

## Carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) のマウス インフルエンザ感染症に対する防御効果

鈴木富士夫<sup>1)</sup>・麻生 久<sup>2)</sup>・小林弘行<sup>3)</sup>・大西 勉<sup>3)</sup>・石田名香雄<sup>3)</sup>

1) 熊本大学医学部微生物学教室

2) 東北大学医学部細菌学教室

3) 浅井ゲルマニウム研究所

(昭和61年1月29日受付)

Carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) のウイルス感染症に対する影響をマウスのインフルエンザ感染モデルを用いて検討した。10 LD<sub>50</sub> 量のインフルエンザを感染させたマウスに 100 mg/kg 量の Ge-132 を経口的に頻回投与すると、生理食塩水投与の対照群に比べ、1) 生存率の上昇、2) 肺内ウイルスの増殖抑制、3) 肺内コンソリデーションの出現抑制、4) HAI 抗体価の上昇抑制などが認められ、本化合物の感染防御効果が明らかとなった。この有効性は予防的投与では発現されず、ウイルス感染前後および直後からの予防・治療的あるいは治療的投与で顕著であった。また 100 mg/kg の ip, sc, および im などの投与で、あるいは 33~300 mg/kg の経口投与で Ge-132 の抗ウイルス効果が確認されたが、経口的に 100 mg/kg 量を頻回投与するのが最も有効であった。Ge-132 は *in vitro* でウイルス粒子やその感染細胞に直接的な影響を及ぼさないで、*in vivo* におけるこのような効果は、宿主の防御機能を介して発現されるものと思われる。因みに Ge-132 が interferon- $\gamma$  を誘起したり、natural killer 細胞の活性を亢進させることはすでに確かめられている。

各種のウイルス感染を効果的に防御するインターフェロン (IFN) は、ワクチンの開発などが難しいウイルス感染症群に対しても充分にその効果が期待できる effector である<sup>1)</sup>。例えば多くの呼吸器感染症 (influenza, RS ウイルス感染症, Rhino ウイルス感染症など) やヘルペスウイルス群 (HSV, CMV, VZV など) の感染症に対しても、IFN の有効性は動物実験のレベルにとどまらず臨床の場でもすでに確かめられている<sup>1,2)</sup>。ところで IFN・システムに包含される感染防御効果をヒトや動物に应用する場合には、予め体外で大量生産した IFN 標品を薬剤として患者に投与する方法もさることながら、IFN・システムの発動を効率良く生体内で誘導しうる物質 (IFN 誘起剤) を直接的に患者に投与するという方法も捨て難い魅力がある<sup>3,4)</sup>。現在では遺伝子工学の進歩で充分量の各種ヒトリコンビナント IFN が比較的容易に手に入るようになり、これらを用いた臨床治験も数多く行なわれている<sup>1,2)</sup> が、もしヒトに対して容易に投与できる安全性の高い IFN 誘起剤が手に入るなら、それらを用いて各種のウイルス感染症や悪性腫瘍を治癒せしめようとする努力も非常に重要であろうと思われる。なぜなら IFN・システムは元来個体が生物と

して発揮しうる防御機構の一つであり、ある状態に置かれた生体が自らを守るために自発的に発動させるメカニズムなので、もし外部からそれを積極的に調整してやることができれば、個体本来が有する生物としての機能でその感染症に立ち向うことになるからである<sup>4)</sup>。反面最終的な effector (IFN) のみを外から生体内に大量に投与すれば、IFN 分子の有する多面的な生理活性<sup>5)</sup> が動き出し、その時点で不必要な (あるいは弊害を有する) ある種のメカニズムが発動されたり<sup>5,6)</sup>、旧来の抗ウイルス剤や制癌剤類似の副作用が出現したりする大きな危険性を考えねばならないからである。

Carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) は trichlorogermane と acrylic acid より合成される有機ゲルマニウム化合物<sup>7)</sup> で、IFN- $\gamma$  誘起作用などを有する免疫賦活剤 (BRM) である<sup>8-12)</sup>。Ge-132 の大きな特徴は構造が化学的に define された<sup>7)</sup>、経口投与の可能な物質<sup>8,9,11,12)</sup> で、しかも広汎な毒性試験の結果極めて安全性の高いことが確かめられた物質であるということである<sup>13-15)</sup>。そこでわれわれは、このような Ge-132 を用いてウイルス感染症を治癒せしめることが可能か否かを実験動物のレベルで検討することを試みた。もし Ge-

132 が効率良く感染症を防御すれば臨床への応用も可能となってくる。本実験ではウイルスの動物実験モデルとしてわれわれの開発した<sup>16,17)</sup>マウスのインフルエンザ感染系を用いたが、IFN・システムを作動させて感染症を治癒に導くのであれば、一般にウイルスや動物の種類は特に問われないと思われる。

### I. 方法と材料

インフルエンザウイルスはマウス馴化の A<sub>2</sub>/Kumamoto/Y<sub>5</sub>/67 (H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) 株を使用した。本ウイルスの発育鶏卵での 50% 感染価 (EID<sub>50</sub>) は 10<sup>8.0</sup>/ml で、マウスでの 50% 感染致死効果 (LD<sub>50</sub>) は 10<sup>5.0</sup>/ml であった。ウイルスの感染はわれわれの開発した標準的方法 (50 cmHg の圧力で 30 分間の経鼻噴霧感染)<sup>16)</sup> で行なった。マウスはセンダイウイルスやマイコプラズマ感染のない DDI 系 (7~8 週齢) マウスを用いた。ウイルスの肺内増殖はこれまでに報告した方法<sup>16)</sup> に準じ、感染後に採取したマウスの肺を海砂存在下で乳鉢ですりつぶし、ブイオンで 10% のホモジネートを作り、これを発育鶏卵に接種することにより定量した。Ge-132 は浅井ゲルマニウム研究所 (狛江市, 東京) より供与された粉末標品 (Lot 770615a) を、経口的に、ウイルス感染の 24 および 3 時間前、3 時間後、以後 1 日 1 回 7 日間合計 10 回投与した。またある実験では効果的な投与方法を検討するために、予防的に、予防・治療的あるいは治療的に投与したり (投与スケジュールの検討)、投与の部位を変化させたり (投与経路の検討) した。ウイルスのマウスへの感染量は 10 LD<sub>50</sub> としたが、この実験系の場合 10 LD<sub>50</sub> 量を感染させるとマウスは 1 週間以内に発症 (立毛, 肺のラッセル音など) し、同 10~11 日後より感染死が始まり、同 15 日後までにほぼすべてが死に至

るケースが一般的である<sup>16)</sup>。感染マウスの死の直接の原因はウイルスの肺内増殖が引き金となって生じるコンソリデーションに誘引された肺炎であろうと思われる<sup>16,17)</sup>。

感染防御効果の判定は主に対照群に比べた投与群の感染 30 日後の生存率と平均生存日数を指標として行なったが、ある場合には薬剤処理マウスの肺におけるウイルス増殖を対照群のそれに比較した際の減少率も参考とした。また必要に応じて投与群や対照群の間の血中抗体価 (HAI 価) や肺のコンソリデーション値も比較し参考とした。HAI 価やコンソリデーションの定量方法は既報<sup>17)</sup>のごとくである。感染防御効果を判定する際の陽性対照薬として ribavirin を用いた。Ribavirin のインフルエンザ感染に対する有効性はすでによく知られている<sup>18)</sup>。実験では前の報告<sup>19)</sup>に従い、50 mg/kg 量を合計 10 回 Ge-132 と同様のスケジュールで腹腔内投与した。得られた結果のうち平均生存日数については STUDENT'S t-test で、生存率については  $\chi^2$  analysis で、対照群に比べた有意性を統計的に検討し、算出された P 値が 0.05 以下の時に防御効果ありと判定した。Ge-132 の直接的なウイルス粒子不活化作用はインフルエンザウイルスと諸々の濃度の薬剤を 37°C で 12 時間 incubate した後の不活化率で判定し<sup>20)</sup>、ウイルスに対する増殖抑制作用は薬剤処理 (1,000  $\mu$ g/ml) 後のふ化鶏卵でインフルエンザウイルスが増殖するか否かで判定した<sup>20)</sup>。

