

氏 名	鹿 島 祥 隆
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 0 9 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 2 年 3 月 2 5 日
学 位 論 文 題 目	Intranasal administration of a live non-pathogenic avian H5N1 influenza virus from a virus library confers protective immunity against H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infection in mice: Comparison of formulations and administration routes of vaccines (ウィルスライブラリーから作製した非病原性鳥インフルエンザウィルス由来生ワクチンの鼻腔内投与はマウスにおいて H5N1 型高病原性鳥インフルエンザに対して防御免疫を誘導する。ワクチンの製法と投与ルートと比較)
審 査 委 員	主 査 教 授 後 藤 敏 副 査 教 授 佐 藤 浩 副 査 教 授 杉 原 洋 行

論文内容要旨

※整理番号	614	氏名 (ふりがな)	かしま よしたか 鹿島 祥隆
学位論文題目	Intranasal administration of a live non-pathogenic avian H5N1 influenza virus from a virus library confers protective immunity against H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infection in mice: Comparison of formulations and administration routes of vaccines (ウイルスライブラリーから作製した非病原性鳥インフルエンザウイルス由来生ワクチンの鼻腔内投与はマウスにおいて H5N1 型高病原性鳥インフルエンザに対して防御免疫を誘導する。ワクチンの製法と投与ルートと比較)		
<p>(目的)</p> <p>高病原性鳥インフルエンザウイルス (以下、HPAIVs) がヒトからヒトへの伝播能力を獲得するとパンデミックを引き起こし、世界全体で多大な被害が出ると懸念されている。HPAIVs に対する不活化ワクチンの準備には数ヶ月を要し、緊急時には十分に対応できない。しかしながら、HPAIVs に対する非病原性生ワクチンは低用量で感染防御に効果的であり、HPAIVs 発生後に生ワクチンを作製してから全世界へ普及させることができると考えられる。その結果、パンデミックを防げる可能性が考えられる。生ワクチンは一般的にウイルス感染に関しては不活化ワクチンよりも効果的であるとされているが、季節性インフルエンザウイルスに対する生ワクチンはその副作用ゆえ 2 歳以下の子供や 50 歳以上の大人、易感染性患者には使用されていないのが現状である。さらには、生ワクチンは突然変異によって病原性を獲得する可能性がある。不活化ワクチンにはこれらのリスクはないが、記憶免疫を誘導する潜在力の低さゆえ毎年の接種が必要とされている。</p> <p>今回、我々は非病原性鳥インフルエンザウイルスより作製した低用量の生ワクチンを用いて H5N1 HPAIVs に対して防御可能な免疫応答を獲得できるかどうかを検討した。さらには、この生ワクチンの効果とこれまでにその有効性が認知されている不活化全粒子ワクチンの効果とを比較検討し、最適な投与方法を発見することにした。</p> <p>(方法)</p> <p>北海道大学喜田教授グループは、16 種の HA と 9 種の NA の組み合わせにより 141 株の非病原性鳥インフルエンザを含むウイルスライブラリーを確立している。我々は、それらのウイルスをワクチン株として使用した。</p> <p><インフルエンザウイルスとワクチン></p> <p>本研究で使用した A/duck/Hokkaido/Vac-1/2004(H5N1) (以下 Vac-1) は、ウイルスライブラリー内の非病原性 H5N2 亜型と H7N1 亜型とを鶏卵内で培養し遺伝子再集合させることにより作製された非病原性鳥インフルエンザである。A/Aichi/2/1968(H3N2) (以下 Aichi) は低病原性のウイルスである。A/Vietnam/1194/2004(H5N1) (以下 VN1194) は高病原性株であり、アミノ酸配列において Vac-1 の HA、NA と比較して、それぞれ 92%、90%の相同性を有している。全粒子ワクチンはホルマリンにより不活化を行った。</p> <p>それぞれのワクチンによる効果は、血清中の抗原特異的抗体価、細胞障害性 T 細胞応答、ウイルス中和試験、マウス体重の増減、マウスの生存率を用いて評価した。</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)

