

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 永田典代

本研究はポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス TgPVR の系統の一つである TgPVR21 を用いて、ポリオウイルスの経粘膜感染後の病態と粘膜免疫を研究するための感染動物実験モデルを開発することを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. TgPVR21 に対し 1 型ポリオウイルス強毒 OM1 株を経口、胃内、経鼻感染させた結果、経鼻感染に対し高い感受性を示し典型的なポリオ様弛緩性麻痺を発症したが、同じ経路について弱毒 Sabin 1 株では発症しなかった。そこで、OM1 株を  $10^7$  CCID<sub>50</sub>/10  $\mu$ l 経鼻接種したところ、80%以上が 6-8 日目に麻痺を発症し、死亡した。ウイルス接種量の検討、病理組織学的解析、免疫組織化学によるウイルス抗原の検出、RNA *in situ* hybridization によるウイルスゲノムの検出および RT-PCR による組織中のウイルスのマイナス鎖中間体の検出から、OM1 株の経鼻接種後の最初の感染増殖部位は、鼻腔粘膜であることを明らかにした。
2. 経鼻接種後の TgPVR21 の中枢神経系における OM1 株の感染、増殖は脳幹部が最初で麻痺発症時には腰髄前角の運動神経細胞、脳幹および大脳の運動領の錐体細胞におよぶことを病理組織学的解析と免疫組織化学によるウイルス抗原の検出結果から明らかにした。また OM1 株接種後の TgPVR21 の組織から経時的にウイルス分離を行ったところ上顎組織とともにリンパ節、脾臓、Peyer 氏板でのウイルス感染価の経時的な増加がみられ中枢神経系での顕著なウイルス感染価の増加が症状の進行に相関していた。一方で、Sabin 1 株の経鼻接種後の上顎組織内でのゲノム複製は確認したが中枢神経系におけるウイルスの増殖は認められず、病原性の発揮に相違があった。

3. Sabin 1 株  $10^6$  CCID<sub>50</sub>/2  $\mu$ l で 3 回経鼻免疫した TgPVR21 に対して OM1 株  $10^7$  CCID<sub>50</sub>/2  $\mu$ l の経鼻攻撃を行い、非免疫群と生存率を比較したところ、3 回免疫群で有意に生存率が高かった。経鼻攻撃後 1 あるいは 2 日目と 21 日目の血中の抗体産生について ELISA 法で解析した結果、3 回免疫群において有意にポリオウイルス特異的 IgM、IgG、IgA の産生が認められ、ヒトと同様の免疫反応が得られることが示された。また、OM1 株経鼻攻撃後の糞便中への排泄とウイルス量は経鼻攻撃後 2 日目以降に免疫群と非免疫群でプロビット解析により有意な差を認め、経鼻免疫による発症防御、糞便へのウイルス排泄の抑制を明らかにした。
4. 鼻汁中のポリオウイルス特異的 IgA の誘導と局所の炎症性反応、IgA 陽性細胞を病理組織学的に確認し、経鼻免疫によって、経鼻攻撃後の最初の感染部位である鼻腔粘膜で早期に局所免疫反応が誘導されることを明らかにした。
5. さらに 2000 - 2001 年に Hispaniola で起きたポリオの発生の際に急性弛緩性麻痺患者から分離されたワクチン由来ポリオウイルス変異株を用いて本モデルの有用性について検討した。Sabin 1 株免疫後の攻撃実験の結果、生存率と糞便中へのウイルス排泄は免疫群と非免疫群でプロビット解析によって有意な差がみられた。よって、本経粘膜免疫モデルはワクチン由来ポリオウイルス変異株の病原性やワクチン開発研究に有用であると結論した。

以上、本論文はポリオウイルスの経粘膜感染後の病態と粘膜免疫を研究するための有用な感染動物実験モデルを確立したことを示した。この TgPVR21 を用いたポリオウイルス経粘膜感染モデルは、サルに代わる有用な動物モデルであり、現行のワクチンのワクチン由来ポリオウイルス変異株に対する有効性に関する評価や、新しいポリオワクチンの開発に大きく貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。