### II. 成績

最初に 100 mg/kg の Ge-132 (経口) および 50 mg/kg の ribavirin (腹腔内) をそれぞれ 25 匹のウイルス感染マウスに頻回投与し、その抗ウイルス効果を検討した。対照群 (50 匹) には腹腔内に同様のスケジュールで 0.5

Table 1 Antiviral effect of Ge-132 on influenza virus infection<sup>a)</sup> in mice

Drug <sup>b)</sup>	Dose (mg/kg)	No. of mice	Mean survival days <sup>c)</sup>	p <sup>d)</sup>	30 day survivors(%)	p <sup>e)</sup>
Ge-132	100	25	>20.2	<0.001	13 (52)	<0.001
Ribavirin	50	25	>17.4	<0.05	7 (28)	<0.001
Saline	0.5ml/mouse	50	13.1		0	

a) A 10 LD<sub>50</sub> dose of influenza virus (H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) was infected by inhalation.

b) Mice received a 100mg/kg dose of Ge-132 orally or a 50mg/kg dose of ribavirin ip 24 and 3 hours before and 3 hours after virus infection, and every day for a total of 10 treatments.

c) Mice were observed daily in order to determine the mean survival days in each group. Experiments were terminated 30 days after virus infection, and the percent survival was calculated from the number of mice which survived more than 30 days after virus infection.

d) STUDENT'S t-test.

e)  $\chi^2$  analysis.

Fig. 1 Effect of Ge-132 on the growth of influenza virus in mouse lungs.

Mice infected with a 10 LD<sub>50</sub> dose of influenza virus received Ge-132 (100 mg/kg, orally, —○—), ribavirin (50 mg/kg, ip —△—) and saline (0.5 ml/mouse, ip —●—) under the multiple administration schedule. The EID<sub>50</sub> was calculated by the method of Reed and Meunch.

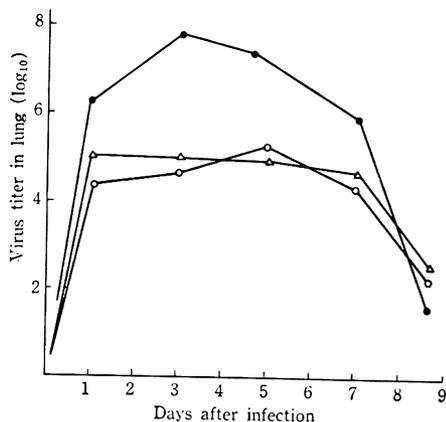


Fig. 2 Effect of various doses of Ge-132 administration on survival of mice infected with influenza virus.

Mice (20 each) were challenged by inhalation with a 10 LD<sub>50</sub> dose of influenza A<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) virus and were given various doses of Ge-132 orally 24, 3 hours before virus and 3 hours, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 days after virus infection. —●—, control (saline, 0.5 ml/mouse, ip); —△—, 300 mg/kg; —▲—, 100 mg/kg; —□—, 33 mg/kg; —■—, 11 mg/kg.

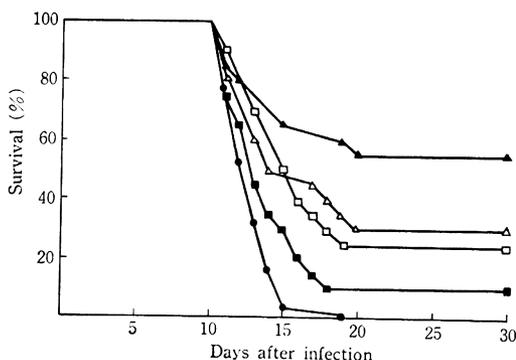


Table 2 Influence of various routes of administration of Ge-132 on survival of mice infected with influenza virus<sup>a)</sup>

Drug <sup>b)</sup>	Route of administration	No. of mice	30 day survivors(%)	P <sup>c)</sup>
Ge-132	po	20	11 (55)	<0.001
Ge-132	ip	20	8 (40)	<0.001
Ge-132	sc	20	5 (25)	0.004
Ge-132	im	20	6 (30)	0.001
Ribavirin	ip	20	7 (35)	<0.001
Saline	ip	30	0	

<sup>a)</sup> Mice were infected with a 10 LD<sub>50</sub> dose of influenza A<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) virus.

