

表2 IFN並びにGe-132の好中球 Chemiluminescence に及ぼす影響

	IFN 群	Ge-132群	Control 群
Base line			
投与前	1,250±1,713 ^a	469±758	199±141
1週目	1,461±2,466 ^b	1,174±1,786 ^a	
1ヶ月目	1,255±947 ^a	396±424	
Peak level			
投与前	17,456±15,275 ^a	8,563±5,358 ^b	5,482±1,697
1週目	25,958±20,194 ^a	13,515±7,064 ^a	
1ヶ月目	19,463±10,108 ^b	9,785±3,705 ^a	
Peak time			
投与前	4'28"±1'01"	4'08"±1'06"	4'43"±1'06"
1週目	4'37"±0'44"	3'38"±1'12"	
1ヶ月目	4'03"±0'31"	3'35"±0'48"	

a : P<0.01, b : P<0.05 VS Control

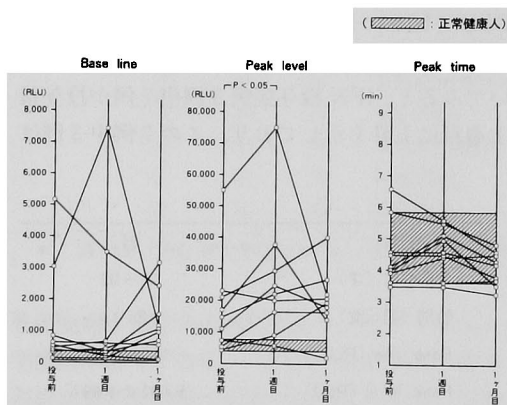


図2 IFNの好中球 Chemiluminescence に及ぼす影響

1ヶ月目にも高値を示したが、他の4例は投与前値あるいはそれ以下の値まで低下した。残り2例のうち1例はほぼ不変であり、もう1例は1週目不変で1ヶ月目低下を示した。またコントロール群との比較ではいずれも有意の上昇が認められた。

なお、Peak timeは略々正常範囲内を変動した。

3. Ge-132投与症例における好中球 ChL の検討

Ge-132投与症例における投与前、投与後1週目、1ヶ月目の好中球 ChL 値は表2、図3に示

すごとくである。Base lineについてみると投与前469±758 RLU、投与後1週目1,174±1,786 RLU、投与後1ヶ月目396±424 RLUと投与後1週目に有意の上昇が認められた。各症例についてみると図3に示すごとく、Ge-132投与症例11例中10例が投与後1週目に上昇を示し、この10例中1例は1ヶ月目も上昇を示したが、他の9例では投与前値あるいはそれ以下の値まで低下した。のこり1例はほぼ不変であった。またコントロール群との比較では投与後1週目のみ有意の上昇が認められた。

Peak levelについてみると投与前8,563±5,358 RLU、投与後1週目13,515±7,064 RLU、投与後1ヶ月目9,785±3,705 RLUと投与後1週目に有意の上昇が認められた。各症例についてみると図3に示すごとく Ge-132投与症例11例中10例が投与後1週目に上昇を示し、この10例中1例は1ヶ月目も上昇を示したが、他の9例は投与前値あるいはそれ以下の値まで低下した。のこり1例はほぼ不変であった。また、コントロール群との比較ではいずれの値も有意の上昇が認められた。なお、Peak timeは略々正常範囲内を変動した。

