

学 位 論 文 題 名

Experimental Study on Mucosal Vaccination of
Animals against Viral Infections

（ウイルス感染症に対する粘膜ワクチンの研究）

学位論文内容の要旨

多くの病原微生物の侵入門戸である粘膜組織には、全身の免疫系とは別に独立して機能する粘膜免疫系が存在する。粘膜局所免疫で重要な役割を演じるのは分泌型 IgA 抗体である。著者は局所免疫を効果的に誘導する方法を開発するために、まず、動物の呼吸器粘膜に不活化ウイルスまたは精製蛋白抗原を滴下することによって、分泌抗体の産生を誘導できるか否かを調べた。次に、ワクチン接種動物を致死量のウイルスで攻撃して、粘膜局所における感染防御が成立するか否かを検討した。

不活化ニューカッスル病ウイルス（NDV）およびこれにコレラトキシン B サブユニット（CTB）をアジュバントとして混合したワクチンをそれぞれニワトリの鼻腔内または皮下に接種し、抗体応答を調べた。次に、これらのニワトリの鼻腔内に致死量のウイルスを接種して感染防御効果を評価した。鼻腔内にワクチンを 3 回与えたニワトリの鼻腔洗浄液に抗 NDV IgA、IgM および IgG 抗体が、血清に IgG 抗体が検出された。CTB をアジュバントとして用いると抗体応答は増強され、血清および鼻腔洗浄液はウイルスの感染性を中和した。これらのニワトリの殆どは致死量のウイルス攻撃に対して無症状で生残した。また、攻撃局所の鼻甲介からウイルスが分離されなかったことから、呼吸器粘膜でウイルスの増殖が起らなかったことが判明した。一方、皮下にワクチンを注射したニワトリの血清の IgG 中和抗体価は鼻腔内にワクチンを滴下したニワトリのものより高かったが、鼻腔洗浄液に IgA および IgM 抗体が検出されず、中和活性が認められなかった。これらのニワトリの鼻甲介からはウイルスが分離された。以上の成績は粘膜表面に抗原を与えることによって、局所抗体の産生が誘導されること、そしてその局所抗体が呼吸器粘膜におけるウイルスの増殖を抑えることを示す。また、ワクチンの皮下接種によって誘導された血中抗体は致死的な全身感染を防ぐが、ウイルスの侵入門戸である粘膜局所における増殖を抑えないことが判った。

次に、不活化オーエスキー病ウイルス（ADV）をマウスの鼻腔内に与え

て、免疫応答および感染防御効果を調べた。不活化 ADV およびこれに CTB をアジュバントとして混合したワクチンをそれぞれマウスの鼻腔内または皮下に 3 回接種した。鼻腔内にワクチンを滴下したマウスは致死量の鼻腔内ウイルス攻撃に対して 100% が生残した。これらのマウスの鼻腔洗浄液に抗 ADV IgA および IgG 抗体が検出された。IgG 抗体は血清にも検出された。CTB アジュバントは抗体応答を増強した。一方、皮下にワクチンを注射したマウスは攻撃に対して 30% が生残したに過ぎなかった。これらのマウスの血清には抗 ADV IgG 抗体が高いレベルで検出されたが、鼻腔洗浄液に IgA および IgG 抗体が殆ど検出されなかった。鼻腔内にワクチンを与えたマウスの鼻腔洗浄液の抗体は主に ADV のエンベロップ蛋白である glycoprotein B (gB) に対するものであった。以上の成績は不活化 ADV を鼻腔内に滴下したマウスの呼吸器粘膜に gB に対する抗体が分泌され、これがウイルスの初感染を抑えたことを示している。

gB に対する局所抗体がマウスの粘膜表面におけるウイルス増殖を阻止することが判明したので、gB をマウスの鼻腔内に滴下して、感染防御免疫が誘導されるか否かを検討した。ADV 感染 CPK 細胞から精製した gB を単独で、あるいは CTB と混合してマウスの鼻腔内に 3 回接種した。これらのマウスはウイルス攻撃に対して抵抗性を示した。CTB をアジュバントとして用いると、完全な感染防御が成立した。これらのマウスの鼻腔洗浄液および血清はウイルスの感染性を中和した。攻撃の 4 週後に、生残したマウスから採取した鼻腔洗浄液および血清には gB に対する抗体のみが検出された。この所見は攻撃ウイルスの増殖が起こらなかったことを示している。以上の成績は、呼吸器粘膜表面に分泌された局所抗体がウイルスの感染性を中和し、その増殖を完全に阻止したことを示している。すなわち、ADV の侵入門戸である粘膜組織に、局所免疫応答を誘導することによって、現行ワクチンでは達成できない初感染の防御が可能であることを示すものである。精製 gB ワクチンは抗体調査によって感染動物をワクチン接種動物と区別して、これを摘発する際に有効な免疫法として注目される。

本研究によって、動物の呼吸器粘膜表面に不活化ウイルスあるいは精製蛋白抗原を与えることによって感染防御免疫を賦与できることが明らかとなった。この感染防御は粘膜表面に分泌された局所抗体がウイルスの増殖を阻止した結果である。すなわち、局所免疫応答を誘導すれば粘膜を介したウイルス感染をその初感染の段階で防ぐことが可能である事が判明した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜 田 宏

副 査 教 授 板 倉 智 敏

副 査 教 授 小 沼 操

副 査 助 教 授 岡 崎 克 則

学 位 論 文 題 名

Experimental Study on Mucosal Vaccination of Animals against Viral Infections

(ウイルス感染症に対する粘膜ワクチンの研究)

動物の粘膜は多くの病原微生物の侵入門戸である。粘膜感染症の予防のために、これまで様々なワクチンが開発され、試みられてきた。何れのワクチンを筋肉内あるいは皮下に注射しても、粘膜局所における感染防御免疫を賦与することが達成できていない。本論文は粘膜感染症の予防法を確立するために、粘膜局所免疫を効果的に誘導する方法を検討した成績を述べるものである。

まず、ニューカッスル病ウイルスを不活化してニワトリの鼻腔内に与えると、ニワトリは鼻腔粘膜上にウイルス特異 IgA、IgM および IgG 抗体を分泌し、致死量のウイルス攻撃に対して症状を示すことなく耐過することを見出した。

次に、不活化オーエスキ病ウイルス (ADV) を鼻腔内に与えたマウスの免疫応答を調べた。その結果、これらのマウスはその鼻腔内にウイルス特異 IgA および IgG 抗体を分泌することが判明した。抗体は主に ADV のエンベロープ蛋白である gB に対するものであった。これらのマウスは致死量のウイルス攻撃に対して 100% が生残した。そこで、精製した gB をマウスの鼻腔内に与えて、感染防御免疫を賦与できるか否かを検討した。マウスは致死量のウイルス攻撃に抵抗したことから、抗原を鼻腔粘膜に与えると当該局所の免疫応答を誘導できることが判明した。以上の成績は、ウイルスの侵入門戸である粘膜組織に局所免疫応答を誘導すれば、現行ワクチンでは達成できない初感染の防御が可能であることを示す。

本研究によって動物の呼吸器粘膜表面に不活化ウイルスあるいは抗原を与えることによって感染防御免疫を賦与できること、ならびにこの感染防御は粘膜表面に分泌された抗体によって達成される事が明らかとなった。以上の成績は局所免疫を誘導すれ

ば粘膜感染症をその初感染部位で防ぐことが可能である事を示すものであり、ワクチンの開発戦略に貴重な情報を提供するものである。よって、審査員一同は高田礼人氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有すると認めた。