<sup>b)</sup> Ge-132 (100mg/kg), ribavirin (50mg/kg) and saline (0.5ml/mouse) were administered 24 and 3 hours before and 3 hours after virus infection, and continued one a day for a total of 10 treatments.

<sup>c)</sup>  $\chi^2$  analysis.

ml/mouse の生理食塩水 (生食) を投与した。得られた結果を Table 1 に示したが、感染 30 日後の生存率は対照群が 0% だったのに対し、Ge-132 投与群で 52% ( $P < 0.001$ ), ribavirin 投与群では 28% ( $P < 0.001$ ) で、両者の明確な防御効果が認められた。またこの時の平均生存日数は対照群が 13.1 日、ribavirin 群が  $>17.4$  日 ( $P < 0.05$ ), Ge-132 投与群が  $>20.2$  日 ( $P < 0.001$ ) だったので、平均生存日数においても明確な抗ウイルス効果が確認された。

次に投与群と対照群の間の肺内ウイルスの増殖の差異を検討した。ウイルス感染 1, 3, 5, 7 および 9 日後にマウスを屠殺し、肺を取り出し、EID<sub>50</sub> 法にて臓器内ウイルス量を定量したわけであるが、得られた結果を Fig. 1 に示した。対照群マウスの肺内ウイルスの増殖は感染 2 日後にはほぼピーク ( $10^{7.9}$  EID<sub>50</sub>/lung) に達し、以後漸減し、7 日後に  $10^2$  以下となった。これに対し Ge-132 や ribavirin 投与群では、ウイルス増殖の立ち上がりこそ対照群のそれとほぼ同じであったが、ピーク時の EID<sub>50</sub> 値には大きな差 (約  $10^8$  EID<sub>50</sub>/lung) があり、この両薬剤の肺内ウイルスの増殖抑制活性が確認された。しかしながら Ge-132 投与群と ribavirin 投与群との間には有意な差は認められなかった。これと平行して 1 群 10 匹ずつの生食、Ge-132 および ribavirin 投与マウスをウイルス感染 7 日後に屠殺し、肺のコンソリデーションの程度を比較した。その結果 80% 以上のコンソリデーションを対照群マウスのすべてに認めた時、薬剤投与の両群では 5~40% のそれを認めたにすぎず、コンソリデーションの出現でも有意な差異が得られることが判明した。

次に HAI 抗体の出現をテストした。すなわち生食、Ge-132 および ribavirin 投与マウス (1 群 45 匹) を感染後経口的に 5 匹ずつ屠殺し、血清を分離し、常法に従い HAI 価を定量したわけである。結果の詳細は示さないが、3 群共に感染 4 日後にはじめて低単位 (20~40 U/ml) の HAI 抗体が認められ、対照群では感染 7 日後にそれが 1,280 U/ml まで上昇した。しかし Ge-132 および ribavirin 投与群ではこのような急激な HAI 価の上昇は認められず、感染 7 日後の HAI 価は対照群の 50% 以下であった。以上生存率、平均生存日数、肺内ウイルスの増殖、コンソリデーションの出現、HAI 抗体価等の結果より、Ge-132 の ribavirin に優るとも劣らない *in vivo* における抗インフルエンザ活性が明らかとなったわけである。そこでこの防御効果を更に詳しく把握するために、薬剤の投与量や投与経路を諸々に変化させた場合の有効性を検討した。すなわち投与量と有効性の関係を調べる実験では、投与方法やウイルスの感染条件を一定にして、Ge-132 の投与量のみを 11~300 mg/kg の間で 4 段階に変化させ、投与経路と有効性の関係を調べる実験では一定量 (100 mg/kg) の Ge-132 を頻回投与する際に投与部位をいろいろに変化させて、感染マウスの生死を観察したわけである。得られた結果のうち Fig. 2 には Ge-132 の投与量と発現される有効性の関係、Table 2 には投与経路と有効性発現の関係を示した。この結果より、Ge-132 の防御効果は 100 mg/kg 量を投与した時に最も効率良く得ることができ、それよりも大量でも少

