

氏 名	仲山 美沙子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 甲第 708 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 6 年 3 月 1 0 日
学位論文題目	Protection against H5N1 Highly Pathogenic Avian and Pandemic (H1N1) 2009 Influenza Virus Infection in Cynomolgus Monkeys by an Inactivated H5N1 Whole Particle Vaccine (不活化 H5N1 全粒子ワクチンによるカニクイザルにおける H5N1 高病原性鳥およびパンデミック (H1N1) 2009 インフルエンザウイルスに対する防御効果)
審査委員	主査 教授 依馬 正次 副査 教授 後藤 敏 副査 教授 大路 正人

論文内容要旨

※整理番号	714	氏名 (ふりがな)	なかやま みさこ 仲山 美沙子
学位論文題目	Protection against H5N1 Highly Pathogenic Avian and Pandemic (H1N1) 2009 Influenza Virus Infection in Cynomolgus Monkeys by an Inactivated H5N1 Whole Particle Vaccine (不活化H5N1全粒子ワクチンによるカニクイザルにおけるH5N1高病原性鳥およびパンデミック(H1N1)2009 インフルエンザウイルスに対する防御効果)		
<p>【背景・目的】 H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス (Highly pathogenic avian influenza virus; HPAIV) はウイルス表面のヘムアルグルチニン (Hemagglutinin; HA) 配列によってクレードに分類されている。H5N1 HPAIV のヒトへの報告が初めてされた 1997 年以來、ウイルスの変異によりクレードが増加し続けている。よって、広範なクレードに有効なワクチンの開発が必要である。そこで、新規 H5N1 亜株ワクチン候補ウイルスの防御効果をクレードの異なる H5N1 亜型ウイルス 2 株を用いて検証した。</p> <p>【方法】 まず異なるクレードに属する H5N1 HPAIV 2 株 (Clade 1 および Clade 2.3.2.1) をサルに感染させ、症状観察、ウイルス量測定を行い、7 日後に解剖を行い、組織学的評価を行った。次に新規に開発された H5N1 (A/duck/Hokkaido/Vac-3/2007, Clade 0 相当, 以下 Vac-3) 由来不活化全粒子ワクチンをカニクイザルに 2 週間隔で 2 回皮下接種した。ワクチン接種後 0, 2, 4 週後の鼻腔及び気管内拭い液、血漿を用いて、IgG, IgA を ELISA 法にて測定した。また血漿を用いて、Vac-3 に対する中和能を測定した。2 回目のワクチン接種から 5 週後にサルを 4 群に分け、1) Clade 1 に属する H5N1 HPAIV、2) Clade 2.3.2.1 に属する H5N1 HPAIV、3) パンデミック H1N1 ウイルス、4) H7N7 HPAIV を用いて攻撃試験を行った。感染後はサルの症</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。

状の観察、試料の採取を行い、鼻腔、気管、気管拭い液中のウイルス量、血漿中の Vac-3 および攻撃ウイルスに対する中和能を測定した。感染7日後に解剖を行い、組織学的観察、各臓器のウイルス量、頸部リンパ節のリンパ球反応を測定した。

【結果】ワクチンを接種したサル全てにおいて、1回目のワクチン接種2週後に鼻腔及び気管拭い液、血漿中で Vac-3 特異的 IgG 上昇が認められ、それらは2回目のワクチン接種2週後にさらに上昇した。IgA は鼻腔及び気管拭い液中で1頭を除いて上昇が認められた。また、2回目のワクチン接種2週後の血漿は Vac-3 を中和した。以上より、Vac-3 ワクチンが免疫原性を示すことが示された。攻撃試験の結果、ワクチンを接種していないサルでは異なるクレードに属する H5N1 HPAIV 2株はどちらも重症肺炎を引き起こし、鼻腔、気管、気管支内から高力価のウイルスが検出された。ワクチンを接種したサルに H5N1、H1N1 ウイルスを感染させた群ではコントロール群と比較して症状の改善、鼻腔、気管、気管支内ウイルス量の低下が見られた。ワクチン接種 H5N1 HPAIV 感染群では Vac-3 および攻撃ウイルスに対する中和抗体の上昇が感染7日後に見られた。ワクチン接種 H1N1 感染群では中和抗体の上昇は見られなかったが、Vac-3 および攻撃株に対するノイラミニダーゼ抑制抗体上昇、感染ウイルス特異的 T 細胞活性上昇が見られた。

【考察・結論】サルにおいて、Vac-3 由来ワクチンはクレードの異なる2種類の H5N1 HPAIV に対して交差反応性中和抗体、H1N1 ウイルスに対して交差反応性ノイラミニダーゼ抑制抗体と T 細胞活性化を誘導して防御効果を示した。しかし、H7N7 HPAIV には無効であった。以上より、HPAIV に対して防御効果を発揮するには中和抗体が必須であり、高病原性鳥インフルエンザウイルス以外に対しては、交差反応性ノイラミニダーゼ抑制抗体と T 細胞活性のみでも防御可能であることが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	714	氏名	仲山 美沙子
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>H5N1 は、高病原性の鳥インフルエンザウイルスであるが、これまでに有効なワクチンは開発されていない。そこで、広範なクレードに効果的なワクチンが必要であると考え、全粒子ワクチンの効果を検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) H5N1 全粒子ワクチンをカニクイザルに皮下接種した。ワクチン接種後、IgA、IgG を測定したところ、概ね上昇が認められたことから、ワクチンが免疫原性を示すことが分かった。 2) H5N1 clade2.3.2.1 および clade1 による臨床症状が劇的に改善されたが、H7N7、H1N1 に対しては効果が無かった。 3) 感染後のウイルス量を測定した所、H5N1 (clade 1、clade2.3.2.1)、H1N1 ウイルスの量はワクチン接種により減少していた。 4) H5N1 クレード0の全粒子ワクチン接種により、血漿には、H5N1 両クレード(clade 1、clade2.3.2.1)に対する中和活性の他、H1N1 ウイルスのノイラミニダーゼ (活性) を阻害する活性も誘導された。 5) H5N1 クレード0の全粒子ワクチン接種により、H5N1、H7N7、H1N1 に対する細胞性免疫応答が誘導された。 <p>本論文は、霊長類を用いて全粒子ワクチンの効果を検証したものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 590 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 26 年 1 月 28 日)</p>			