

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 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。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。ヒトはトキソプラズマに感染した家畜の肉を介して経口感染する。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。申請者は、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 I 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。本研究の目的は、上述したネコのワクチンを開発するため、FHV1 のベクターとしての適性を明らかにすることにある。

はじめに、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。その結果、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。これらの株では抗原の遺伝子配列は極めて類似していたことから、RH 株遺伝子を用いて多くの表面抗原と共通の構造をもつタキゾイトの主要表面抗原 1 (SAG1) を発現する組み換え FHV1 を作製した。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) 構造を再現していた。この rSAG1 はトキソプラズマ慢性感染マウス血清中抗体に認識され、天然型のエピトープが保存されていることが明らかとなった。

次に、抗トキソプラズマ免疫を誘導し得る抗原を探するため、大腸菌による SAG1、SAG2、SAG3、SRS1、ROP2 組み換えタンパクを作製し、マウスを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、致死感染に対する部分的な防御効果、および脳内シスト形成の抑制が認められた。

そこで、SAG2、SRS1、ROP2を発現する組み換えFHV1（FHV/SAG2、FHV/SRS1、FHV/ROP2）を作製し、それぞれの組み換えウイルスをネコに接種した。FHV/SAG2はタキゾイト抗原を認識する血清IgGを誘導した。この免疫血清は*in vitro*でタキゾイトの細胞内侵入を抑制した。また、免疫後の糞便中には抗SAG2IgAが認められた。FHV/ROP2を接種したネコでは抗トキソプラズマ血清IgGが上昇し、免疫血清はトキソプラズマタキゾイトの*in vitro*細胞内侵入を抑制した。免疫個体では、トキソプラズマ感染後の血清IgGの誘導が加速され、早い時期に高度のIgGが検出された。これらの動物にトキソプラズマを経口感染させたところ、オーシスト排泄期間の短縮、脳内シスト形成の抑制などが認められたものの、オーシストの総排泄数については変化が認められなかった。FHV/SRS1接種動物では、抗体の誘導、感染防御効果のいずれも認められなかった。

ネコに対する抗トキソプラズマワクチンの最大の問題は、飼育されていない個体への接種に非現実的なコストがかかることにある。本研究は、感染性ウイルスベクターを用いることでこの問題の解決を図ろうとする新たな試みの第一歩である。この成果はトキソプラズマに対するリコンビナントウイルスワクチン開発の基礎知見として公衆衛生学上極めて重要であると考えられた。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文に相応しいと判断した。