4. in vitro における検討

IFN, Ge-132, OK-432の好中球 ChL への影響を濃度別に検討した。その結果は図4、5、

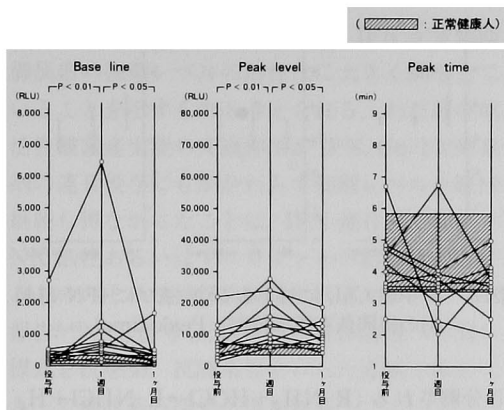


図3 Ge-132の好中球 Chemiluminescence に及ぼす影響

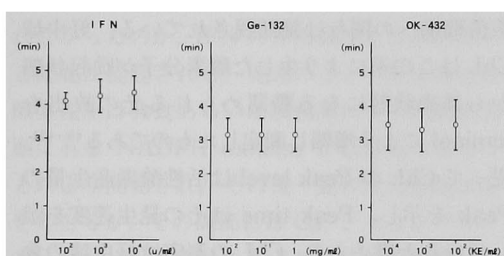


図5 好中球 ChL に対する IFN 並びに IFN 誘起剤の濃度依存性の検討 (Peak time)

6に示すごとくで、Base line, Peak level 値は Control に対する比率をもって表現した。Base line, Peak time に関しては IFN, Ge-132, OK-432とも各濃度間で有意差を認めなかったが(図4, 5), Peak level は IFN 群において、濃度依存性を示し上昇が認められた(図6)。なお、Ge-132, OK-432にはこの傾向は認められなかった。時間依存性について検討した結果は図7, 8, 9に示すごとくで、Base line, Peak time に関しては一定の傾向を認めなかったが(図7, 8), Peak level は IFN 群において、時間依存性を示し上昇した(図9)。なお、Ge-132, OK-432にはこの傾向は認められなかった。

考 察

IFN は抗ウイルス物質として発見され、その後様々な生物学的活性^{28,29)}、なかでも抗腫瘍活性が注目され、現在多発性骨髄腫^{17,18)}、腎癌¹⁹⁾、有毛細胞白血病^{20,21)}、慢性骨髄性白血病^{22,23)}をはじめ

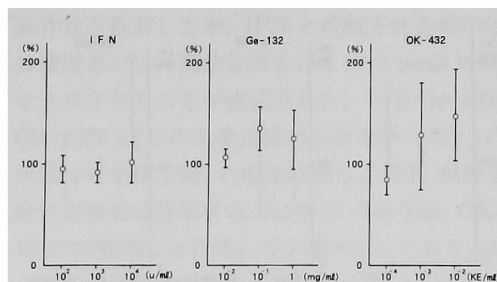


図4 好中球 ChL に対する IFN 並びに IFN 誘起剤の濃度依存性の検討 (Base line)

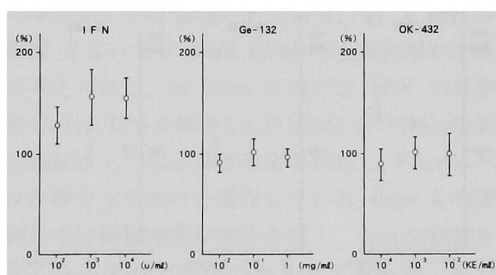


図6 好中球 ChL に対する IFN 並びに IFN 誘起剤の濃度依存性の検討 (Peak level)

めとする多くの悪性腫瘍に対しその効果が検討されている¹⁴⁻¹⁶⁾。IFN の抗腫瘍活性に関しては、腫瘍に対する直接的作用とともにマクロファージやNK細胞などの各種免疫担当細胞を介した宿主介在型の作用が複雑にからみ合っており、その生物学的多面性が明らかにされるなかで biological response modifier (BRM) としての位置づけがより一層明確にされるものと考えられる。

これまで IFN の食作用との関連については、マクロファージ貪食能の亢進が報告されており⁴⁻⁷⁾、好中球についても遊走能^{30,31)}、附着能^{32,33)}、貪食能^{31,32,34-36)}、殺菌能^{37,38)}、消化能^{30,38)}について緒家の報告がある。好中球については、そのほとんどが各機能を活性化したとするものであるが、その反面影響を及ぼさなかったとの報告もあり、未だ統一された見解に至ってはいない。好中球の食作用は形態学的に遊走、附着、phagosome 形成、phagolysosome 形成、消化といった一連の変化としてとらえられるが、この過程で酸素消費の増加、解糖系の亢進、hexose

