



Title	A/奥田57 (H2N2) 株とのレコンビネーション及びイン ヒビター抵抗株の選択法による弱毒インフルエンザ A (H3N2) ウイルス “K0-1” 株の産生
Author(s)	山田, 明
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32664
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、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	山 田 明
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 4 9 0 5 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 病理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	A/奥田57 (H ₂ N ₂) 株とのレコンビネーション及びインヒビター抵抗株の選抜法による弱毒インフルエンザ A (H3N2) ウイルス“KO-1”株の産生
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 高橋 理明 (副査) 教 授 深井孝之助 教 授 加藤 四郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

インフルエンザの予防には現在不活化ワクチンが広く用いられているが、不活化ワクチンでは呼吸気道における局所抗体が産生されないのでその効果は限定されている。生ワクチンでは局所、血中の両抗体が産生されるのでより優れた効果が期待できる。我々の研究室は、すでにA (H₂N₂) 型では弱毒奥田株が開発されているが、その後の流行株の変遷によりA (H₃N₂) でも弱毒株を開発する必要が生じてきた。本研究では弱毒奥田株を利用することによりA (H₃N₂) 型の代表株の1つである。A/熊本/22/76 (H₃N₂) 株の弱毒化をはかり、えられたウイルスについてin vitro, in vivo実験でその性質をしらべ小児での小規模の試験接種を行ってその弱毒性をたしかめた。

〔方法と成績〕

熊本株は馬血清インヒビターに対して感受性である。そこで活性熊本株と紫外線不活化奥田株をふ化鶏卵の漿尿腔内で混合感染させた後、得られたウイルスをインヒビターを含む馬血清存在下に継代してインヒビター抵抗株を選ぶ方法を用いた。

このようにして産生されたウイルスからクローニングによって得られた株を“KO-1”と名付けて以下の点について調べた。

1. 抗 原 性

H₃N₂ の性質をもっていることが確認された。

2. インヒビター感受性試験

KO-1 株は親株であるA/熊本株に比し明らかに馬血清インヒビターに対して抵抗性となってい

る。

3. RNA 分析

次の2通りの方法を用いた。

(1) 株化イヌ腎細胞 (MDCK) を用いてウイルス RNA を ^{32}P でラベル精製抽出後、6 M 尿素を含んだポリアクリルアミド電気泳動 (6 M · urea PAGE) を行いオートラジオグラムで、RNA の泳動パターンをみた。

(2) 大量のウイルス感染漿尿液よりウイルス粒子を濃縮、これより RNA を抽出後、(6M urea) PAGE を行いトルイジン・ブルーで染色して RNA の泳動パターンをみた。

(1), (2) いずれの方法を用いても “KO-1” の RNA の大部分の segment は熊本株由来であるが、少くとも M-gene (RNA7) は明らかに奥田株由来であった。

4. ハムスター肺内でのウイルス増殖

ハムスター (5週令, ♀) に熊本株, “KO-1” 株, 奥田株の各々を噴霧吸入の後, 2日後, 3日後に肺を剔出, 肺内のウイルスを定量した。3日目の肺ウイルス量は野生株である熊本株に比しワクチン候補株 “KO-1” では極めて少なく “KO-1” 株は肺内でほとんどふえていないことがわかった。

5. ハムスター同居実験

熊本株と “KO-1” 株を吸入させたハムスターそれぞれの群に未感染ハムスターを同居させ, 1か月後の HI 抗体価を比較した。

A/熊本群では吸入, 非吸入ハムスターともに抗体価の上昇がみられ, 接触感染がおこっていたが, “KO-1” 株では, 吸入ハムスターにのみ抗体上昇がみられ接触感染はおこっていないことがわかった。

6. ワクチン接種

少数の4～5才の小児にワクチンの噴霧吸入試験を行い臨床反応, 抗体反応をしらべた。採血のできた8名はいずれも抗体上昇がみられ, 臨床反応はなかった。咽頭よりのウイルス分離は接種1及び2日後に試みたがすべて陰性であった。

〔総括〕

A (H3N2) 型の弱毒生ワクチン株を開発する目的で A/熊本/22/76 (H3N2) と弱毒 A/奥田/57 (H2N2) とのレコンビネーションを行い, 更に馬血清インヒビターの存在下に継代してその抵抗株を得ることにより弱毒化した A (H3N2) 型生ワクチン候補株 “KO-1” を得た。“KO-1” は次のような性質を有している。

- (1) M-gene は奥田株由来である。
- (2) 馬血清インヒビターに抵抗性である。
- (3) ハムスター肺での増殖性は低下している。
- (4) 同居実験において被接種ハムスターから非感染ハムスターへの感染はおこらない。
- (5) 少数の小児への経鼻噴霧接種で臨床反応はなく血中抗体価の上昇がみられた。

論文の審査結果の要旨

本論文はインフルエンザ A (H3 N2) 型弱毒生ワクチン株を開発する目的で A/熊本/22/76 (H3 N2) と弱毒 A/奥田/57 (H2 N2) との recombination を行わせ、更に馬血清インヒビターの存在下に継代してその抵抗株を得ることにより弱毒化した A (H3 N2) 型ウイルスを得ている。得られたウイルスは RNA 解析により M-gene は奥田株由来であることが証明されて居り又動物実験及び小児接種により弱毒化が確認され、今後基礎的及び臨床的研究価値は大きいと思われる。