

学位論文題名

Pathogenetic and immunoprophylactic studies on the infection of tick-borne encephalitis virus isolated in Japan

（日本で分離されたダニ媒介脳炎ウイルス感染における病因と免疫予防に関する研究）

学位論文内容の要旨

1993年に北海道でダニ媒介脳炎(ダニ脳炎)患者が発見され、その後、患者発生地区で飼育されていたイヌやその周辺で捕獲した野ネズミおよびマダニからフラビウイルスが分離された。これらのウイルスはエンベロップ蛋白遺伝子の塩基配列からロシア春夏脳炎(Russian spring summer encephalitis; RSSE)型ウイルスと同定された。さらに、道内各地のイヌ、ウマおよび野ネズミの血清にダニ脳炎ウイルスに対する中和抗体が検出され、ダニ脳炎の流行巣が北海道に存在することが明らかとなった。従って、この分離ウイルスの病原性を明らかにし、本病の予防対策を講じることが重要な課題となった。そこで、本研究ではイヌから分離されたダニ脳炎ウイルス(Oshima 株)と RSSE ウイルス(Sofjin 株)、中央ヨーロッパダニ脳炎ウイルス(Hochosterwitz 株)および Langat ウイルス(TP-21 株)のマウスに対する病原性を比較検討した。さらに日本における本病の予防法を確立するため、ヨーロッパで使用されているダニ脳炎ワクチンに対するヒトおよびマウスの免疫応答を調べるとともに、このワクチンをウサギに接種して作製した抗ダニ脳炎ウイルス免疫血清をマウスに受動免疫した場合の感染防御効果を検討した。

上記ダニ脳炎ウイルス株をマウスに皮下接種した場合の神経侵入性の強さは Sofjin = Hochosterwitz > Oshima > TP-21 の順であった。Oshima 株は腹腔内接種において、Sofjin 株や Hochosterwitz 株に比べて、50%致死量が 10~20 倍高い値となり、平均生存日数も有意に長かった。ウイルスを脳内接種した場合の神経毒力の強さは Sofjin > Hochosterwitz = Oshima > TP-21 の順であった。これらの成績はダニ脳炎ウイルスの病原性を評価するためにマウスモデル系が利用できることを示している。

Oshima 株と Sofjin 株をマウスの皮下または脳内に接種した後、経日的に脳内ウイルス感染価と血清中和抗体価を測定するとともに、脳の病理組織学的な検索を行った。いずれの接種経路のマウスにおいても、Oshima 株は Sofjin 株より遅れて脳内で検出され、その増殖速度は緩徐でウイルス量が少なかった。両株間で血清中和抗体の出現パターンに相違は認められなかった。Oshima 株を皮下接種されたマウスの脳では感染初期にくも膜下の単核細胞浸潤が顕著に認められたのに対し、Sofjin 株ではくも膜下の病変は軽度で、早期

に脳実質の海綿状変性および壊死が認められた。

以上の成績より、Oshima 株はダニ脳炎ウイルスに共通の病原性を有するが、その毒力は Sofjin 株や Hochosterwitz 株よりも低いことが判明した。Sofjin 株の感染像は免疫応答が出現する前に脳内で急激にウイルスが増殖し、神経細胞死から個体死に至るのに比べ、Oshima 株は緩徐に増殖するため個体の免疫応答が病態の進行を抑制することが示唆された。

中央ヨーロッパ型ダニ脳炎ウイルスワクチンを 10 人の健康人に接種して中和抗体の産生を調べた。1 ヶ月間隔で 2 回接種後、10 人中 8 人(80%)が抗体陽性となったが、残りの 2 人は 3 回目の接種後に陽転した。ダニ脳炎ワクチン接種前に日本脳炎ウイルス抗体を保有していたヒトではワクチン接種後のダニ脳炎ウイルスに対する抗体産生能が低かった。この成績より、日本脳炎抗体を保有しているヒトにダニ脳炎ウイルスワクチンを接種する場合には、1 ヶ月間隔で 3 回接種する必要があると結論した。

マウスに中央ヨーロッパ型ダニ脳炎ウイルスワクチンを接種し、その後致死量の Oshima 株を腹腔内攻撃した場合、効果的な感染防御が成立した。同様の感染防御は Hochosterwitz 株や Sofjin 株の攻撃に対しても認められた。これらの成績は Oshima 株と中央ヨーロッパ型のダニ脳炎ウイルスの抗原性が近縁であることを示している。さらに、ウサギ抗ダニ脳炎ウイルス免疫血清をマウスに受動免疫した場合、十分な感染防御効果が得られることが判明した。

以上より、中央ヨーロッパ型のダニ脳炎ウイルスワクチンやダニ脳炎イムノグロブリン製剤は Oshima 株に対する感染予防に有効であると結論した。従って、これらの製剤を日本で早急に実用化し、日本のダニ脳炎流行巣の住民と近年増加してきたロシアへの渡航者を対象としたダニ脳炎予防対策に用いることが望まれる。さらに、北海道で分離された Oshima 株を用いたより効果的なワクチンの開発が今後の課題である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 島 郁 夫
副 査 教 授 喜 田 宏
副 査 教 授 小 沼 操
副 査 助 教 授 荻 和 宏 明

学位論文題名

Pathogenetic and immunoprophylactic studies on the infection of tick-borne encephalitis virus isolated in Japan

(日本で分離されたダニ媒介脳炎ウイルス感染における病因と免疫予防に関する研究)

1993年に北海道でダニ媒介脳炎(ダニ脳炎)患者が発見され、その後の疫学調査から、ダニ脳炎の流行巣が北海道に存在することが明らかとなった。従って、北海道で分離されたダニ脳炎ウイルス(Oshima株)の実験感染モデルの作出と病原性の解析は本ウイルス感染症の発症機序の解明のみならず、ワクチンによる予防などの防疫手段の確立のためにも緊急な課題である。本研究はOshima株の病原性を他のダニ脳炎ウイルス株と比較検討すること、およびOshima株に対するヨーロッパの既存ダニ脳炎ウイルスワクチンの感染防御効果について検討することを目的として実施された。

Oshima株の比較対照として、ロシア春夏脳炎ウイルス(Sofjin株)、中央ヨーロッパダニ脳炎ウイルス(Hochosterwitz株)およびLangatウイルス(TP-21株)を用い、マウスに種々の投与経路でウイルスを接種し、病原性について比較検討した。その結果、Oshima株はダニ脳炎ウイルスに共通した病原性を有しているが、その毒力はSofjin株やHochosterwitz株よりも低いことを明らかにした。また、Oshima株とSofjin株の病態進行が異なる原因として、宿主の免疫応答と脳内でのウイルス増殖について考察を加えた。さらに、これらの実験を通して、マウス実験感染モデルを確立した。

ヒトとマウスにおける免疫応答または感染実験の成績からヨーロッパの既存ワクチンや免疫グロブリン製剤はOshima株に対する感染防御手段として有効であることを示した。また、日本脳炎ウイルス抗体を保有しているヒトではワクチン接種による抗体産生能が低くなる可能性を示し、日本でのワクチン接種の改良法を提示した。

以上の成果は、ダニ脳炎ウイルス群におけるOshima株の病原性の位置づけを明らかにするとともに、その感染予防法として日本におけるワクチンの必要性や有効性を示すものである。よって、審査員一同は、上記学位論文提出者千葉暢幸氏が博士（獣医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。