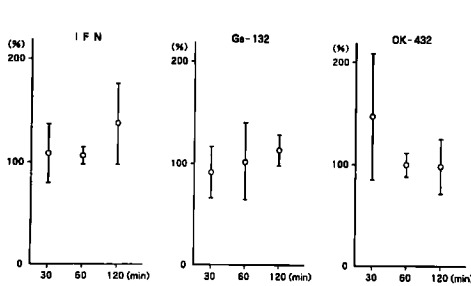


図7 好中球 ChL に対する IFN 並びに IFN 誘起剤の時間依存性の検討 (Base line)

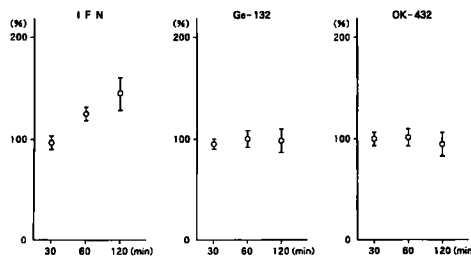


図9 好中球 ChL に対する IFN 並びに IFN 誘起剤の時間依存性の検討 (Peak level)

monophosphate shunt (HMPS) の活性化, 活性酸素 (O_2 , $OH\cdot$, H_2O_2 , 1O_2) の産生などいくつかの生化学的反応を示すことが知られている。なかでも活性酸素の産生は殺菌能との関連において注目されている。好中球の殺菌機構は, 活性酸素を利用した「酸素依存系機構」と, 顆粒内酵素を中心とした「酸素非依存系機構」に分けられるが, このうち最も強力な系は Myeloperoxidase (MPO) を介した酸素依存系である³⁹⁾。この系は膜刺激あるいは食食刺激により細胞膜に存在する NADPH オキシダーゼが活性化され, 酸素よりスーパーオキシド (O_2^-) が産生されることにより始まる。産生された O_2^- は弱い殺菌能しか有しておらず, さらにスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) により急速に H_2O_2 へと変化し, この H_2O_2 は MPO を触媒としてハロゲンイオンと反応することにより HOCl を産生し ($Cl^- + H_2O_2 + H^+ \xrightarrow{(MPO)} HOCl + H_2O$), アミノ酸を攻撃して脱アミノと脱炭酸反応を起こす。細菌膜はアミノ糖を含むため, そのアミノ基は容易に HOCl によりクロラミンを生

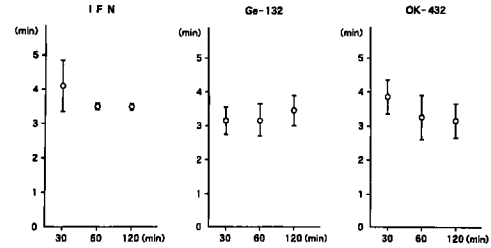


図8 好中球 ChL に対する IFN 並びに IFN 誘起剤の時間依存性の検討 (Peak time)

じ分解される ($R-NH_2 + HOCl \rightarrow R-NHCl + H_2O$). 同時に産生されるヒドロキシラジカル ($OH\cdot$) や一重項酸素 (1O_2) などの活性酸素も強力な酸化剤であるが, 短期間で消滅するため好中球の殺菌機構への関与は疑問視されている。好中球 ChL はこの系により生じた酸素分子が励起状態から基底状態になる際認められる光の放出を luminol により増幅し測定したものである⁴⁰⁻⁴²⁾。従って ChL の Peak level は活性酸素産生量の Peak を示し, Peak time はその発生速度を示していると考えられ, ChL の測定は好中球の食食あるいは膜刺激によって惹起される酸化代謝過程並びに活性化状態を把握する一つの指標として用いられている。

