

# IFN 活性とエアロゾル化 — 超音波の影響

神戸常盤短期大学 衛生技術科

佐藤 良暢

京都府立医科大学 微生物学

喜多 正和

## はじめに

ウイルス抑制因子、インターフェロン $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) の、上気道炎症や腫瘍の予防と治療の効果については、近年、表1に示すような多くの報告によって明らかにされている。とくに上気道内局所効果を目的とする最良の投与法は、IFN- $\alpha$  をエアロゾル化して、これを上気道内に噴霧吸入させることである。IFN- $\alpha$  溶液の超音波ネブライザーによるエアロゾル化の適応を評価する目的で、IFN- $\alpha$  活性に及ぼす超音波の影響をしらべた。

## 方法

噴霧吸入エアロゾルの粒度分布が適正で、上気道粘膜に様に付着させる aerosol generator として、図1に示すような超音波振動を薬液の atomizing face に与えてエアロゾルを発生させる超音波ネブライザーが市販されているが、超音波周波数によっては、IFN 活性を不活

化させる可能性が考えられる。そこで、周波数が 160 kHz の OMRON NE-U05 (図1) と、その structural diagram が同じで周波数を 28 kHz に下げた試作器 UOX を用い、それぞれの機器によるエアロゾル前後の IFN- $\alpha$  活性に差がないかどうかをしらべた。

Crude IFN として、phosphate buffer solution (PBS) に溶解した、ヒト白血球由来の IFN- $\alpha$  を用いた。その比活性は、 $1 \times 10^6$ /mg 蛋白以下である。比較上、Purified IFN として、やはり PBS に溶解したヒトリンパ芽球由来の IFN- $\alpha$  を用いた。その比活性は、 $1 \times 10^8$ /mg 蛋白以上である。また、Crude IFN も Purified IFN も、表2の上半のように300ないし500といった低力価のものと、下半のように10000単位に近い高力価のものを試みにそれぞれ用いて、超音波処理前と後のIFN力価を測定、比較した。

IFN- $\alpha$  力価測定には、cytopathic effect inhibition assay<sup>1)</sup> を用いた。

表1 Intranasal interferon for prevention of respiratory infection

Investigators	Species	Infection
J. Imanishi et al. 1980	Human	Influenza virus Parainfluenza virus
C.H. Herzog et al. 1983	Human	Common cold
F.G. Hyden et al. 1983	Human	Rhino virus
P.G. Higgins et al. 1983	Human	Corona virus
B.M. Farr et al. 1984	Human	Rhino virus
R.J. Phillipotts et al. 1984	Human	Rhino virus
R.M. Douglas et al. 1985	Human	Natural respiratory virus
A.S. Monto et al. 1986	Human	Respiratory (Rhino, Parainfluenza et al.)
R.B. Turner et al. 1986	Human	Corona virus
C.S. Sun et al. 1984	Rat	VSV
P.R. Wyde et al. 1984	Mice	VSV
P.R. Wyde et al. 1985	Mice	VSV

表2 Effect of aerosolization by a handy ultrasonic inhaler, NE-U05 (160kHz) on interferon activity

	Interferon (IFN)	Aerosolization	Interferon activity (IU/ml)					Mean±SD
			Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	
Low unit IFN	Crude IFN	before	304	300	294	302	298	300 ± 4
		after	291	302	301	305	299	300 ± 5
	Purified IFN	before	502	498	508	499	500	501 ± 4
		after	512	499	503	501	496	502 ± 6
High unit IFN	Crude IFN	before	9980	9950	9880	9920	9950	9936 ± 38
		after	9970	9980	9910	9890	9980	9946 ± 43
	Purified IFN	before	9870	9750	9830	9900	9840	9838 ± 56
		after	9850	9800	9790	9850	9820	9822 ± 28

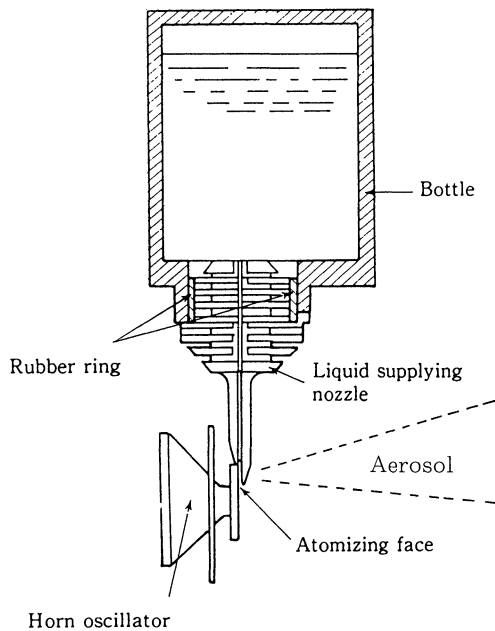


図1 Structure of atomizing parts

全ての力価は、国際標準 IFN- $\alpha$  である MR C69/19 を標準とし、International Unit, IU/ml で表した。

### 結果と考察

Aerosol generator NE-U05 にかける前の IFN 力価と、5 分間 generate した後、IFN- $\alpha$  エアロゾルを回収した IFN 液の測定力価を表 2 に示しているが、5 回の実験の平均値で、前 (before) と後 (after) の間に有意差は認められず、Crude も Purified も、またそれぞれの低力価、高力価とも、超音波エアロゾル化によって IFN 活性は何ら影響を受けないことがわかった。

