The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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“KO-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

【22】

氏名・(本籍)	山田　明（やまだ　あきら）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　4905　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_2N_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択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 (H2 N2) 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 (H3 N2) 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 (H3 N2) 型の代表株の1つである。A/熊本/22/76 (H3 N2) 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

H3 N2 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，６M尿素を含んだポリアクリルアミド電気泳動（６M・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。