今回著者は IFN 並びに IFN 誘起剤 (Ge-132) の好中球機能への影響を検討することを目的とし, *in vivo*, *in vitro* において各薬剤を投与し, 好中球 ChL を測定した。IFN 投与症例, Ge-132 投与症例とも各症例の基礎疾患とその病態あるいは合併症という臨床背景に差はあるものの, 薬剤投与後 1 週目には Peak level が投与前値より上昇し 1 ヶ月目には多くの場合投与前値まで低下することが認められた。なおこれまでに感染合併による好中球 ChL の上昇が報告され^{43,44)}、その測定値の評価に際しては常に感染合併の影響を考える必要があることは言うまでもない。この点につき著者は CRP を一つの目安とし ChL 測定時並行し CRP 値を測定したわけであるが, 投与前, 投与後 1 週目, 投与後 1 ヶ月目と CRP の有意の変動はなく, 今回 Peak level に認めた一連の変動は IFN あるいは Ge-132 投与によるものと考えられる。また今回認めた成績はマクロファージ食食能の亢進作用や好

好中球貪食能亢進作用等も含めて、IFN が生体防御反応の初期レベルの活性化に大きく関与していることを示すものと考えられる。ただ好中球活性酸素産生能の亢進作用が IFN, Ge-132 両薬剤の連日投与にもかかわらず初期レベルを維持継続し得なかったことは、IFN 連日投与症例で NK 活性あるいはマクロファージ活性は上昇するもののその後投与前値まで低下するといった報告^{9,45)}とも併考し、両薬剤の生体防御への関与様式を抗感染、抗腫瘍性といった意味で検討する上で興味ある所見と思われる。

それではいかなる機序により IFN が好中球活性酸素産生能を亢進させたのか、またなぜ連日投与にもかかわらず初期の活性レベルが維持されなかったのか、IFN の作用機序を含め興味ある問題が提起される。先述のごとく好中球活性酸素産生は貪食あるいは膜刺激により細胞膜表面に有る NADPH oxidase が活性化されることにより開始され、その後一連の生化学的反応をたどるが、その調節には Ca^{2+} 、セリンプロテアーゼ、cyclic AMP などの反応仲介物質、あるいは微細繊維 (microfilaments)、微小管 (microtubules) などの細胞骨格の関与を受けることが指摘されている⁴⁶⁻⁴⁸⁾。しかしながら IFN の生物活性は、すべて細胞膜を介して行われていると考えられており^{49,50)}、マクロファージ Fc レセプターの増加⁵¹⁾、好中球 Fc γ レセプター数の増加⁵²⁾、好中球 Fc3b レセプター数の増加⁵²⁾、等の報告をふまえると、その活性化はレセプターを含めた細胞膜レベルでの修飾によるものと考えられる。また、初期活性化レベルが維持継続できなかったことについては、細胞の機能的消耗、細胞内酵素の消耗、IFN 中和抗体の出現、レセプターレベルでの域値の上昇あるいはレセプター数の低下等が考えられる。すでに IFN によるマクロファージ活性化作用に関して同様の傾向が認められ、その機序について細胞の機能的消耗が考えられている⁴⁵⁾。またこれまでの報告から IFN 中和抗体の出現はそれ程高率に認められないこと^{53,54)}などからして、その原因は細胞膜上のレセプターを含めた細胞内酵素の誘導状況にあるのではないかと推定される。

つぎに in vitro において IFN の濃度、時間

依存性を検討したが、IFN と接触させた好中球は濃度並びに時間依存性を示しつつ peak level を上昇させることが確認された。一方 Ge-132, OK-432 にはこの上昇は認められなかった。この所見は好中球 ChL の産生に際し、IFN が好中球に直接的に作用するのに対し、Ge-132, OK-432 は直接的には作用しない事を示しており、Ge-132 投与群での投与後 1 週目の peak level 上昇は、生体内で IFN 産生を介しての作用であると考えられた。また、Ge-132, OK-432 は強力な IFN 誘起剤であるが²⁴⁻²⁶⁾、誘起される IFN はリンパ球を介しての IFN- γ であり、 α 、 γ 何れの IFN においても peak level の上昇作用があると考えられた。in vitro における IFN の好中球 ChL に対する作用として Udén ら⁵⁵⁾や Gyllenhammar ら⁵⁶⁾は上昇させると報告し、Farr ら³²⁾は影響を与えないと報告している。Farr らの実験系では接触時間が 30 分と短く、これが影響を与えない原因ではないかと考えられた。また Gyllenhammar は最低 1 時間の接触時間は必要と報告しており、好中球 H_2O_2 産生能の増加作用に関しても同様の報告が見られ^{57,58)}、今回の筆者の実験においても 30 分ではほとんど変化は認められておらず、IFN による影響が発現するには 1 時間以上の接触時間が必要と考えられた。