量でも一応の有効性は認められるものの、100 mg/kg 投与のそれには劣ることが判明した。同様に投与経路を調べた実験からは、非経口的な投与でもある程度の防御効果は得られるものの、経口的な投与が最も好ましいという結果が得られた。次に Ge-132 の最も有効な投与スケジュールを検討した。すなわちウイルス感染時を基準にして、その前 (予防的投与)、前後 (予防・治療的投与) および後 (治療的投与) に 100 mg/kg 量の Ge-132 を 1~10 回それぞれのスケジュールで経口投与したわけである。得られた結果を Table 3 に示したが、Ge-132 をウイルス感染前後に頻回投与した時に最も高い防御効果が得られ、感染前の投与は効果的でないことが判明した。またウイルス感染後に Ge-132 を投与して防御効果を得るためには、投与開始の時期が非常に重要であることが判明した。引き続き Ge-132 のインフルエンザウイルスに対する直接的な不活化作用と増殖抑制作用を常法に従って検討した。得られた結果を Table 4 に示したが、Ge-132 はこの両者の活性を有していなかった。

### III. 考 察

Ge-132 のインフルエンザ感染症に対する有効性をマウスの感染モデルを用いて検討した。薬効の判定は対照群に比べた処理群の生存率の上昇、平均生存日数の延長、コンソリデーション進展の抑制、肺内ウイルスの増殖抑制、HAI 抗体の産生状況などによって行なったが、Ge-132 はいずれの点においても明確な感染防御効果を

Table 3 Influence of various administration schedules of Ge-132 on survival of mice infected with Influenza virus<sup>a)</sup>

Administration schedule of Ge-132 <sup>b)</sup>	No. of mice	30 day survivors (%)	P <sup>c)</sup>
Prophylactic			
4, 3, 2, 1 days and 3 hours before virus	20	1 (5)	
1 day before virus	20	2 (10)	
Prophylactic-therapeutic			
24, 3 hours before and 3 hours 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 days after virus	20	11 (55)	<0.001
1 day before and 1 day after virus	20	3 (15)	<0.05
Therapeutic			
1, 3, 5 hours and 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 days after virus	20	9 (45)	<0.001
1, 2, 3, 4, 5 days after virus	20	8 (40)	<0.001
3, 4, 5, 6, 7 days after virus	20	4 (20)	<0.01
6, 7, 8, 9, 10 days after virus	20	0	
Control	50	0	

<sup>a)</sup> Mice were infected with a 10 LD<sub>50</sub> dose of influenza A<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) virus.

<sup>b)</sup> A 100mg/kg dose of Ge-132 was administered orally.

<sup>c)</sup>  $\chi^2$  analysis.

Table 4 Lack of virucidal and virustatic activities of Ge-132 against influenza virus

A. Virucidal activity<sup>a)</sup>

Influenza virus (EID <sub>50</sub> /ml)	Ge-132 (μg/ml)	Residual virus titer (EID <sub>50</sub> /ml)
10 <sup>5.0</sup>	0	10 <sup>5.2</sup>
10 <sup>5.0</sup>	10	10 <sup>4.4</sup>
10 <sup>5.0</sup>	100	10 <sup>4.9</sup>
10 <sup>5.0</sup>	1,000	10 <sup>5.1</sup>

B. Virustatic activity<sup>b)</sup>

Virus inoculation (EID <sub>50</sub> /egg)	Ge-132 treatment	Virus titer (EID <sub>50</sub> /ml)
Nothing	-	Less than 10 <sup>3</sup>
	+	Less than 10 <sup>3</sup>
10 <sup>3</sup>	-	10 <sup>8.5</sup>
	+	10 <sup>9.0</sup>

<sup>a)</sup> The infectivity of 10<sup>5.0</sup> EID<sub>50</sub>/ml of influenza virus was determined after incubation with various doses of Ge-132 in serum-free Eagle's MEM at 37°C for 12 hours.

