

学 位 論 文 題 名

Studies for the control of pandemic influenza:
surveillance of animal influenza and the development
of mucosal vaccines

（インフルエンザ流行予防のための研究：
動物インフルエンザの疫学調査と粘膜ワクチンの開発）

学位論文内容の要旨

インフルエンザは効果的な予防法が確立されないまま重要な感染症として残されている。ウイルスの抗原性が変化する上に、新型ウイルスが出現するためであり、さらに、現行の不活化インフルエンザワクチンの皮下接種はウイルスの侵入門戸である粘膜で感染防御免疫が誘導され難いためである。これらの問題点を解決するためには、自然界における新型ウイルス出現をいち早く発見するための疫学監視を実施するとともに、抗原変異ウイルスおよび異なる亜型のウイルスに対して効果的に粘膜免疫を誘導するワクチンを準備する必要がある。

本研究ではまず、新型ウイルスの出現に重要な役割を果たすと考えられる中国南東部のブタについて、鳥の H4、H5 および H9 インフルエンザウイルスに対する血清抗体保有状況を調べた。その結果、1977-1982 年および 1998 年に採取した血清から H4 および H5 ウイルスに対する中和抗体が検出された。一方、近年家禽で流行しており、1998 年にはブタおよびヒトから分離された H9 ウイルスに対する抗体は 1998 年に採取した血清中にのみ検出された。このことから過去に中国南東部のブタに H4、H5、および H9 インフルエンザウイルスが感染したことが示唆された。

次に、全ての亜型のインフルエンザ A ウイルスで共通の抗原性を示す核蛋白 (NP) のエピトープペプチドワクチンを用いて、粘膜における細胞性免疫応答を効果的に誘導する方法を確立するために実験を行った。MHC Class I 分子に結合する A/Aichi/2/68(H3N2)株の NP エピトープペプチド NP366-374 を合成し、ワクチンと

しての効果を検討した。NP366-374 をリポソームに包埋し、アジュバントとして抗 CD40 抗体を同時にマウスに投与した。抗 CD40 抗体は抗原提示細胞表面に存在する CD40 分子に結合し、抗原提示細胞を活性化する。活性化された抗原提示細胞はヘルパーT 細胞および細胞傷害性 T 細胞を活性化して、体液性および細胞性の免疫応答を増強すると考えられている。ワクチンを 2 週間隔で 3 回投与後、 10^4 plaque forming unit の A/Aichi/2/68 株を鼻腔内に滴下攻撃した。その結果、NP366-374 を抗 CD40 抗体とともに鼻腔内に接種したマウスの肺のウイルス価は NP366-374 単独投与群の約 1000 分の 1 に抑えられていた。免疫しなかったマウスの肺では、ウイルス感染によるアポトーシスを起こした細胞が多数見られるのに対し、NP366-374 を抗 CD40 抗体とともに鼻腔内に接種したマウスの肺ではほとんど観察されなかった。また、このウイルス増殖抑制効果は少なくとも 8 週間持続した。一方、同じワクチンを皮下に接種したマウスでは、肺におけるウイルス増殖抑制効果は全く見られなかった。次に、major histocompatibility complex (MHC) Class I ノックアウトマウスおよび MHC Class II ノックアウトマウスの鼻腔内に同じワクチンを投与した。何れのマウスにおいても攻撃ウイルスの肺における増殖抑制効果は見られなかった。これらの成績は、細胞傷害性 T 細胞の活性化には、抗原提示細胞による刺激だけではなく、ヘルパーT 細胞の関与が必要であることを示している。

本研究により、インフルエンザの疫学調査を行う上で、ブタが重要な対象動物であることが再認識された。また、適切なアジュバントおよび投与方法を選択すれば、NP エピトープペプチドがヘマグルチニン亜型にかかわらずインフルエンザ A ウイルスの増殖を阻止する粘膜ワクチンとして有望であることが分かった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜 田 宏
副 査 教 授 小 沼 操
副 査 教 授 高 島 郁 夫
副 査 教 授 梅 村 孝 司

学 位 論 文 題 名

Studies for the control of pandemic influenza: surveillance of animal influenza and the development of mucosal vaccines

(インフルエンザ流行予防のための研究：

動物インフルエンザの疫学調査と粘膜ワクチンの開発)

インフルエンザは地球上に広く分布する人獣共通感染症である。ヒトに流行しているウイルスが自然界に存続するウイルスと遺伝子再集合を起こして、新たな亜型のヘマグルチニン (HA) 遺伝子を獲得し、これが新型ウイルスとして出現する。したがって、インフルエンザを根絶することは当面不可能であることを認めなければならない。現実的な新型ウイルス対策は、新型ウイルスの HA 亜型を予測し、それに備えることである。本研究は、新型ウイルスの出現に重要な役割を演ずると想定される中国南部のブタにおけるインフルエンザの疫学調査を実施すると共に、15 の異なる HA 亜型のいずれのウイルスに対しても効果的に免疫を誘導するワクチンの開発を試みたものである。

1. 中国南東部のブタの抗体保有状況調査

中国南東部は H2N2 および H3N2 ウイルスの発生地であることから、最も疫学監視を必要とする地域である。1977-82 年および 1998 年にこの地域で採取したブタの血清に H4 および H5 ウイルスに対する中和抗体を検出した。1998 年に採取した血清中には抗 H9 ウイルス抗体を検出した。この成績は、中国南東部のブタに H4、H5 および H9 インフルエンザウイルスの感染が起こっていたことを示すものであり、インフルエンザの疫学にブタが重要であることを確認させるものである。

2. ペプチド粘膜ワクチンの開発

インフルエンザウイルスの NP 分子上に存在するインフルエンザ A ウイルスに共通のエピトープペプチドを合成し、これを用いてウイルスの侵入門戸である呼吸器粘膜に感染防御免疫を誘導するワクチンを開発した。鼻腔内に MHC Class I 分子に結合するペプチド NP366-374 を抗 CD40 抗体と共に接種したマウスでは、肺におけるウイルス増殖が抑制された。同じワクチンを皮下に接種した場合には、その効果がなかった。

MHC Class I または Class II ノックアウトマウスの鼻腔内に同じワクチンを投与して、攻撃ウイルスに対する感染防御試験を実施した結果、何れのマウスにおいてもワクチン効果が見られなかつ

た。この成績は、ウイルス特異的な細胞傷害性 T 細胞の活性化には抗原提示細胞による刺激とヘルパーT 細胞の関与の両者が必要であることを示している。以上の成績から、適切なアジュバントを選択すれば、NP エピトープペプチドが HA の亜型如何にかかわらず、新型インフルエンザ A ウイルスの感染防御粘膜ワクチンとして有望であることが分かった。

本研究成果がインフルエンザの予防に資するところが大きいのので、審査員一同は二宮愛氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。