

[課程一 2]

審査の結果の要旨

氏名 飯塚 愛恵

本研究は、国際保健学と感染症学の新しい接点として、主にアフリカで流行している人獣共通・輸入感染症であるサル痘を視野に入れ、サル痘とそのワクチンとして高度弱毒痘そうワクチンの効果をサル痘感染サルモデルにて評価したものであり、下記の結果を得ている。

1. 流行地域でのサル痘の簡便な診断系として、初めて **Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)** 法を用いた遺伝子検出法を開発した。

近年日本で開発された **LAMP** 法は、標的遺伝子に対する 6 種類のプライマーを設定し、鎖置換型 DNA 合成酵素による鎖置換反応を利用して 1 ステップ 1hr で遺伝子を増幅する方法である。当該法は、高額な装置を必要せず、既に多くのウイルス感染症に応用されている。本研究では、**LAMP** 法によるサル痘ウイルス遺伝子の検出システムを用いたサル痘診断法を開発した。

サル痘ウイルスは、その臨床症状から死亡例もあるコンゴ盆地型、死亡例のない西アフリカ型に分けられる。そこで、両者を検出する **COM-LAMP**、コンゴ盆地型特異的 **C-LAMP**、西アフリカ型特異的 **W-LAMP** の **LAMP** 法を開発した。**COM-LAMP** に用いるプライマーは、**A-type inclusion body (ATI)** 遺伝子を標的領域として設計された。**C-LAMP** 用プライマーは **D14L** 遺伝子、**W-LAMP** 用プライマーは **ATI** 遺伝子上のそれぞれに特異的な領域において設計された。その感度と精度を、様々なサル痘の臨床症状を示すカニクイザル 17 頭から経時的に採取された末梢血液および咽頭ぬぐい液を検体として、高感度遺伝子検出法である **nested PCR** と比較して検討した。各 **LAMP** 法の感度と精度は、約 70% および 100% であった。また、**C-LAMP** と **W-LAMP** は、それぞれコンゴ盆地型と西アフリカ型を特異的に検出することが確認された。更に、サル痘症状が重い個体ほど、ウイルス血症レベルを高く、長期間検出された。本法は迅速かつ簡便にサル痘ウイルス遺伝子を検出し、流行地での型特異的サル痘ウイルス感染症の診断が可能で定量的にウイルス血症レベルを測定できるため、ヒトのサル痘の病勢、予後、疫学的診断にも有用と考えられる。

2. 先行研究において、高度弱毒痘そうワクチン **LC16m8** のサル痘ウイルスに対する防御効果がサルモデルにて証明されている。本研究では、**LC16m8** のサルへの単回投与がもたらす、サル痘免疫予防効果の持続能についてカニクイザルを用いて評価した。

使用したサルのうち、2種のワクチン、LC16m8またはListerを投与したサル群、およびワクチン投与しないサル群をコントロールとし、ワクチン接種から約半年または1年後にサル痘ウイルス強毒株を皮下接種し、約1ヶ月経過観察を行った。

LC16m8の効果をListerあるいはワクチン非投与群と比較して、サル痘ウイルス感染後、臨床症状を毎日観察した。3または4日毎に末梢血液、咽頭スワブを採取し、検査を実施した。その結果、ワクチン非投与群ではサル痘症状が致命的だったのに対し、LC16m8投与サル群では、ウイルス感染部位における局所的で軽い潰瘍以外の臨床症状は見られず、ウイルス血症レベルも早期に低下した。Lister投与群においても、臨床症状は見られなかった。また、体重推移は、ワクチン非投与群においてはワクチン投与群に比較して有意に減少した。それに対し、ワクチン投与群の体重は増加傾向が見られた。LC16m8投与群におけるウイルス血症レベルはLister投与群と比較して有意に上昇したが、どちらも早期に低下した。また、ワクチン投与後のIgG抗体価は、ワクチン投与後半年後にウイルスを感染させた群は、LC16m8投与群のみ半年後に一度抗体価が低下したが、ウイルス感染後ワクチン非投与群と比較して迅速に抗体価の上昇が見られた。それに対し、1年後にウイルスを感染させた群ではLC16m8、Lister投与群ともにウイルス感染前後において抗体価は高度に維持された。LC16m8投与群における両者の差は個体差によるものと結論付けられた。以上の結果から、LC16m8は単回投与のみで、サルに対するサル痘予防効果が少なくとも1年以上持続することが明らかとなった。

以上、本論文ではサル痘ウイルス感染症の迅速診断法を新たに開発し、動物モデルを用いて有用であることを明らかにし、LC16m8のサル痘発症予防効果の持続能を明らかにした。流行地での感染拡大の防止を初めとした国際保健学的な貢献が将来的に期待されるものであり、学位の授与に値するものと考えられる。