Aichi 株の生ワクチンと全粒子ワクチンを投与したマウスに Aichi 株を感染させると、生ワクチン鼻腔投与群でウイルスの複製を抑制したが、生ワクチン皮下投与群ではそこまでの効果は認めなかった。全粒子ワクチン投与については、皮下投与群ではウイルス複製は完全に抑制されたが、鼻腔投与群ではウイルスを完全に排除することはできなかった。よって、ワクチン投与経路について生ワクチンは鼻腔投与、全粒子ワクチンは皮下投与が最適であると示唆された。

Vac-1 生ワクチン鼻腔投与 9 日目に抗原特異的 IgG は上昇し、この抗体は VN1194 株を中和した。細胞障害性 T 細胞応答も十分に誘導され、VN1194 株の NP 特異的細胞障害性 T 細胞応答も確認できた。Vac-1 生ワクチン (10^3 PFU) 投与群と Vac-1 全粒子ワクチン $100 \mu\text{g}$ との比較では、抗原特異的 IgG 産生は同等であった。以上から、Vac-1 は H5N1 HPAIVs に対する生ワクチンの候補の一つになると思われた。

Vac-1 生ワクチン鼻腔投与群と Vac-1 全粒子ワクチン皮下投与群に、実際に VN1194 を感染させる攻撃試験を行った。Vac-1 生ワクチン鼻腔投与群では感染 5 日目には肺でウイルスを同定できなかった。Vac-1 全粒子ワクチン皮下投与群ではウイルスの複製を減弱させるだけにとどまった。両群とも体重減少なく、生存率も 100% であった。

(考察)

生ワクチンは低用量で十分な感染防御力を有することが判明した。全粒子ワクチン $100 \mu\text{g}$ は 10^{10-11} PFU に相当するが、生ワクチンは 10^3 PFU で十分な効果が得られる。それゆえ、生ワクチンは不活化ワクチンより多くのヒトに配分でき、HPAIVs を含めたパンデミックの際には有効であると考えられる。

生ワクチンと季節性インフルエンザウイルスとは遺伝子再集合を引き起こす可能性があるので、生ワクチンは不活化ワクチンが準備できる前の新型インフルエンザ発生早期に使用されるべきものである。

生ワクチンは鼻腔投与が最適であることから、生ワクチンの十分な効果の発揮には呼吸上皮細胞でのウイルスの複製が必要であり、感染した上皮細胞からの Type I-*INF* の産生が粘膜にいる抗原提示細胞から活性化 T 細胞への抗原提示にとって重要なのかも知れない。

(結論)

高病原性鳥インフルエンザの発生は世界的な大惨事を引き起こすかもしれず、これに対する様々な戦略が必要である。生ワクチンは低用量で十分な効果を得られ、新型インフルエンザ発生直後より全世界に普及させることができるといった長所がある。本研究で、マウスにおいて H5N1 亜型非病原性ウイルスの鼻腔投与により抗体反応、細胞障害性 T 細胞応答が誘導され、H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス感染を防御できることを示した。さらには、生ワクチンには不活化全粒子ワクチン $10^7 \sim 8$ 倍に相当する効果があることも判明した。それゆえ、生ワクチンの使用が緊急時の高病原性鳥インフルエンザの大流行を防御するうえで一つの戦略になると考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	614	氏名	鹿島祥隆
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>ウイルスライブラリーから遺伝子再集合によって得られた非病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 (Vac-1) の高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 (VN1194 株) に対する生ワクチンとしての免疫防御能を検討した。その結果、以下のことを明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 低容量の Vac-1 を鼻腔内投与しても、マウスは死に至ることはなく明らかな臨床症状も認めなかった。 2) Vac-1 のマウス鼻腔内投与により、抗体反応、細胞傷害性 T 細胞応答が誘導され、H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス (VN1194 株) に対する感染防御能が成立した。 <p>本研究は、高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 (VN1194 株) に対する鼻腔内投与 Vac-1 生ワクチンの有効性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 22 年 1 月 25 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 22 年 1 月 25 日)			