一方、超音波周波数 28 kHz の UOX を用いた場合の超音波 5 分間 (300 sec.) 処理前、後の IFN 力価には、preliminary trial で、処理後の IFN 活性の著しい低下が認められた。そこ

表3 Effect of ultrasonic treatment on interferon activity

Time (seconds)	Crude IFN		Purified IFN	
	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2
0	71	95	154	90
10	76	88	146	85
20	68	91	128	78
30	60	89	123	77
60	60	87	82	56
120	57	87	58	37
180	56	85	65	18
240	56	88	57	12
300	58	66	57	12

UOX (28 kHz)

で、力価測定を、前と後だけでなく、10 sec.ごとに実施して、0 time, すなわち超音波処理前の力価からどのように減少していくかをみてみた。結果は表3に示すように、Crude IFNを用いた場合、300 sec.の超音波処理によってもIU/ml単位で71から58に、あるいは95から66に、すなわち、30%前後低下したにとどまり、IFN活性は70%前後は残存していた。一方Purified IFNの場合は、2分間の超音波処理によってすでにIFN活性が50%以下に減少し、Exp.1で154から57、すなわち63%減で、37%の残存活性、Exp.2では90が12、すなわち86.7%の減、換言すれば13.3%の活性しか残存しなかった。

被覆蛋白部分の多いCrude IFN活性への影響は、30%減程度であったのに反し、その部分を除蛋白して精製したPurified IFNが60~80%台の活性減を示したことは、Purified IFNの糖蛋白の蛋白部分が、28kHzという低周波数の超音波処理により、数分間の時間経過とともに変性を受けたためではないかと推定されるが、現在のところその詳細は不明である。

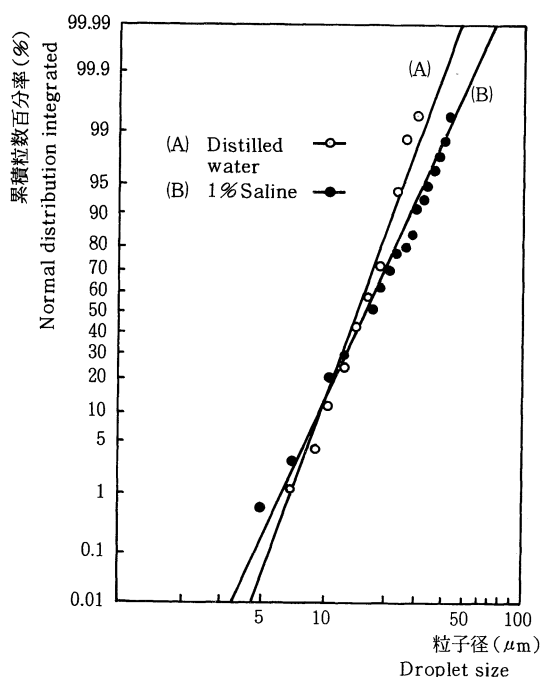


図2 Log-normal distribution of aerosol

しかし、周波数160kHzの場合はエアロゾル化後もIFN活性に影響が全く認められなかったので、aerosol generator NE-U05は、IFN- $\alpha$ の超音波エアロゾル化に何ら問題はないと考えられた。

鼻腔ないし上気道のエアロゾル沈着に最も適するエアロゾル粒径は10~30  $\mu\text{m}$ であるが、このNE-U05の発生エアロゾルの粒度分布測定の結果は、IFN- $\alpha$ 溶液の場合は図2<sup>2)</sup>中のBに近似し、その80%が粒径10~30  $\mu\text{m}$ を示し、その適正が明らかとなった。

### まとめ

上述の実験条件下においては、超音波周波数が28kHzの場合はIFN活性、とくにPurified IFNを失活させることが明らかとなった。しかし、市販の、160kHzのaerosol generatorでは失活は認められず、また発生エアロゾルの粒度分布も、上気道をターゲットとする場合、適正であることがわかった。

以上の成績から、IFN- $\alpha$ を臨床的に使用する場合、少なくとも超音波エアロゾル発生器の周波数特性に注意し、超音波ネブライザーの選択を誤らぬようにすることが必要と思われた。

### 文献

- 1) 喜多正和, 池上伯郎, 小山駿作, 森安慶子, 岸田綱太郎: 全血を用いた $\alpha$ 型インターフェロン産生能測定法, 神戸常盤短期大学紀要, 7: 75~81, 1985.
- 2) 朝井 慶, 山本洋人, 寺田隆雄: ハンディタイプの超音波吸入器, Omron Technics, 26: 92~99, 1986.

## 討 論

質問 ; 斎藤 (福井医大)

28kHz では purified IFN の失活が強いようだが, 他の抗生剤でも失活が強いのか, 他の $\beta$ ,  $\gamma$ -IFN でも同様の失活があるか。Exp. 1 が154, Exp. 2 で90, の差は何故か。

応答 ; 佐藤 (神戸常盤短大)

市販の各種超音波ネブライザー (周波数 160 kHz ~ 1.7 MHz, 常温), 抗生剤では活性に変化は認められなかった (既報)。サンプル差。

質問 ; 佐藤 (帝京大)

現在, 使われていけばインターフェロン nebulization の治療効果と文献, この治療法の将来の見通しがあればご意見をおききたい。

応答 ; 佐藤 (神戸常盤短大)

表 1。有望視される。