以上 IFN 並びに IFN 誘起剤 Ge-132 は好中球活性酸素産生能をも活性化しつつ幅広く生体防御機構に関与していることが示された。しかしながら、IFN 投与症例、Ge-132 投与症例何れにおいても投与 1 ヶ月後には好中球活性酸素産生能の活性化作用が減弱していた。これは IFN 並びに IFN 誘起剤を連続投与した場合、マクロファージ活性化作用⁴⁵⁾、NK 細胞活性化作用⁹⁾と同様に好中球活性酸素産生能の活性化作用も維持できないことを示しており、今後抗腫瘍作用あるいは抗感染作用の両面からこれら薬剤の投与方式を考える時、連続投与よりむしろ間欠投与が考慮されるべきであると考えられた。

結 論

IFN 並びに IFN 誘起剤の生物学的活性を明確にすべく好中球 ChL に及ぼす影響を、in vivo, in vitro にて検討した。その結果

1. IFN 並びに Ge-132投与群では、投与後1週目の好中球 ChL の peak level は有意に上昇した。

2. IFN 並びに Ge-132投与群の好中球 ChL の peak level 上昇作用は、連日投与にもかかわらず投与後1ヶ月目には、ほぼ投与前値にまで低下した。

3. IFN は in vitro において濃度依存性並びに時間依存性に好中球 ChL の peak level を上昇させる傾向にあったが、IFN 誘起剤である Ge-132, OK-432にはその傾向は認められなかった。

以上の結論を得たが、今後 IFN 並びに IFN 誘起剤の臨床的投与に際しては、一定期間投薬後休薬するといった間欠投与が抗腫瘍効果あるいは抗感染効果の発現に有用ではないかと考えられた。

本論文の要旨は第46回日本血液学会総会（京都）において発表した。

稿を終えるにあたり御指導ならびに御校閲を賜った恩師木村郁郎教授に深謝するとともに、終始懇切なる御指導と御助言を頂いた高橋功講師に感謝の意を表する。

文 献

- 1) Isaacs A and Lindenmann J : Virus interference. I. The interferon. Proc R Soc Lond Ser B Biol sci (1957) **147**, 258—267.
- 2) Gresser I, Tovey MG, Bandu M-T, Maury C and Brouty-Boyé D : Role of interferon in the pathogenesis of virus diseases in mice as demonstrated by the use of anti-interferon serum. J Exp Med (1976) **144**, 1305—1316.
- 3) Brouty-Boyé D, Maciera-Coelho A, Fiszman M and Gresser I : Interferon and cell division. VIII. Effect of interferon on macromolecular synthesis in L1210 cells in vitro. Int J Cancer (1973) **12**, 250—258.
- 4) Huang K-U, Donahoe RM, Gordon FB and Dressler HR : Enhancement of phagocytosis by interferon-containing preparations. Infect Immun (1971) **4**, 581—588.
- 5) Imanishi J, Yokota Y, Kishida T, Mukainaka T and Matsuo A : Phagocytosis-enhancing effect of human leukocyte interferon preparation of human peripheral monocytes in vitro. Acta Virol (1975) **19**, 52—58.
- 6) Donahoe RM and Huang K-Y : Interferon preparations enhance phagocytosis in vivo. Infect Immun. (1976) **13**, 1250—1257.
- 7) Zafra C, dela Fuente M, Gaytan F, Solana R and Peña J : Effect of fiblaferon-L on the human immune system. Chemotherapy (1984) **30**, 131—136.
- 8) Herberman RB, Ortaldo J and Bonnard GD : Augmentation by interferon of human natural and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. Nature (1979) **277**, 221—223.
- 9) Huddlestone JR, Merigan Jr TC and Oldstone MB : Induction and kinetics of natural killer cells in human following interferon therapy. Nature (1979) **282**, 417—419.
- 10) Wardley RC, Babiuk LA and Rouse BT : Polymorph-mediated antibody-dependent cytotoxicity-modulation of activity by drugs and immune interferon. Can J Microbiol (1976) **22**, 1222—1228.
- 11) Maeyer ED, Maeyer-Guignard JD and Vandeputte M : Inhibition by interferon of delayed-type hypersensitivity in the mouse. Proc Natl Acad Sci USA (1975) **72**, 1753—1757.
- 12) Petroni KC, Shen L and Guyre PM : Moduration of human polymorphonuclear leukocyte IgG Fc receptors and Fc receptor-mediated functions by IFN- γ and glucocorticoids. J Immunol (1988) **140**, 3467—3472.
- 13) Gresser I : Antitumor effects of interferon. Cancer Res (1972) **16**, 97—140.

