

## 審査の結果の要旨

氏名 前田 寧子

本研究では A 型インフルエンザウイルスの人工合成法(リバーズ・ジェネティクス法)を駆使してインフルエンザウイルスを基にしたワクチンベクターの開発を試みた。

1. ウイルスをワクチンベクターとして利用する場合、免疫賦与効果と安全性を高めるためにも外来遺伝子産物(目的病原体の抗原)の発現量をコントロールすることが望まれる。そこで、インフルエンザウイルスの蛋白質発現量抑制調節に翻訳開始コドン AUG の 3 つ前の塩基(すなわち、Kozak 配列の重要性)が関与しているか調べた。その結果、細胞内にインフルエンザウイルスのゲノムの転写と複製の最小単位である RNP の構成因子のみが存在する場合には、蛋白質の発現量調整に翻訳開始コドンの 3 つ前の塩基は重要であるが、実際のインフルエンザウイルスの増殖においては蛋白質の発現量にも病原性にも翻訳開始コドンの 3 つ前の塩基は大きな影響を及ぼさなかった。このことは、A 型インフルエンザウイルスの蛋白質発現調節では Kozak の法則以外のメカニズムが存在していることが示唆している。すなわち、A 型インフルエンザウイルスをワクチンベクターとして利用する場合には、蛋白質発現量の抑制調節に Kozak 配列が応用できないことが示された。
2. インフルエンザウイルスを基にした多価生ワクチンベクターの可能性をマウスモデルで検証するために、パラインフルエンザウイルスの HN 抗原を持つ組み換えインフルエンザウイルスを作製した。この組み換えインフルエンザウイルスは感染細胞においてパラインフルエンザとインフルエンザの両ウイルスの感染防御抗原を発現した。また、パラインフルエンザウイルスの HN 抗原は細胞表面に発現し、組み換えインフルエンザウイルス粒子にも取り込まれていることが確認された。続いて、組み換えインフルエンザウイルスが生ワクチンの 4 つの基本条件、1) 適当な媒体でよく増える、2) 遺伝的に安定している、3) 弱毒化している、4) 防御免疫を賦与できる、を満たしているか否かを検討した。その結果、組み換えインフルエンザウイルスは発育鶏

卵で親株のインフルエンザウイルスと同様に良く増殖し、発育鶏卵で継代しても遺伝的に安定であることがわかった。また、親株のインフルエンザウイルスがマウスに致死性であるのに対して、組み換えインフルエンザウイルスは弱毒化していた。さらに、この組み換えインフルエンザウイルスは、インフルエンザおよびパラインフルエンザウイルスの致死性な攻撃に抵抗する防御免疫を賦与した。以上の結果から、本研究で作製した組み換えインフルエンザウイルスは生ワクチンの基本条件4つを満たしており、インフルエンザウイルスを基にした多価生ワクチンベクターの可能性がマウスモデルにおいて証明された。

以上、本論文はインフルエンザウイルスの増殖においては Kozak の法則以外の蛋白質発現調節メカニズムが存在する可能性を示唆し、インフルエンザウイルスの多価生ワクチンベクターとしての可能性をマウスモデルで証明した。インフルエンザウイルスは宿主において強力な粘膜免疫(局所免疫)と全身性免疫を誘導するため、弱毒化して安定的に外来遺伝子を発現することが出来れば、多くの病原体に対して有効な生ワクチンベクターになると考えられる。本研究では組み換えインフルエンザウイルスを作製し、この仮説が正しいことを、初めて実証した。