



Title	6-0-アシルムラミルペプチドによるインフルエンザスプリットウイルスワクチンに対する免疫応答の増強
Author(s)	奥長, 孝文
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32612
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

[3]

氏名・(本籍)	奥	長	孝	文
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	4908		号
学位授与の日付	昭和	55	年	3月25日
学位授与の要件	歯学研究科	歯学臨床系専攻		
	学位規則第	5	条第	1項該当
学位論文題目	6-0-アシルムラミルペプチドによるインフルエンザスプリット トウイルスワクチンに対する免疫応答の増強			
論文審査委員	(主査) 教 授	作田	正義	
	(副査) 教 授	鈴木不二男	助教授 加藤慶二郎	講 師 佐藤 光信

論文内容の要旨

効果的な予防および治療法が未完成なウイルス性疾患に対処する方策として最も期待されるのは、ワクチンによる感染、発症の予防である。著者はインフルエンザをモデルに選び、細菌細胞壁関連の合成アジュバントを用い、ヒトに適用可能な強化ワクチンの開発を目指し、研究を行った。

インフルエンザワクチンに対する免疫応答を増強する試みの中で、歴史的に有名なのは、鉱物油中水滴 (w/o) 型乳剤を用いた Salk のワクチンである。しかしこのワクチンは効果的ではあるが、注射局所に対する強い傷害作用の為に、到底ヒトに実用できるものではなかった。その後多くの研究が行なわれたが、現在に至るまで、十分満足できる成果は収められていない。

最近 Freund 完全アジュバント中の有効因子が、細菌細胞壁ペプチドグリカンの構造単位である MurNAc-L-Ala-D-isoGln. (MDP) であることが明らかにされ、さらに卵白アルブミン等をテスト抗原とした実験により、6-0-アシル-MDPのあるものが鉱物油を用いた w/o 型乳剤の助けを借りず、免疫応答を増強することが示された。

そこで著者は、6-0-アシル-MDP をインフルエンザスプリットワイルスワクチンに対する免疫応答の強化に利用することを試みた。すなわち 6-0-アシル-MDP の中でも主として、[L18]-, [B30]-, [BH48]-MDP (L は直鎖、B は α -分枝、H は β -OH、数字は総炭素原子数をあらわす) および対照として MDP 等をアジュバントとして供試した。これらをモルモットでは、A/New Jersey/8-X-53/76 (HswlNI) 株を含む単価 HA ワクチン [微研] 50CCA相当量/匹と共に、また 2 価 HA ワクチン [微研] の場合には、A/熊本/22/76 (H3N2) 株 66.7CCA相当量/匹、および B/神奈川/3/76 株 50CCA相当量/匹と共に、0.5ml の注射量として背部皮下に注射した。一方マウスでは、単価ワクチン

10CCA相当量/匹の0.2mlずつを背部皮下或いは腹腔内に注射した。投与媒体としては、スクアレンを用いて作成した水中油滴 (o/w) 型乳剤、合成レシチンとコレステロールを用いて作成したリポソーム型、或は単にリン酸塩緩衝生理食塩液(PBS)を用いた。なお対照実験では、Drakeol 6-VRを用いたw/o型乳剤を用いた。原則として約1ヶ月後に、初回と同種、同量のワクチンのみをPBSに懸濁させて追加免疫した。抗体価測定のために血清を約1週間間隔で採取し、トリプシンおよび過沃素酸カリウム、或は receptor destroying enzyme (R. D. E.) で処理後、0.6%ヒトO型赤血球を用い、マイクロ法によりHI価を測定した。またニワトリ胚細胞を用いるブラック検定法により、中和抗体量を測定した。併せて、注射局所ならびに所属リンパ節の腫脹、発熱の有無等を調べ、副作用の指標とした。

モルモットについては次の結果が得られた：[B30]-MDP 63 μ gを含むPBS型ワクチン、およびスクアレンを用いたo/wワクチンは、ワクチン単独投与群に比べて、HIおよび中和抗体の生成を著明に増強し、その強化作用はw/o型乳剤としたMDPの効果をむしろ上廻った。特に[B30]-MDPの免疫応答増強効果は、PBS型およびo/w型いずれの場合にも初期応答において著しかった。[B30]-MDPをアジュバントとした群では、追加免疫後も8～16週間の長期にわたって、ワクチン単独投与群に比べ有意の差で高く、MDPのw/o型乳剤投与群のそれを上廻る抗体価の持続が認められた。しかし[L18]-MDPをリポソーム型として投与した場合は、期待に反して、抗体産生に対する有意の増強効果はみられなかった。副作用については、w/o型乳剤として投与した場合に比べて、[B30]-MDP 63 μ gをPBS懸濁液或は、スクアレン/w型乳剤として用いた場合、特に後者では、局所における硬結等の反応および所属リンパ節の腫脹は軽微であった。また発熱も認められなかった。ちなみに[B30]-MDPは、その投与量を27および9 μ g/匹と減量しても、ワクチン単独の場合に比べて明確な抗体産生増強効果を発揮し、副作用の軽減を示した。

一方マウスでは、[B30]-MDPの増強効果はモルモットの場合ほど明確ではなかったが、ワクチンを[BH48]-MDPと共にPBS型として皮下投与すると強い免疫増強効果が得られ、腹腔内投与ではさらに効果は増強された。

インフルエンザワクチンの免疫強化に合成MDPを用いたものに、マウスを用いたAudibertら(1977年)、ハムスターを用いたWebsterら(1977年)の研究がある。いずれもMDPを水溶液の形で使用し、追加免疫後の抗体産生に明確な増強効果を認めている。しかしMDPの免疫強化作用を十分に発揮させるには、鉱物油を用いたw/o型乳剤とする必要性が良く知られている。MDPのムラミン酸残基に適当な高位脂肪酸を導入して物性を変えたものを、PBS懸濁液やスクアレン/w型乳剤として用いることにより、MDPを鉱物油を用いるw/o型乳剤として投与した場合に比べ、大巾に副作用を軽減させ、しかもインフルエンザスプリットウイルスワクチンに対し、より強い免疫強化作用を期待し得ることが明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

この研究は、最近注目を集めているムラミルペプチドの免疫強化作用を不活化ウイルスワクチンの防禦効果の増強に利用することを目的に行われたものである。すなわちヒトに適用可能なアジュバント添加ウイルスワクチンの開発を目標に、インフルエンザウイルスワクチンをモデルに選び、モルモットおよびマウスを供試して、検討が加えられた。

この研究の結果、細胞壁の免疫強化作用を担う最小構造単位、*N*-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン (MDP) に α 分枝、あるいは α 分枝、 β -OHの高位脂肪酸を導入した6-O-アシル-MDPのあるものが、代謝可能な油 (スクアレン) を用いて調製した水中油滴型乳剤として、あるいはリン酸塩緩衝生理食塩液に懸濁させた様態で、インフルエンザスプリットウイルスワクチンに対する赤血球凝集阻止抗体ならびに中和抗体の生成を、免疫早期から著明にたかめ、かつ長期にわたって持続させる免疫増強作用を示すことが明らかになった。さらに、6-O-アシル-MDPをアジュバントとした新しいワクチンでは、従来試みられてきたアジュバント添加ワクチンの場合回避することが困難であった副作用についても大巾な軽減が期待されることが示された。

以上の様に、奥長孝文君の論文は、ウイルス性疾患のワクチンによる感染および発症の予防に、より効果的で、かつより安全なワクチンの開発に大きく役立つ優れたものであり、歯学博士の学位請求論文に十分に価するものと認める。