

論文内容の要旨

Subcutaneous administration of pegylated interferon alpha-2b affects the behavior and IL-4 levels in the frontal cortex of rats

(ペグインターフェロン $\alpha$ 2b皮下投与によるラットの行動と前頭葉のIL-4濃度への影響)

(吉田雄一, 佐原圭, 王挺, 宮坂昭生, 滝川康裕, 鈴木一幸)

(Psychopharmacology (投稿審査中))

I. 研究目的

ペグインターフェロン (PEG-IFN)  $\alpha$ 2b は週 1 回の皮下投与される半減期の長い遺伝子組み換えインターフェロンであり, 現在の C 型慢性肝炎に対する標準的な抗ウイルス療法の基幹となる薬物である. 一方で PEG-IFN  $\alpha$ 2b を含む IFN  $\alpha$  の投与により, 副作用としてうつ病等の精神症状の出現が報告されている. IFN  $\alpha$  による精神症状出現の機序は不明であるが, IFN  $\alpha$  が直接にまたは末梢, 中枢のサイトカインを誘導して間接的に視床下部 - 下垂体 - 副腎皮質系や中枢のセロトニン作動系神経等に影響を及ぼすと予想されている. 血液脳関門の存在により脳内サイトカインは血中とは異なる動態を示す可能性があるが, PEG-IFN  $\alpha$ 2b 皮下投与による精神行動異常と脳組織内のサイトカイン濃度との関連を検討した報告はない.

本研究は PEG-IFN  $\alpha$ 2b を健常なラットに皮下投与し, 自発運動活性および抑うつ様行動に与える影響と脳組織および血清中のサイトカインの変動との関連を検討した.

II. 研究対象ならび方法

馴化した 15 週齢, 雄の Wistar ラット (日本クレア) 45 匹を以下の A, B, C の 3 群に分けて実験した. A 群では PEG-IFN  $\alpha$ 2b (ペグイントロン®, MSD) 1.5  $\mu$ g/kg または対照として 0.9%生理食塩水 (生食) を単回皮下注射し, 24 時間後に血液, 脳組織を採取した (各 10 匹). PEG-IFN  $\alpha$ 2b, 対照の其々のラットのうち 6 匹は強制水泳試験を実施し同試験によるサイトカイン変動の有無を評価した. B 群では 6 匹に PEG-IFN  $\alpha$ 2b, 7 匹に生食を単回皮下注射し, 7 日間個別のケージで自発運動活性を測定した後に強制水泳試験を施行し検体を採取した. C 群では 4 週間週 1 回 PEG-IFN  $\alpha$ 2b または生食を皮下注射し, 自動運動活性測定, 強制水泳試験を施行し検体を採取した (各 6 匹). 採取した血清, 各脳組織は Multiple fluorescent bead assay (Bio-plex rat cytokine Th1/Th2 panel, Bio-Rad) で IL ( $-1\alpha$ ,  $1\beta$ , 2, 4, 5, 6, 10, 12, 13), GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  の 12 種類のサイトカインを測定し, Kruskal-Wallis test で 3 群間を比較した上で多重比較検定を行った

### III. 研究結果

1. C 群の自発運動活性測定では、4 週間の合計運動量の有意な差を認めなかった。投与後 2 週目の PEG-IFN $\alpha$ 2b 投与ラットの昼間運動量は 44052 $\pm$ 2189 回であり、対照の 36894 $\pm$ 1085 回と比較して増加した。B および C 群の投与後 1 週目の夜間では、投与後 1 日目と比べて 2, 3, 4, 5 日目にかけて対照では運動量の有意な減少を示したが、PEG-IFN $\alpha$ 2b 投与ラットでは減少を認めなかった。
2. 強制水泳試験での無動時間は A 群の PEG-IFN $\alpha$ 2b 投与ラットで 153 $\pm$ 3 秒と対照の 141 $\pm$ 3 秒と比較して延長を認めた。
3. A 群において、強制水泳試験実施ラットでは非実施ラットに比べて血清 IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-13, TNF- $\alpha$ , 前頭葉 IL-13, 血清と下垂体を除いた脳組織の GM-CSF が減少した。
4. 3 群の強制水泳試験実施ラットのサイトカインと比較すると、A 群の PEG-IFN- $\alpha$ 2b 投与ラットは対照に比べ血清 IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-10 が有意に低下した。B 群の PEG-IFN $\alpha$ 2b 投与ラットでは前頭葉の蛋白質 1mg あたりの IL-4 (0.88 $\pm$ 0.2 pg) が対照 (1.6 $\pm$ 0.1 pg) に比較して減少した。前頭葉の IL-4 濃度は血清の IL-4 濃度と関連しなかった。

### IV. 結 語

PEG-IFN $\alpha$ 2b の皮下投与により強制水泳試験での無動時間の延長や昼間および夜間の自発運動活性の変化が認められ、同薬によりラットで抑うつ様行動の出現や睡眠または安静が障害されることが示唆された。一方で強制水泳試験により脳内で有意な影響を認めなかった IL-4 が、PEG-IFN $\alpha$ 2b の皮下投与により前頭葉で減少することが示された。脳内で IL-4 は認知機能に関与しており、in vitro の実験では IFN $\alpha$  は IL-4 遺伝子の発現を抑制することが知られている。皮下投与された PEG-IFN $\alpha$ 2b はラットの行動異常を惹起し、直接または間接に中枢神経系に作用して、ヒトではうつ疾患等の精神症状との関連の深いとされている前頭葉での IL-4 発現を抑制することが示唆された。

### V. 学位申請後経過

- ※1 最終審査後、Journal of Iwate Medical Association に掲載予定。
- ※2 査読による内容の変更は不要であった。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査：教授 酒井 明夫（神経精神科学講座）

副査：教授 遠山 稿二郎（超微形態科学研究部門）

副査：准教授 花木 賢一（実験動物医学研究部門）

インターフェロンによるC型慢性肝炎治療では、副作用としてうつ病、うつ状態などの精神症状が発現することが知られている。本研究はペグインターフェロン（PEG-IFN） $\alpha$  2b をラットの皮下に投与することにより、複数の角度から行動上の変化を確認し、対応する脳内の変化を同定することを目的として行われたものである。その結果、投与群において、昼・夜間の自発運動活性の変化、強制水泳試験での無動時間の延長など、抑うつ様行動の出現や安静保持の障害などが見出された、さらに投与群では、前頭葉において認知機能に関与するとされる IL-4 の減少が確認された。

本研究はインターフェロン療法における精神症状発現の様態とその特質、さらにはそれらに対応する脳内の障害部位と障害過程の解明に寄与するものであり、学位に値する。

## 試験・試問の結果の要旨

中枢神経系に対するインターフェロン治療の詳細やその影響、効果発現の機序、抑うつを中心とする精神症状の様態や症状論、動物実験のデザインなどに関して試問し、的確な回答を得た。学位取得にふさわしい学識と指導力を認めた。

## 参考論文

1. Serial changes of liver stiffness measured by acoustic radiation force impulse imaging in acute liver failure: a case report(肝不全での ARFI による肝剛性の一連の変化：一例報告)(黒田英克, 他 10 名と共著)  
Journal of Clinical Ultrasound 40 巻, 2 号
2. Negative regulation of human astrocyte by interferon (IFN)  $\alpha$  in relation to growth inhibition and impaired glucose utilization(インターフェロン $\alpha$ によるヒトアストロサイトの増殖と糖代謝への抑制的調節)(王挺, 他 4 名と共著)  
Neurochemical research 37 巻, 9 号