

Guillermo Posadas Herrera 論文内容の要旨

主 論 文

Development and evaluation of a formalin-inactivated West Nile Virus vaccine (WN-VAX) for a human vaccine candidate

(西ナイルウイルス不活化ワクチンの開発と評価)

Guillermo Posadas Herrera, Shingo Inoue, Isao Fuke, Yuko Muraki, Cynthia A. Mapua, Afjal Hossain Khan, Maria del Carmen Parquet, Sadao Manabe, Osamu Tanishita, Toyokazu Ishikawa, Filipinas F. Natividad, Yoshinobu Okuno, Futoshi Hasebe, Kouichi Morita.

(Vaccine, 28 巻:7939-7946, 2010)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：森田 公一 教授)

【緒 言】

西ナイルウイルス(West Nile virus)はフラビウイルス科に属する一本鎖RNAウイルスであり、鳥を宿主とし蚊によって媒介される。かつてはアフリカ、中近東およびヨーロッパの一部に限局して分布しヒトにおける感染の流行も記載されている。1999 年このウイルスは大西洋を隔てたアメリカ大陸に侵入して拡大し近年は主として米国において毎年数千名の感染者が発生している。従来このウイルスによる感染では比較的軽症の熱性疾患症状で経過する場合が多くみられたが、米国に侵入したウイルスでは致命率は約 3%であり、また高い中枢神経感染率が報告されている。ヒトに使用できる予防ワクチンがないことから早急なワクチン開発が望まれる。

【対象と方法】

ニューヨークで分離された WNV-NY99 株をマイクロキャリアー上に培養した Vero 細胞に感染させ数日後に感染培養液を回収し、日本脳炎ウイルスワクチン作製法に準じて、ホルマリンにより感染性を不活化したのちショ糖密度勾配超遠心法によりウイルス粒子を精製した。試作したワクチンはイヌ、ウサギ、ラットを用いて安全性試験を実施し、またマウスを用いてワクチン接種による液性免疫誘導能を ELISA 法、ウイルス中和法によって検証し、ウイルス攻撃試験により感染防御に対する有効性を検討した。

【結 果】

- 1) GMP環境のもとに作製した西ナイルワクチンは動物を用いた安全性試験において循環器系、呼吸器系、腎機能において何らの毒性を示さず、培養細胞、細菌を用いた突然変異刺激性についても異常をみとめず、ヒトでの臨床試験実施に必要なとされる安全項目を満たしていた。
- 2) マウスを用いて実施した有効性試験では 40 倍希釈標品においても強毒西ナイルウイルスの攻撃に対して有効な免疫を引き出すことができた。また限界希釈試験では、3.2ng/dose でもウイルス中和抗体の産生が認められ、かつ 100LD₅₀ の強毒ウイルスの攻撃に対しても 100%の防御効果がみとめられた。
- 3) コントロールとして日本脳炎ワクチンを接種マウス群においては強毒西ナイルウイルス感染を防御できなかった。
- 4) ワクチン接種により産生された抗体は他のフラビウイルス属のウイルスである日本脳炎ウイルス、デングウイルス(2型)、マレーバレー脳炎ウイルス、黄熱ウイルス、セントルイス脳炎ウイルスに対して交叉反応をしめしたがいずれも低い値(1:10程度)であった。

【考 察】

現在、世界の複数の研究機関において西ナイルワクチンの開発が進展している。その多くは遺伝子工学的手法より作られた生ワクチンや、いまだ実用化されたものがない DNA ワクチンや RNA ワクチンの技法によるものである。今回我々が試作した西ナイルワクチンはすでにワクチン生産で実績のある Vero 細胞を用いた不活化ワクチンであり、他のワクチン候補と比較して安全性においてすぐれていると考えられ今回、動物試験によっても確認することができた。

試作ワクチンは通常免疫濃度では1:1000の中和抗体を引き出すことができ、ウイルス感染予防に必要なとされる1:10よりはるかに高い値であった。高崎らはマウスを日本脳炎ワクチンで免疫すると部分的に西ナイルウイルス感染を予防する効果が確認されたと報告しているが、今回我々は同様な実験を強毒の西ナイルウイルス・ニューヨーク株を用いて実施した。その結果、少なくともマウスでは日本脳炎ワクチンによる交差免疫により強毒西ナイルウイルス脳炎を予防することはできなかった。このことは、現在米国で流行している西ナイルウイルス感染の予防には有効な西ナイルワクチンの開発が必要であることを示していると考ええる。

これらの結果から我々が開発した西ナイルウイルス不活化ワクチンは感染予防に有効で安全なワクチン候補としてヒトでの臨床試験を実施する妥当性が示された。