<sup>b)</sup> The embryonated eggs treated with or without Ge-132 at a dose of 1,000 μg were inoculated with influenza virus (10<sup>3</sup> EID<sub>50</sub>/egg). After 72 hours incubation at 37°C, the allantoic fluid was removed from each egg and then, they were titered for EID<sub>50</sub>.

示し、その効果は陽性対照として用いた抗ウイルス剤の ribavirin に勝るとも劣らないことが明らかとなった。また Ge-132 のこのような防御効果は、100 mg/kg 量を、経口的に、ウイルス感染前後に頻回投与した時に最も顕著で、非経口的投与（腹腔内、筋注、皮内など）でも、ウイルス感染後の投与でも、あるいはもっと少量の投与（11~33 mg/kg）でもある程度確認することができた。

Ge-132 は通常各種の組織培養細胞に対して細胞毒性を示さないし、直接的なウイルス不活化作用や *in vitro* での抗ウイルス作用も示さないの、ここで得られた感染防御効果は宿主に対して Ge-132 が何らかの働きかけをした結果引き起こされた現象であろうと考えられる。ところで Ge-132 は各種の実験腫瘍に対して著しい抗腫瘍性を示すが<sup>20-22</sup>、その際の有効機序は次のように理解されている。すなわち担癌マウスに Ge-132 を投与すると、第一段階として T 細胞が賦活化され<sup>22</sup>、IFN-γ などの可溶性因子の誘導が促がされ<sup>8,9,23</sup>、産生された可溶性因子（主に IFN-γ と思われる）は resting マクロファージ (Mφ) を活性化 Mφ に変化させ<sup>9,23</sup>、出現した活性化 Mφ などが最終的に腫瘍にアタックする<sup>24</sup> という

ものである。つまり Ge-132 の抗腫瘍作用は誘起された IFN-γ などの可溶性因子の働きを通して発現されてくるといわけであるが、ウイルス感染症の場合にはどのようなメカニズムが働いているのであろうか。Ge-132 が誘起する IFN-γ は当然感染マウスにおいても活性化 Mφ を誘導するだろうし、natural killer (NK) 細胞の活性を賦活化したり、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の generation を刺激したりするはずである<sup>25</sup>。またこれら Mφ, NK, CTL などの防御担当細胞は効率良くウイルス感染細胞を破壊して感染を中絶する方向に働くはずである<sup>26-29</sup>。加えて IFN は未感染細胞に作用してその細胞を抗ウイルス状態に導くこともできるので、最終的にこれらが重なり合って Ge-132 のインフルエンザウイルスに対する感染防御効果が発現されてきているとも考えられる。実際 Ge-132 が誘起した IFN-γ 標品は *in vivo* でも *in vitro* でも resting Mφ を活性化したり、NK 細胞の活性を亢進したりすることはすでに確かめられている<sup>8,9,23</sup>。今後 Ge-132 の感染防御効果のメカニズムを明確にするためには、抗 IFN-γ 抗体、抗 asialo-GMI 抗体、あるいは T 細胞やその subset に対する単一抗体などを投与した、いわゆる immuno compromised mice を用いての感染治療実験が必要になろう。

文 献

- 1) HILFENHAUS, J. & G. D. POLASTRI: Antiviral effect of interferons in animals, pp.3~21. SCOTT, G. M. & D. A. J. TYRRELL: Antiviral effect of interferon in man, pp.181~215. In: Interferon (ed. by N. B. FINTER), Vol. (In vivo and clinical studies, volume editors: N. B. FINTER and R. K. OLDMAN), Elsevier, New York, 1985
- 2) BILLIAU, A. & P. DE SOMER: Clinical use of interferons in viral infections. In: Interferon and interferon inducers (ed. by D. A. STRINGER), pp.113~144, Marcel Dekker, New York, 1980
- 3) 鈴木富士夫, 斎藤紀行, 石田名香雄: 実験ウイルス感染症に於けるインターフェロン及びインデューサーの効果。蛋白・核酸・酵素 21: 260~270, 1979
- 4) 鈴木富士夫, 石田名香雄: インターフェロンシテムの実用化を展望する。最新医学 34: 563~569, 1979
- 5) SONNENFELD, G.: Effect of interferon on antibody formation, pp.85~99. DE MAEYER-GUIGNARD, J.: Effect of interferon on cell-mediated immunity as manifested by delayed hypersensitivity and allograft rejection, pp.133~145. HOOK, J. J. & B. DETRICK-HOOKS: Interferon on autoimmune diseases and other immunoregulatory disorders. pp.165~174