- 14) Slater LM, Wetzel MW and Cesario T : Combined interferon-antimetabolite therapy of murine L1210 Leukemia. *Cancer* (1981) **48**, 5—9.
- 15) Sawada T, Takamatsu T, Tanaka T, Mino M, Fujita K, Kusunoki T, Arizono N, Fukuda M and Kishida T : Effects of intralesional interferon on neuroblastoma. *Cancer* (1981) **48**, 2143—2146.
- 16) Louie C, Gallagher JG, Sikora K, Levy R, Rosenberg SA and Merigan TC : Follow-up observations on the effect of human leukocyte interferon in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* (1981) **58**, 712—718.
- 17) Ludwig H and Swetly P : In vitro inhibitory effect of interferon on colony formation of myeloma stem cells. *Cancer Immunol Immunother* (1980) **9**, 139—143.
- 18) 小田康広, 高橋 功, 稲垣登稔, 福本光宏, 植田育寛, 大本英次郎, 藤本修逸, 遠藤 裕, 渡辺清一郎, 頼敏裕, 入江誠治, 木村郁郎, 石井廣文, 瀬崎達雄 : 造血器腫瘍におけるインターフェロンの臨床効果, 癌と化学療法 (1983) **10**, 1313—1319.
- 19) Quesada JR, Swanson DA, Trindade A and Gutterman JU : Renal cell carcinoma : Antitumor effects of leukocyte interferon. *Cancer Research* (1983) **43**, 940—947.
- 20) Janssen J TH P, Pauw B E DE and Holdrinet RSG : Treatment of hairy-cell leukemia with recombinant human α_2 -interferon. *Lancet* (1984) **5**, 1025—1026.
- 21) Quesada JR, Reuben J, Manning JT, Hersh EM and Gutterman JU : Alpha interferon for induction of remission in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* (1984) **310**, 15—18.
- 22) 小山 覚, 森山美昭, 柴田 昭, 三浦恭定, 阿部達生, 浅野茂隆, 宮崎 保, 三浦 亮, 刈米重夫, 外山圭助, 下山正徳, 荒川正昭, 平野正美, 古田精市, 大戸隆明, 瀧野辰郎, 前川 平, 林 英夫, 春山春枝, 細田四郎, 正岡 徹, 蔵本 淳, 鎌田七男, 小熊信夫, 市丸道人 : 多施設共同研究による天然型インターフェロン α (HLBI) の慢性骨髄性白血病に対する臨床試験, 癌と化学療法 (1988) **15**, 2959—2966.
- 23) Talpaz M, McCredie KB, Mavligit GM and Gutterman JU : Leukocyte interferon-induced myeloid cytoreduction in chronic myelogenous leukemia. *Blood* (1983) **62**, 689—692.
- 24) 石田名香雄 : インターフェロンとインターフェロン誘起剤, *Minophagen Medical Review* (1981) **26**, 1—21.
- 25) 海老名卓三郎 : 誘起インターフェロンの特性 ; 宿主体防御の機構, 水野伝一, 武谷健二, 石田名香雄編, 東京大学出版会, (1983) pp. 275—288.
- 26) 麻生 久, 鈴木富士夫, 山口高弘, 林 芳郎, 海老名卓三郎, 石田名香雄 : 有機ゲルマニウム化合物 Ge-132のマウスにおける IFN 誘起能と NK 細胞, マクロファージ活性化作用, 癌と化学療法 (1982) **9**, 1976—1980.
- 27) 竹重公一郎 : 食作用 ; 白血球と食作用, 水上茂樹, 柿沼カツ子編, 講談社, (1984) pp 46—58.
- 28) 布施 晃 : インターフェロンの生物学的活性, 免疫薬理 (1983) **1**, 89—94.
- 29) 熊谷勝男 : 免疫応答におけるインターフェロンの役割, 免疫薬理 (1983) **1**, 9—13.
- 30) 斉藤博士, 早川哲夫, 油井泰雄, 信太隆夫 : ヒト好中球および好酸球の機能に及ぼす Influenza Virus 感染ヒト単核球の培養上清の影響 : Interferon の役割. *アレルギー* (1986) **35**, 356—366.
- 31) Jarstrand C and Einhorn S : Effect of interferon on human neutrophilic granulocytes. *Cancer Immunol Immunother* (1983) **16**, 123—126.
- 32) Farr B, Gwaltney Jr JM, Hayden FG and Mandell GL : Human polymorphonuclear neutrophil functions are unaffected by human interferon- α_2 . *Infect Immun* (1983) **42**, 1195—1197.
- 33) Seow WK and Thong YH : Augmentation of human polymorphonuclear leukocyte Adherence by interferon. *Int Archs Allergy Appl Immunol* (1986) **79**, 305—311.
- 34) Melby K, Midtvedt T and Degre M : Effect of human leukocyte interferon on phagocytic activity of

