



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

感染性cDNAを応用した新世代ワクチン：遺伝子補強型狂犬病経口ワクチンの開発

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 源, 宣之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/456

感染性cDNAを応用した新世代ワクチン：
遺伝子補強型狂犬病経口ワクチンの開発

はしがき

狂犬病は紀元前23世紀頃より既に人類に知られていたにも係わらず、世界における発生状況は現在も惨憺たるもので、ヨーロッパの旧西欧地域を除いてここ数十年ほとんど減少していない。むしろ増加傾向にすらある。その主な原因としては2つのことがあげられる。1つは、狂犬病の発生が続いている多くの国々では犬が放し飼いにされ、また宗教上からもワクチン注射をしたがらないことである。他の1つは、発展途上国に多数生息する野生動物に対して予防が出来ないことである。現在、旧西欧各国では野生動物に経口ワクチンを投与し、かなりの成果を上げている。しかし、使用しているのは、遺伝子組換え型あるいは弱毒生ワクチンで、いずれも不活化されておらず、しかも高価で発展途上国では使用出来ない。また、弱毒ワクチンは小型齧歯類に対して病原性を保持している。これらに対応するためには、高力価かつ安全で安価な経口不活化ワクチンの大量生産が不可欠である。経口ワクチンの開発は、単に発展途上国のためだけでなく、毎年ワクチン接種を行っている日本にとっても省力化の点で重要である。

最近、Conzelmanら(1994)はマイナス一本鎖RNAウイルスとして始めて感染性cDNAを狂犬病ウイルスで作出した。その後、この手法はHVJや麻疹ウイルスなどにも応用され、ウイルス学の基礎的研究にとって有用な道具になろうとしている。

そこで、本研究では、この逆遺伝学的手法を用いて、新世代の経口不活化ワクチンの開発を試みた。すなわち、我が国の現行の動物用ワクチン株であるRC-HL株遺伝子に、高い免疫原性を有する遺伝子を追加あるいは交換した遺伝子補強型の感染性cDNAクローンを作成し、既存の概念と異なる新世代ワクチンの開発実用化を目指した。

我が国の動物用狂犬病ワクチンの製造株で、哺乳マウスに対してのみ病原性を示す、弱毒型のRC-HL株は、培養細胞で良好に増殖するが、免疫原性が低い。一方、その親株で成熟マウスに病原性を持つ、強毒型の西ヶ原株は、免疫原性は高いが、培養細胞での増殖性がきわめて低い。そこで、まず両株の全遺伝性状を比較検討した。その結果、両株の間では、免疫原性に関与する糖(G)蛋白質をコードするG遺伝子で最も変異の激しいことを明らかにした。

つぎに、本研究の核心部である、RC-HL株による感染性cDNAクローンの作出を試みた。この作製に約2年を要したが、ついにcDNAからのRC-HL株の回収に成功し、逆遺伝学的手法を確立した。狂犬病ウイルスとしてはConzelmanらに次いで世界で2例目

である。さらに、G遺伝子のみ西ヶ原株由来、残りの4つの遺伝子はすべてRC-HL株由来のキメラウイルスの回収に成功した。キメラウイルス、R(G)は、RC-HL株やリコンビナント(r)RC-HL株と同様に培養細胞での増殖性が良好であった。

そこで、西ヶ原株、RC-HL株、rRC-HL株およびR(G)株のマウスに対する免疫原性を調べた。その結果、キメラウイルス、R(G)株は西ヶ原株と同等の高い免疫原性と、RC-HL株と同じ培養細胞での増殖性を保持していることが明らかになった。

ついで、RC-HL株のG遺伝子を二重に配置したタンデムウイルスの回収を試みたが、今のところ成功していない。

以上の如く、RC-HL株を基盤にした感染性cDNAを初めて確立することが出来た。また、ワクチン製造にとって好都合な免疫原性が高く、培養細胞での増殖性の良い生物性状を持ったキメラウイルスの作出にも成功した。したがって、作出したキメラウイルス及び確立できた逆遺伝学的手法は、新世代ワクチンの開発に応用できるものと思われた。ただ、今回作出出来たキメラウイルスは、成熟マウスに対する病原性を獲得しており、病原性関連遺伝子領域の改変が必要である。また、逆遺伝学的手法を用いて、さらに免疫原性の高い、キメラウイルスやタンデムウイルスを作出する足掛かりが得られたので、さらなる研究の継続を希望する。

そこで、これまでに明らかに出来た新しい知見を本報告書にまとめ、それらを参考にして、引き続き検討すべき多くの課題の解決に当たりたい。なお、本研究を実施する端緒となった狂犬病ウイルスの分子生物学的性状を解析した基礎的な論文を末尾に添付した。本研究を遂行するに当たり、私共の講座の大学院及び学部学生諸君のご協力を頂いた。心から謝意を表したい。

最後に、科学研究費の補助を受けて本研究が実施され、かつこの研究成果報告書をまとめることが出来たことに対して、文部科学省当局はじめ関係各位に深く感謝申し上げます。