

論文の内容の要旨

論文題目 *Studies on induction of protective immunity against Toxoplasma gondii by a combination of recombinant antigen and feline herpesvirus type 1 vector.*

(組み換え抗原とネコヘルペスウイルス 1 型ベクターによる抗トキソプラズマ免疫の誘導に関する研究)

氏名 三島 雅之

トキソプラズマゴンジ (*Toxoplasma gondii*) は、温血動物全般に感染する病原性原虫である。健常成人では本原虫に感染して目立った臨床症状を呈することは希であるが、一度感染した原虫は脳や筋肉内に終生潜伏感染し、様々な原因により再活性化する。ヒト免疫不全ウイルス感染症や、臓器移植、あるいは抗ガン剤による化学療法などの広がりに伴い、近年、トキソプラズマ日和見感染の危険は急速に増大しつつある。また、トキソプラズマは家畜の流産の原因となり、特に、羊、山羊、豚の畜産業に大きな損害を与えている。トキソプラズマの家畜への感染源は、終宿主であるネコが糞便中に排泄するオーシストである。オーシストで汚染された水や土を食べることが、家畜へのおそらく唯一の感染経路であると考えられている。ヒトはトキソプラズマに感染した家畜の肉を通じて経口感染する。したがって、トキソプラズマの伝搬において、ネコは最も重要な因子である。著者は、組み換えトキソプラズマ抗原と、接触感染により伝搬し得るネコヘルペスウイルス 1 型 (FHV1) ベクターの組み合わせによって、ネコのみ自動的に感染して免疫を誘導し得るワクチンを作製することができれば、人間の管理下でない個体に対する抗トキソプラズマ免疫誘導が現実的になると考え、リコンビナントウイルスワクチンの作製を試みた。本研究の主要な目的は、FHV1 のベクターとしての適性を明らかにすることにある。

第一章では、トキソプラズマの病原性、増殖速度、抗原の遺伝子型について、RH、Beverley、PLK 株を用いて比較した。マウスに対する病原性は RH、Beverley、PLK の順に強かったものの増殖速度は Beverley 株が最も遅く、病原性と増殖速度の間に相関は認められなかった。また、遺伝的距離は、PLK の方が RH に近かつ

た。このことから、病原性の強弱には、虫体自身の増殖能よりも、むしろ宿主の免疫反応による増殖抑制とのかね合いが強く影響しているものと思われた。また、抗原遺伝子の株間差は非常に小さかった。

第二章では、トキソプラズマ表面抗原遺伝子を組み込んだ FHV1 ベクターが発現する組み換えタンパクの性質を明らかにするため、量的に最優勢であると同時に、多くの表面抗原と共通の構造をもつ主要表面抗原 1 (SAG1) 遺伝子が発現する組み換え FHV1 (FHV/SAG1) を作製して検討した。その結果、FHV1 ベクターが発現した組み換え SAG1 (rSAG1) は、ほ乳類免疫系が原虫抗原を認識する上で特に重要と考えられているグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) 構造を再現しており、トキソプラズマ慢性感染マウス血清中抗体に認識された。したがって、FHV1 ベクターが発現する組み換えトキソプラズマ表面抗原は、ワクチン抗原として適当であると考えられた。

第三章では、抗トキソプラズマ免疫を誘導し得る抗原を探すため、大腸菌による SAG1、SAG2、SAG3、SRS1、ROP2 組み換えタンパクを作製し、マウスに免疫してトキソプラズマ感染後の免疫反応の修飾や感染防御への影響を観察した。その結果、SAG2、SRS1、ROP2 免疫動物では各抗原に特異的な免疫反応の修飾、ならびに致死感染に対する部分的な防御効果が認められ、脳内シスト形成の抑制も認められた。

第四から六章では、SAG2、SRS1 および ROP2 を発現する組み換え FHV1 (FHV/SAG2、FHV/SRS1 および FHV/ROP2) をそれぞれ作製し、ネコの免疫を試みた。FHV/SAG2、FHV/ROP2 の接種により、トキソプラズマタキゾイト抗原を認識する IgG がネコ血清中に誘導された。ネコ免疫血清は *in vitro* でタキゾイトの細胞内侵入を抑制した。FHV/SAG2 免疫後の糞便中には抗 SAG2 IgA が認められ、トキソプラズマ経口感染後のオーシスト排泄期間が短縮した。しかしながら、総排出数には有意な低下が認められなかった。FHV/ROP2 を接種したネコではトキソプラズマ感染後の血清 IgG の誘導が加速され、脳内シスト形成の抑制が認められた。FHV/SRS1 接種動物では何ら防御効果が認められなかった。

今回誘導し得た抗トキソプラズマ免疫はワクチンとして極めて不十分なものであったが、組み換えウイルスを接種したネコにおいて、トキソプラズマ抗原を認識する血清中 IgG ならびに腸管 IgA 誘導など、免疫反応の誘導が認められたことから、FHV1 の抗トキソプラズマワクチンベクターとしての適性は示唆され

た。今後の応用にあたっては、オーシストを形成する腸管ステージの虫体に発現する抗原を同定、分析することが必要であろう。