- In: Interferon (ed. by N. B. FINTER), Vol. 2 (Interferon and the immune system, volume editors: J. VILCEK, and E. DE MAEYER), Elsevier, Amsterdam, 1984
- 6) GRESSER, I.: Can interferon induce diseases?. In: Interferon 4 (ed. by I. GRESSOR), pp. 95~127. Academic Press, New York, 1982
  - 7) TSUTSUI, M.; N. KAKIMOTO & D. D. AXTELL: Crystal structure of "carboxyethylgermanium sesquioxide". J. Amer. Chem. Soc. 98: 8287~8289, 1976
  - 8) 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 9: 1976~1980, 1982
  - 9) ASO, H.; F. SUZUKI, T. YAMAGUCHI, Y. HAYASHI, T. EBINA, & N. ISHIDA: Induction of interferon and activation of NK cells and macrophages in mice by oral administration of Ge-132, an organic germanium compound. Microbiol. Immunol. 29: 65~75, 1985
  - 10) 水島 裕, 東海林洋子: ゲルマニウムの免疫調節作用。医学のあゆみ 114: 1055~1056, 1980
  - 11) 佐藤 博, 宮尾興平: 有機ゲルマニウム化合物 Ge-132 の薬理活性。医学と薬学 9: 814~826, 1983
  - 12) MIYAO, K.; T. ONISHI, K. ASAI, S. TOMIZAWA & F. SUZUKI: Toxicology and phase I studies on a novel organogermanium compound, Ge-132, Current Chemother. Inf. Dis. (Proc. 11th ICC & 19th ICAAC Am. Soc. Microbiol.), 2: 1527~1529, 1980
  - 13) 永田次雄, 永田貴久, 荒葦義知, 榎本 真, 井坂英彦, 大塚潤一: Carboxyethylgermanium Sesquioxide の静脈内投与による ビーグル 犬の 6 ヶ月間の慢性毒性試験。応用薬理 16: 613~636, 1978
  - 14) 永井 浩, 長谷川一秋, 新保幸太郎: Carboxyethylgermanium Sesquioxide (Ge-132) の腹腔内投与によるラットの繁殖試験。応用薬理 20: 271~280, 1980
  - 15) 新保幸太郎, 森 規子: Carboxyethylgermanium Sesquioxide (Ge-132) のウサギにおける器官形成期投与試験。応用薬理 20: 675~679, 1980
  - 16) SUZUKI, F.; J. OHYA & N. ISHIDA: Effect of antilymphocyte serum on influenza virus infection in mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 146: 78~84, 1974
  - 17) 石田名香雄, 鈴木富士夫: マウスのインフルエンザ感染における肺のコンソリデーション。最新医学 29: 1194~1201, 1974
  - 18) KHARE, G. P.; R. W. SIDWELL, J. T. WITKOWSKI, L. N. SIMON & R. K. ROBINS: Suppression by 1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1, 2, 4-triazole-3-carboxamide (Virazole, ICN 1229) of influenza virus-induced infections in mice. Antimicrob. Ag. Chemother. 3: 517~522, 1973
  - 19) SUZUKI, F.; C. SUZUKI, E. SHIMOMURA, H. MAEDA, T. FUJII & N. ISHIDA: Antiviral and interferon-inducing activities of a new peptidomannan, KS-2, extracted from culture mycelia of *Lentinus edodes*. J. Antibiotics 32: 1336~1345, 1979
  - 20) SUZUKI, F.; N. SAITO & N. ISHIDA: Effect of an interferon inducer, 9-Methylstreptimidone, on influenza virus infection in mice. Ann. New York Acad. Sci. 284: 667~675, 1977
  - 21) 佐藤 博, 岩口孝雄: 新規有機ゲルマニウム化合物 Ge-132 の抗腫瘍性。癌と化学療法 6: 79~83, 1979
  - 22) KUMANO, N.; Y. NAKAI, T. ISHIKAWA, S. KOINUMARU, S. SUZUKI, T. KIKUMOTO & K. KONNO: Antitumor effect of organogermanium compound (Ge-132) in mouse tumors. Current Chemother. Inf. Dic. (Proc. 11th ICC & 19th ICAAC Am. Soc. Microbiol.), 2: 1525~1527, 1980
  - 23) 鈴木富士夫: Carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) の抗腫瘍作用発現に関する防御細胞。癌と化学療法 12: 1445~1452, 1985
  - 24) SUZUKI, F.; R. B. BRUTKIEWICZ & R. B. POLLARD: Ability of sera from mice treated with Ge-132, an organic germanium compound, to inhibit experimental murine ascites tumors. Br. J. Cancer 52: 757~763, 1985
  - 25) 鈴木富士夫: Carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) 投与マウス由来マクロファージの抗腫瘍性。癌と化学療法 12: 2122~2128, 1985
  - 26) VILCEK, J.; I. GRESSER & T. C. MERIGAN, In: Regulatory Functions of Interferons. Ann. New York Acad. Sci. 350, 1980
  - 27) 石田名香雄, 鈴木富士夫: ウイルス病の化学療法—近い将来の模索—。日本臨床 35: 153~158, 1977
  - 28) ENNIS, F. A.; A. S. BEARE, D. RILEY, G. C. SCHILD, A. MEAGER, Y. H. QUI, G. SCHWARZ & A. H. ROOK: Interferon induction and increased natural killer cell activity in influenza infection in man. Lancet 2: 891~893, 1981
  - 29) BANGHAM, C. R.; M. J. CANNON, D. T. KARZON & B. A. ASKONAS: Cytotoxic T-cell response to respiratory syncytial virus in mice. J. Virol. 56: 55~59, 1985
  - 30) LIN, Y. & B. A. ASKONAS: Biological properties of an influenza virus-specific killer T-cell clone. Inhibition of virus replication *in vivo* and induction of delayed-type hypersensitivity reactions. J. Exp. Med. 154: 225~234, 1981

