

Title	Intranasal vaccination with pneumococcal surface protein A plus poly(I:C) protects against secondary pneumococcal pneumonia in mice
Author(s)	江副, 浩和
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59037">https://hdl.handle.net/11094/59037</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"〉</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">〈/a〉</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	江 副 浩 和
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学位記番号	第 25077 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Intranasal vaccination with pneumococcal surface protein A plus poly(I:C) protects against secondary pneumococcal pneumonia in mice (pneumococcal surface protein A と poly(I:C) により経鼻粘膜ワクチンはマウスにおける二次性肺炎球菌性肺炎を防御することができる)
論文審査委員	(主査) 教授 大石 和徳 (副査) 教授 生田 和良 教授 朝野 和典

## 論文内容の要旨

### 〔 目的 〕

季節性インフルエンザやパンデミックインフルエンザ時にみられる二次性細菌性肺炎はしばしば重症化し、肺炎球菌はその主要な原因菌である。この二次性肺炎球菌性肺炎の発症あるいは重症化予防ワクチンの開発は重要であるが、マウスモデルを用いた十分な検討は未だ無いのが現状である。そこで本研究では、インフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎球菌性肺炎マウスモデルを確立し、poly(I:C)をアジュバントとして用いた PspA 経鼻粘膜ワクチンの二次性肺炎球菌性肺炎に対する感染防御効果を検討した。

### 〔 方法ならびに成績 〕

二次感染マウスモデルを構築するために、マウスにインフルエンザウイルス (H1N1) A/New Caledonia (1 × 10<sup>8</sup> PFU) を経鼻感染させ、その5日後に血清型3肺炎球菌である WU2 株 (6 × 10<sup>8</sup> CFU) を経鼻感染させたところ、二次感染マウス群の生存率および体重の有意な低下がみられた。次に二次感染後の肺内および血中菌数を測定したところ、二次感染マウス群の肺内で有意な菌数増加がみられ、さらに血中から菌が検出された。続いて肺の病理を行ったところ、二次感染マウス群において肺内へ顕著な炎症細胞の浸潤がみられた。これらの結果からインフルエンザウイルスの先行感染は肺炎球菌感染を重症化することが明らかとなった。次に PspA 経鼻粘膜ワクチン投与後の血中および気道中における抗体誘導を調べるために、マウスから血清および気管支肺胞洗浄液を回収し ELISA 法にて抗体価を測定した。その結果、poly(I:C)アジュバント投与群では血中および気道中に有意な PspA 特異的 IgG 抗体の産生がみられたが、気道中の IgA 抗体は検出されなかった。次に PspA 免疫血清を用いて PspA および菌体表面上における抗体結合を検討したところ、PspA 免疫血清は PspA タンパク質を特異的に認識し、さらに菌体表面上に結合することがわかった。続いて PspA 免疫血清を用いて菌体表面上における C3 の結合を測定したところ、PspA 免疫血清によって菌体表面上への C3 の結合が促進されることが明らかとなった。次に PspA 経鼻粘膜ワクチンの二次性肺炎球菌性肺炎に対する感染防御効果を検討するために、PspA ワクチン投与後にインフルエンザウイルスおよび

肺炎球菌を感染させ、マウスの生存率および体重を測定したところ、PspA ワクチン投与群では100%の生存率を示し、さらに顕著な体重減少はみられなかった。さらに詳しくこの感染防御効果を検証するために PspA ワクチン投与群と非投与群における肺内および血中菌数を測定したところ、PspA ワクチン投与群では肺内および血中菌数の有意な抑制がみられた。また肺内の炎症の程度を調べるために、PspA ワクチン投与群と非投与群における肺の病理および気管支肺胞洗浄液中の全細胞数と細胞分布を測定したところ、この2群間で肺における炎症の程度に有意な差はみられなかった。最後に肺炎球菌による二次感染を PspA 免疫血清で防御できるか検討するために、マウスの腹腔内に PspA 免疫血清を投与し、インフルエンザウイルスと肺炎球菌を感染させたところ、PspA 免疫血清投与群において有意なマウスの生存率の上昇がみられた。

### 〔 総括 〕

poly(I:C)をアジュバントとして用いた PspA 経鼻粘膜ワクチンは、肺内菌数の増加および菌血症を阻止することで二次性肺炎球菌性肺炎の重症化を抑制し、血中に誘導された PspA 特異的 IgG 抗体が、その感染防御効果において中心的な役割を果たしていることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

インフルエンザ後にみられる二次性肺炎はしばしば重症化し、その主要な原因菌は肺炎球菌である。これまで二次性肺炎球菌性肺炎に対するワクチンの予防効果については十分に検討されていない。そこで我々は肺炎球菌表層蛋白質である PspA 経鼻粘膜ワクチンの二次性肺炎球菌性肺炎マウスモデルにおける予防効果を評価した。まず、マウスはインフルエンザウイルス感染後に肺炎球菌接種に対して易感染性となることが示された。PspA 接種後のマウスにおいて、PspA 特異的 IgG が血中には高濃度、気道中には低濃度に検出された。PspA 接種マウスに対して二次感染を惹起したところ、肺内菌数および血中菌数は有意に減少し、結果的に生存率の有意な上昇が認められた。また、受動免疫実験の結果から、PspA 特異的 IgG がこの感染防御に重要であることが示唆された。この研究成果は基礎的・臨床的にも意義深く、博士 (医学) の学位授与に値するものと考えられる。