- polymorphonuclear leukocytes. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Sect B* (1982) **90**, 181—184.
- 35) Shalaby MR, Aggarwal BB, Rinderknecht E, Svedersky LP, Finkle BS and Palladino Jr MA : Activation of human polymorphonuclear neutrophil functions by interferon- γ and tumor necrosis factors. *Immunol* (1985) **135**, 2069—2073.
 - 36) Brunelleschi S, Fallani S, Novelli A, Reali EF, Rubino A, Spezia R, Tarli S, Vanni L, Dianzani C, Viano I and Fantozzi R : Modulation of neutrophil functions by a beta-interferon of human origin. *J Biol Regul Homeostatic Agents* (1988) **2**, 93—98.
 - 37) Berton G, Zeni L, Cassatella MA and Rossi F : Gamma interferon is able to enhance the oxidative metabolism of human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun* (1986) **138**, 1276—1282.
 - 38) Kowanko IC and Ferrante A : Stimulation of neutrophil respiratory burst and lysosomal enzyme release by human interferon-gamma. *Immunology* (1987) **62**, 149—151.
 - 39) 竹重公一郎, 水上茂樹 : 殺菌 ; 活性酸素, 二木鋭雄, 島崎弘幸編, 医歯薬出版, (1988) pp 302—317.
 - 40) Weiss SJ and Slivka A : Monocyte and granulocyte-mediated tumor cell destruction. *J Clin Invest* (1982) **69**, 255—262.
 - 41) Pekoe G, Dyke KV, Mongoli H, Peden D and English D : Comparison of effects of antioxidant non-steroidal anti-inflammatory drugs against myeloperoxidase and hypochlorous acid luminol-enhanced chemiluminescence. *Agents Actions* (1982) **12**, 232—238.
 - 42) 中野 稔 : O_2^- と疾病 ; スーパーオキシイド O_2^- , 中野 稔, 松浦輝男, 二木鋭雄編, 医歯薬出版, (1984) pp 58—77.
 - 43) Barbour AG, Allred CD, Solberg CO and Hill HR : Chemiluminescence by polymorphonuclear leukocytes from patients with active bacterial infection. *J Infect Dis* (1980) **141**, 14—26.
 - 44) Inthorn D, Szczeponik T, Muhlbyer D, Jochum M and Redl H : Studies of granuloocyte function (chemiluminescence response) in postoperative infection. *First Vienna Shock Forum* (1987) 51—58.
 - 45) Einhorn S and Jarstrand C : Decrease in the phagocytic activity of peripheral monocytes in patients treated with human interferon- α . *Cancer Immunol Immunother* (1982) **13**, 149—152.
 - 46) Nakagawara A and Minakami S : Generation of superoxide anions by leukocytes treated with cytochalasin E. *Biochem Biophys Res Commun* (1975) **64**, 760—767.
 - 47) Cohen HJ and Chovaniec ME : Superoxide production by digitonin-stimulated guinea pig granulocytes. *J Clin Invest* (1978) **61**, 1088—1096.
 - 48) 岡村直樹, 石橋貞彦 : 多形核白血球の殺菌機構—殺菌因子産生と微小管—, 炎症 (1983) **3**, 52—57.
 - 49) Friedman RM : Interferons and cancer. *J Natl Cancer Inst* (1978) **60**, 1191—1194.
 - 50) 國井 鏡, 伊藤康彦 : インターフェロンの臨床応用—現状と問題点—, 総合臨床 (1977) **26**, 1182—1192.
 - 51) Ohmann HB and Babiuk LA : Effect of bovin recombinant alpha-1 interferon on inflammatory response of bovine phagocytes. *J Interferon Res* (1984) **4**, 249—263.
 - 52) Saito H, Hayakawa T, Yui Y and Shida T : Effect of human interferon on different functions of human neutrophils and eosinophils. *Int Archs Allergy Appl Immunol* (1987) **82**, 133—140.
 - 53) Gutterman JU, Fine S, Quesada J, Horning SJ, Levine JF, Alexanian R, Bernhardt L, Kramer M, Spiegel H, Colburn W, Trown P, Merigan T and Dziewanowski Z : Recombinant leukocyte A interferon : pharmacokinetics, single-dose tolerance, and biologic effects in cancer patients. *Annals Internal Medicine* (1982) **96**, 549—556.
 - 54) Figlin RA, de Kernion JB, Mukamel E, Palleroni AV, Itri LM and Sarna GP : Recombinant interferon alfa-2a in metastatic renal cell carcinoma : Assessment of antitumor activity and anti-interferon antibody formation. *J Clin Oncol* (1988) **6**, 1604—1610.