ANTIVIRAL EFFECT OF CARBOXYETHYLGERMANIUM  
SESQUIOXIDE (GE-132) IN MICE INFECTED WITH  
A LETHAL DOSE OF INFLUENZA VIRUS

FUJIO SUZUKI<sup>1)</sup>, HISASHI ASO<sup>2)</sup>, HIROYUKI KOBAYASHI<sup>3)</sup>, TSUTOMU OHNISHI<sup>3)</sup>  
and NAKAO ISHIDA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Microbiology, Kumamoto University Medical School

<sup>2)</sup> Department of Bacteriology, Tohoku University School of Medicine

<sup>3)</sup> Asai Germanium Research Institute

The antiviral effect of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) was examined in mice infected with mouse-adapted influenza A<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) virus. A multiple administration of the compound at doses of 300~33 mg/kg protected mice from virus infection. When a 100 mg/kg dose of Ge-132 was administered orally, the protective effect was demonstrated on the basis of 1) survival of infected mice, 2) reduction of virus growth in lungs, 3) inhibition of the development of lung consolidations, and 4) response for HAI antibodies. When mice were treated with the agent prophylactically, no clear antiviral effect was obtained. However, when mice were treated with Ge-132 chemotherapeutically in the early time after virus infection, survival rate of the infected mice was increased significantly. Although the antiviral effect was displayed when Ge-132 was administered ip, sc, and im, oral treatment of the compound resulted in the greatest protection. Since Ge-132 itself have no direct action on virus particles and virus infected cells *in vitro*, these antiviral effects of the agent against influenza diseases *in vivo* may be expressed through a potentiation of host's defense functions including an interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) production and an augmentation of natural killer (NK) cell activity. The IFN- $\gamma$  inducing- and NK cell stimulating-activities of Ge-132 have been already demonstrated in animals and in man.