

論文内容の要旨

氏 名 渡 邊 敬 三

学位の種類 博士(医学)

学位記番号 医第995号

学位授与の日付 平成21年3月21日

学位授与の要件 学位規程第4条第1項該当

学位論文題目 マウスヘルペス性角膜炎の再活性化抑制法の検討

論文審査委員 (主査) 教授 下 村 嘉 一

(副主査) 教授 川 田 暁

(副主査) 教授 宮 澤 正 顯

【目的】

単純ヘルペスウイルス1型(HSV-1)によるヘルペス性角膜炎は、しばしば再発を繰り返し、角膜混濁、視力低下、社会的失明となる場合がある。アシクロビル内服による再活性化抑制効果を検討した報告があるが、臨床的に十分な抑制率ではなかった。今回の研究では、マウスヘルペス性角膜炎モデルを用いて、アスコルビン酸(AsA)、亜鉛(Zn)、アデノシンモノフォスフェート(AMP)、ゲルダナマイシン(GM)のHSV-1再活性化抑制効果を検討した。

【方法】

マウス角膜にHSV-1を感染させ、AsA内服群、Zn内服群、これらのコントロールとして生理食塩水(生食)内服群、AMP筋肉内注射(筋注)群、このコントロールとして生食筋注群、GM腹腔内注射(腹注)群、このコントロールとしてジメチルスルホキシド腹注群、計7群に分類し(計350匹)、潜伏感染成立後25日目より各薬剤を投与した。免疫抑制薬と熱ストレスを用いて再活性化し、マウス眼球と三叉神経節を採取し、Plaque AssayとReal-time PCR法を用いて検討した。

【結果】

Plaque Assayによる検討で、GM腹注群は、三叉神経節における陽性サンプル数に有意な減少を認め(GM腹注群14%、コントロール群46%)、Real-time PCRでは、AMP筋注群三叉神経節におけるウイルスDNA検出コピー数に有意な減少を認めた(AMP筋注群 $8.39 \pm 27.2 \times 10^2$ /100ng of tissue DNA、コントロール群 $2.30 \pm 3.16 \times 10^3$ )。

【結論】

GMとAMPは、マウス潜伏感染モデルにおいて、HSV-1再活性化抑制効果を示すと考えられた。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成21年3月 日 公表予定	出版物名 近畿大学医学雑誌 第34巻 第1号
	公 表 内 容	平成21年3月 日 発行予定
	全 文	

論文審査結果の要旨

単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) は、眼科領域において、上皮型あるいは実質型ヘルペス性角膜炎、角膜内皮炎等の発症に関与する。HSV-1 は角結膜に初感染後、角膜、三叉神経節に潜伏感染する。発熱、ストレス、外傷、寒冷、紫外線、ステロイド投与などの誘因により再活性化し、上皮型や実質型ヘルペス性角膜炎、角膜内皮炎などを発症する。症例によっては再発を繰り返し角膜混濁のために視力低下を引き起こすため、再発を防ぐことが重要な課題としてあげられる。

現在眼科領域において、アシクロビル点眼、軟膏、バラシクロビル内服などが予防的に投与される場合があるが、角膜上皮障害などの眼局所の副作用のみならず、アシクロビル耐性の獲得などが問題となる。

また、過去にアシクロビル内服によるヘルペス性角膜炎の再発抑制効果の検討が報告されているが、臨床的に十分な抑制率ではなかった。

本研究はマウスヘルペス性角膜炎モデルを用い、アスコルビン酸 (AsA)、亜鉛 (Zn)、アデノシンモノフォスフェート (cAMP)、ゲルダナマイシン (GM) の HSV-1 の再活性化抑制効果を、Plaque Assay 法、Real-time PCR 法を用いて検討した。メス、5 週齢 BALB/c マウスを用い、両眼角膜上皮を 27G 針で Double Scratch に擦過し、高率にヘルペス性角膜炎を発症させるため、過去の報告同様、HSV-1 McKrae 株  $7 \times 10^3$  PFU/eye にて接種した。感染 3 日後、4 日後に、マウス角膜をフルオレセイン染色液にて染色、細隙灯顕微鏡下で観察し、上皮型ヘルペス性角膜炎の程度をスコアリングし、上皮型ヘルペス性角膜炎の程度が同程度になるように分類し、AsA 内服群 (0.4mg を 1 日 2 回)、Zn 内服群 (0.0065mg) を 1 日 2 回内服、これらのコントロールとして生理食塩水 (生食) 内服群、AMP 筋肉内注射 (筋注) 群、(0.04mg/0.25ml) を 1 日 1 回大腿筋腹に筋注、このコントロールとして生食筋注群、GM 腹腔内注射群 (0.25mg/0.25ml) を 1 日 1 回腹腔内注射、このコントロールとしてジメチルスルホキシド腹腔内注射群の計 7 群とした。

感染後 25 日目より薬剤投与を開始し、計 5 日間投与した。潜伏感染が成立した、感染後 28 日目より免疫抑制と熱ストレスにて再活性化し、感染後 30 日目に眼球、三叉神経節を採取し、ウイルス力価を Plaque Assay 法により求めた。さらに三叉神経節は Real-time PCR 法を用いて HSV DNA 量を定量した。

AsA 及び Zn は Plaque Assay 法及び Real-time PCR 法においてコントロール群と比較し、有意の差を認めなかった。

cAMP は Plaque Assay 法においては有意の差を認めなかったが、Real-time PCR 法では、三叉神経節においてコントロール群と比較しウイルス DNA 検出コピー数を有意に抑制した。

また、GM は Plaque Assay 法において、三叉神経節での再活性化を有意に抑制し、Plaque Assay 法においても、再活性化を抑制する傾向が見られた。

急性期感染における検討や、投与濃度、投与方法など更なる検討が必要であるとしているが、これらの結果は cAMP、GM が新たな単純ヘルペスウイルス再活性化を抑制する可能性のある薬剤として、重要な基礎データを示している。

以上の点から、主査と副主査は規定の各種審査試験、並びに博士学位論文公聴会 (平成 20 年 1 月 27 日) を実施し、慎重に審査した結果、本論文は医学博士の学位を授与するに値するものと判断された。