

Title	Non-clinical study about vaccine adjuvant and antiviral agent for the control of influenza virus infection
Author(s)	大西, 元康
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59575">https://hdl.handle.net/11094/59575</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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***

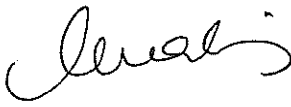
<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	大西 元康
論文題名 Title	Non-clinical study about vaccine adjuvant and antiviral agent for the control of influenza virus infection (インフルエンザウイルスの感染制御を目的としたワクチンアジュバントおよび抗ウイルス薬の非臨床研究)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>インフルエンザウイルスの感染制御においてワクチン接種による予防、および感染時の抗ウイルス薬投与による治療は感染拡大や重症化の抑制といった観点から重要な役割を担っている。しかしながら、国内におけるアジュバント非添加のインフルエンザワクチンについては乳幼児や高齢者等で抗体価が上昇しにくいことから、ワクチン効果を高められる安全なアジュバントの開発が必要とされている。一方、インフルエンザ治療に関しては、国内で4剤のノイラミニダーゼ阻害剤が使用され、ウイルス単独感染に対する有効性は幅広く評価されているが、ウイルス感染後に起こる細菌との混合感染に対する有効性は致死率が高いものにも関わらず十分に評価されていないため、混合感染に対する有効性を検討する必要があると考えられている。本研究では、インフルエンザウイルスの感染制御に必要な予防、および治療に関して、アジュバントの有用性とメカニズムの解析、および抗ウイルス薬の混合感染に対する有効性評価を目的にアジュバントとして医薬品添加剤hydroxypropyl-<math>\beta</math>-cyclodextrin (HP-<math>\beta</math>-CD)、抗ウイルス薬としてペラミビルを用いて研究を実施した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>アジュバント研究：インフルエンザヘマグルチニンスプリット抗原とHP-<math>\beta</math>-CDを混和させ、マウスに2回免疫を行い、インフルエンザウイルスを感染させた結果、免疫原性および致死抑制効果の向上が認められた。またカニクイザルにおいてもHP-<math>\beta</math>-CD添加による免疫原性の向上が確認された。HP-<math>\beta</math>-CDの性質を解析するためにovalbumin (OVA) 抗原を用いてアレルギー誘導性の指標であるIgEの誘導性をマウスで検証した結果、HP-<math>\beta</math>-CDはIgEの誘導性が非常に低いことがわかった。また、HP-<math>\beta</math>-CDをマウスに投与した後、血漿中における炎症性サイトカインの誘導性を調べた結果、誘導が認められなかったことからHP-<math>\beta</math>-CDはアレルギーや全身性の炎症を誘導する懸念が低く、安全性の高い物質であることが示唆された。HP-<math>\beta</math>-CDのアジュバント効果に必要な因子を見出すために自然免疫の活性化に関与する遺伝子のノックアウトマウスを用いて、免疫後の抗体産生応答を指標に調査した結果、dsDNAの刺激により活性化するシグナル伝達経路の因子であるTBK1がアジュバント効果に関与していることがわかった。<i>In vitro</i>でHEK293T細胞に対する傷害性を確認したところ、アジュバント効果を発揮する濃度域で細胞傷害を示した。これらの結果からHP-<math>\beta</math>-CDがもたらす細胞傷害に起因して誘導されるdsDNA等の生体因子がアジュバント効果に重要である可能性が示唆されたため、マウス投与部位におけるdsDNAの放出を検証したところ、一時的にdsDNAが放出されることを見出した。また、OVA/HP-<math>\beta</math>-CD投与時にDNaseも加えて投与した際、抗体価の低下が認められた。これらの結果から、HP-<math>\beta</math>-CDは生体内で一時的にdsDNAを放出させることでTBK1を介する自然免疫を活性化させ、アジュバント効果を発揮することが示唆された。</p> <p>抗ウイルス薬研究：マウスにインフルエンザウイルスを感染させた後にペラミビルまたはオセルタミビル（対照薬）の治療を開始し、感染2日後に肺炎球菌を感染させ、生存率、肺内のウイルス量、菌量、および炎症性サイトカイン量を測定した。その結果、ペラミビルはオセルタミビルよりも強力な致死抑制効果を示した。また、ウイルス増殖、菌増殖、炎症性サイトカイン産生においてもペラミビルの強い抑制効果が確認された。抗菌作用を示さないペラミビルがどのように菌増殖の抑制をもたらしたのか考察するために蛍光標識した肺炎球菌に対するマクロファージと好中球の<i>in vivo</i>菌食作用をフローサイトメトリーで評価した結果、ペラミビル治療群の方がオセルタミビル治療群よりも食食性が低かった。このことから、ペラミビル治療群では肺内においてマクロファージと好中球が効率良く除菌効果を発揮することで、致死が抑制されている可能性が示唆された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>本研究によりHP-<math>\beta</math>-CDが安全性と有効性を兼ね備えたアジュバントであることが非臨床で明らかになったことからHP-<math>\beta</math>-CDはヒトのインフルエンザワクチンのアジュバントとして有用である可能性が示唆された。また、ペラミビルが混合感染モデルにおいて優れた有効性を示したことから、臨床においてもウイルス感染後における混合感染の発症、または重症化を抑制する可能性が示唆された。これらの予防および治療に関する研究成果はインフルエンザウイルスの感染制御を向上させる上で有益なエビデンスになると考えられる。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大西 元康	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 
	副 査 大阪大学教授 熊御淳
	副 査 大阪大学教授 竹田 環
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>インフルエンザウイルスの感染制御に重要な予防、および治療に関して非臨床研究が行われた。予防に関しては、ワクチンアジュバントの研究が実施され、医薬品添加剤であるhydroxypropyl-<math>\beta</math>-cyclodextrin (HP-<math>\beta</math>-CD) がインフルエンザワクチンのアジュバントとして有効であることをマウスとカニクイザルで実証した。また、メカニズム解析を行い、HP-<math>\beta</math>-CD 接種時に一時的に放出されるdsDNAがTBK1を介して液性免疫を高めていることを明らかにした。一方、治療に関してはインフルエンザ疾患において高い致死率を示すインフルエンザウイルス/肺炎球菌の混合感染に対して抗ウイルスであるペラミビルの有効性をマウスモデルで評価し、ペラミビルの優れた有効性を実証した。上記の研究成果はインフルエンザウイルスの感染制御を向上させる上で有益なエビデンスになると考えられるため、本論文は学位の授与に値する。</p>	