- 55) Udén A-M, Hafström I, Palmblad J and Engstedt L : Effects of human interferon preparations on neutrophil function. *Acta Med Scand* (1984) **216**, 179—186.
- 56) Gyllenhammer H, Hafström I, Ringertz B, Udén A-M and Palmblad J : Recombinant human leukocyte interferon modulates neutrophil function in vitro. *J Interferon Res* (1988) **8**, 441—449.
- 57) 尾崎由基男, 大橋辰哉 : recombinant DNA により産生された interferon- β の好中球活性化酸素産生能に対する影響, *炎症* (1987) **7**, 175—180.
- 58) Cassatella MA, Cappelli R, Bianca VD, Grzeskowiak M, Dusi S and Berton G : Interferon-gamma activates human neutrophil oxygen metabolism and exocytosis. *Immunology* (1988) **63**, 499—506.

**Experimental and clinical studies on interferon
and its inducers**

**Part 1. Effects of interferon and its inducers
on neutrophil chemiluminescence**

Mitsuhiro FUKUMOTO

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

To evaluate one of the effects of interferon (IFN) and its inducers on neutrophil functions, neutrophil chemiluminescence (ChL) was assayed on 31 healthy individuals, nine patients treated with IFN- α (human lymphoblastoid interferon, 3×10^6 units/day i. m. daily) and 11 patients treated with Ge-132 (2,250 mg/day p. o. daily). The base lines (BLs), peak levels (PLs) and times to PLs (PTs) of neutrophil ChL were examined before, one week and one month after the treatment. The direct effects of IFN- α , Ge-132 and OK-432 on neutrophil ChL were also evaluated by using an in vitro experimental system. PLs were significantly increased one week after the treatment with IFN- α or Ge-132. However, they were decreased to the pretreatment level one month after the treatment. In vitro experimental system IFN- α enhanced PLs of neutrophil ChL showing dose and time dependencies. On the other hand Ge-132 and OK-432 showed no direct effect on neutrophil ChL in vitro. These findings suggest that IFN- α and Ge-132 enhance the host defense mechanism by the activation of neutrophil functions, and also suggest that they have some benefits not only in the clinical management of cancer but also of chronic infection.