

Title	DENGUE-3 (16562) PGMK33 VACCINE : NEUROVIRULENCE, VIREMIA AND IMMUNE RESPONSES IN MACACA FASCICULARIS
Author(s)	Angsubakorn, Subhki j
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39671">https://hdl.handle.net/11094/39671</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">&lt;/a&gt;</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	Angsubakorn Subhkij アングスバコーン スブキット
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学位記番号	第 1 1 9 8 7 号
学位授与年月日	平成 7 年 5 月 1 6 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	DENGUE - 3 (16562) PGMK33 VACCINE : NEUROVIRULENCE, VIREMIA AND IMMUNE RESPONSES IN <i>MACACA FASCICULARIS</i> (デング熱 3 型ワクチン候補ウイルスのカニクイ猿における神経病原性 と抗体反応)
論文審査委員	(主査) 教授 上田 重晴 (副査) 教授 栗村 敬 教授 山西 弘一

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

熱帯地方に住む私たちにとっては現在なお流行する種々の感染症が重要な疾患となっている。中でもネッタイシマカによって媒介されるデング熱ウイルスの感染症は高熱を主徴とするデング熱の他に死亡率の高いデング出血熱を小児に惹起するので、その予防は極めて重要である。私たちは従来からデング熱生ワクチンの開発を続けてきた。すでに 4 型ある血清型のうち 1, 2, 4 の 3 つの型については試験検定を終え 1 相ないしは 2 相試験に入っている。

このたび最後の 3 型について、アフリカミドリザル腎臓初代培養細胞 (PGMK) で継代したウイルスから弱毒生ワクチン候補株を選択したので、カニクイザルを用いて検討したその神経病原性と抗体反応を報告する。

### 【方 法】

1. ウイルス：バンコック市内のデング出血熱患者から分離されたデング熱ウイルス 3 型 (16562 株) を PGMK で継代した。33 代あるいはそれ以上継代したウイルスは PGMK で小プラークのみを形成し、30 代以前の継代ウイルスと比べ、生物学的性状が変化したので、臨床試験用の原液を 33 代継代ウイルスで作成した (DEN - 3vaccine)。

検定には DEN - 3vaccine ( $1.8 \times 10^6$  PFU/ml) とその親株 (DEN - 3virus) ( $1.1 \times 10^6$  PFU/ml) を用いた。

2. 神経病原性テスト：デング熱および日本脳炎抗体陰性のカニクイザルの両側視床内に検体ウイルス液を 0.5ml ずつ、腰髄内に 0.5ml、大腿部筋肉内に 0.1ml を接種した。接種 21 日ないし 22 日後に麻酔処置後に左心室から環流固定し、摘出した大脳、脊髄は計量後 10% 緩衝ホルマリン液に浸け、固定した。病変は顕微鏡下で組織学的に検索した。

なお、検定に用いたサルは DEN - 3vaccine 群 6 頭、DEN - 3virus 群および対照 PGMK 非感染培養液群は 2 頭ずつであった。

3. ウイルス分離と抗体測定：ウイルス接種後 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 および 21 日に採血し、接種ウイルスの分離をおこなった。また 0 日と 21 日あるいは 22 日の血清で HI および中和 (プラーク減少法) 抗体の測定をおこなった。

### 【結 果】

1. ウイルス分離：DEN - 3vaccine 群で 10 日後に 1 頭ウイルス血症を認めた以外、いずれのサルにもウイルス血症

は認められなかった。また、大脳および脊髄内からもウイルスは検出できなかった。

2. 抗体反応：3型デング熱ウイルスに対するHI抗体は DEN-3vaccine 群および DEN-3virus 群のいずれのサルにおいても20-320倍の範囲で認められた。なお、他の型および日脳ウイルスに対する交差反応による抗体産生が10-40倍の範囲であった。中和抗体は50-320倍の範囲で産生が認められた。交差反応は12-80倍の範囲で認められた。
3. 病理組織学的所見：主として中脳、基底核、および腰髄に就いて病理組織学的に病変が認められた。3群いずれのサルにおいても神経病変は認められたが、その程度はいずれも軽微であった。病変の主たるものは血管周囲のリンパ球浸潤とグリア細胞結節形成であり、神経細胞の変性は認められなかった。また群別に病変の差異は見られなかった。

#### 【総括】

本研究の結果、開発中のデング熱生ワクチンの中で、最後の血清型であった本候補ウイルス (DEN-3vaccine 16562株) はカニクイザルでの神経病原性も低く、抗体産生誘導能も優れているので、臨床試験に使用することができるワクチン候補株であると結論できる。

### 論文審査の結果の要旨

デング熱はネッタイシマカによって媒介される熱帯特有のウイルス性熱性疾患である。小児では死亡率が高いデング出血熱を惹起する 경우가多く、その予防ワクチンは開発が熱望されている。

本研究は現在タイ国で開発段階にある3型デング熱弱毒生ワクチンについて、ワクチン候補株ウイルスとその親株ウイルスの神経病原性をアカゲザルとカニクイザルの2種類のサルで試験研究したものである。サルは対照無処置群2頭、親株群2頭、ワクチン株群6頭とした。ウイルスをそれぞれのサルの両側視床内、腰髄内および大腿部筋肉内に接種し、3週間観察した。観察終了後にはサルを麻酔下に環流固定し、病理検索に供した。3群いずれのサルでも神経病変は認められたが、その程度は軽微で、ことにワクチン候補株ウイルスでは親株ウイルスに比べ、一層軽微であった。なお、出現した主たる病変は血管周囲のリンパ球浸潤、グリア結節の形成であり、神経細胞の変性は認められなかったことから、現在開発段階にある3型デング熱生ワクチンの神経病原性は許容範囲内であることが明らかになった。

本研究は、熱帯に於ける重要な熱性疾患の1つであるデング熱の予防に弱毒生ワクチンが使用できることを示唆したもので、学位の授与に値すると認める。