

氏 名	澤 井 俊 宏
学 位 の 種 類	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	博 士 第 5 6 6 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 0 年 3 月 2 5 日
学 位 論 文 題 目	Induction of cytotoxic T-lymphocyte and antibody responses against highly pathogenic avian influenza virus infection in mice by inoculation of apathogenic H5N1 influenza virus particles inactivated with formalin  (ホルマリンで不活化した弱毒型H5N1インフルエンザウイルス粒子接種後のマウスにおける高病原性とリインフルエンザウイルス感染に対する細胞障害性T細胞と抗体産生増強)
審 査 委 員	主 査 教 授 後 藤 敏 副 査 教 授 藤 山 佳 秀 副 査 教 授 鳥 居 隆 三

## 論文内容要旨

※整理番号	571	(ふりがな) 氏 名	さわいとしひろ 澤井俊宏
学位論文題目	Induction of cytotoxic T-lymphocyte and antibody responses against highly pathogenic avian influenza virus infection in mice by inoculation of apathogenic H5N1 influenza virus particles inactivated with formalin (ホルマリンで不活化した弱毒型 H5N1 インフルエンザウイルス粒子接種後のマウスにおける高病原性トリインフルエンザウイルス感染に対する細胞障害性 T 細胞と抗体産生増強)		
<p>【研究の目的】</p> <p>H5N1 インフルエンザウイルスは、死亡率の高い新型の高病原性トリインフルエンザウイルスである。ほとんどのヒトは H5N1 型インフルエンザウイルスに対する免疫を保持しておらず、ヒトで感染が拡大した場合大流行が懸念されており、その感染予防のための対策が喫緊の課題である。また高病原性インフルエンザウイルスは上気道以外でも複製することが報告されており、従来の製法のワクチンで十分感染防御が可能であるか不明である。本研究では、遺伝子組換えを用いず遺伝子再集合（リアソータント）により作製した弱毒型 H5N1 インフルエンザウイルスをホルマリンで不活化した全粒子ワクチンと従来の製法であるエーテルで処理したワクチンの抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞と抗体の反応を比較した。また、ワクチン接種したマウスに高病原性 H5N1 インフルエンザウイルスを感染させ、ワクチンの有効性について検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>A 型インフルエンザウイルスの A/Aichi/2/68(H3N2)、A/R(duck/Mongolia/54/01-duck/Mongolia/47/01) (H5N1) を用いて、ホルマリン不活化全粒子ワクチン（以下全粒子ワクチン）と、エーテルでウイルス粒子を破碎しホルマリンで不活化したエーテル破碎ワクチン（以下エーテル破碎ワクチン）を作成した。これらを C57BL/6 マウスの皮下に接種し実験に使用した。ワクチン接種後の抗原特異的細胞傷害性 T 細胞活性の評価は、in vivo CTL assay および chromium release assay を用いて行った。抗体産生量評価は ELISA 法により検討した。また、ワクチン接種後の感染実験では、A/Aichi/2/68(H3N2) または A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) をマウスに経鼻的に感染させた。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

**【結果】**

A/Aichi/2/68 (H3N2) から作製した全粒子ワクチンを接種したマウスでは、アジュバントの添加がない状態でも抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞が誘導され、高値の抗原特異的血清 IgG が認められた。エーテル破碎ワクチンを接種したマウスでは細胞傷害性 T 細胞の反応は見られず、IgG 産生は全粒子ワクチンより低値であった。A/R (duck/Mongolia/54/01-duck/Mongolia/47/01) (H5N1) を用いた実験でも同様で、全粒子ワクチンを投与した群でエーテル破碎ワクチンを投与した群より強い抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞の活性が認められた。産生される抗体は、IgG の分画である IgG1 においては、どちらのワクチンを投与した群でも有意な差は認められなかったが、IgG2a の分画ではエーテル破碎ワクチン投与群ではほとんど産生が見られないのに対し、全粒子ワクチン投与群では産生量が多かった。ワクチンを免疫したマウスに、50%致死量の 100 倍に相当する量の高病原性 H5N1 トリインフルエンザウイルス A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) を経鼻的に感染させたところ、全粒子ワクチン群は観察期間を通じて全例生存し、肺内のウイルス量もワクチンを投与されていないマウスの肺より少なかった。エーテル破碎ワクチン群は 5 個体中 2 個体が生存し、全例が死亡した対照群に比して限定的な感染防御効果を認めた。

**【考察】**

全粒子ワクチンはウイルスの形態と赤血球凝集能 (HA 活性) を保持しているため、抗原提示細胞に取り込まれやすく、エーテル破碎ワクチンより効率良く抗原提示が行われ、その結果免疫反応が増強すると考えられた。またウイルス粒子内に含まれる RNA は Toll-like receptor (TLR) のリガンドになり得るので、全粒子ワクチンは抗原提示細胞の TLR を刺激し、抗原提示細胞の分化、成熟、抗原提示を促進させる可能性が考えられた。高病原性インフルエンザウイルスをもとにワクチンを作製することは作製の過程で危険を伴い、また高病原性インフルエンザウイルスは発育鶏卵を早期に死亡させるのでウイルスの回収率が良くない。一方、弱毒型ウイルスはこれらの懸念がなく、本実験でトリ由来のウイルスのワクチンでもヒトから分離された高病原性インフルエンザウイルスに対する免疫反応が十分起こることが判明したので、ワクチン株として有望であると考えられた。

**【結論】**

遺伝子再集合により作製した弱毒型 H5N1 インフルエンザウイルス由来の全粒子ワクチンを接種することにより、高病原性 H5N1 トリインフルエンザウイルス感染に対する免疫を獲得できることが示された。全粒子ワクチンは一般的に用いられているエーテル破碎ワクチンに比して、抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞および抗体産生を増強でき、感染防御効果に優れていることが示された。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	571	氏名	澤井俊宏
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨)</p> <p>高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 に対する不活化低病原性リアソータントインフルエンザウイルス H5N1 ワクチンの効果をマウス感染実験によって検討した。 その結果、以下のことを明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) エーテル破碎ワクチンに抗体誘導能は認められたが、細胞傷害性 T 細胞誘導能はほとんど認められなかった。それに対して、全粒子ホルマリン不活化ワクチンは、(中和) 抗体誘導能、細胞傷害性 T 細胞誘導能、ともにエーテル破碎ワクチンより優れていた。</li> <li>2) 全粒子ワクチンでは、高病原性鳥インフルエンザウイルスの増殖とその病原性は顕著に抑制され明らかな予防効果が認められた。</li> </ol> <p>本研究は、全粒子ホルマリン不活化低病原性リアソータントインフルエンザウイルス H5N1 が、高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 に対するワクチンとなりうることを示した論文であり、博士 (医学) の学位を授与するに値すると認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は平成 20 年 1 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められた。</p>			
(平成 20 年 1 月 31 日)			