

氏 名	あか 赤 はた 畑 わたる 渉
学位(専攻分野)	博士 (人間・環境学)
学位記番号	人 博 第 145 号
学位授与の日付	平成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	人間・環境学研究科 人間・環境学専攻
学位論文題目	DNA vaccination of macaques by full genome plasmids which produce noninfectious virus particles. (アカゲザルを用いた非感染性ウイルス粒子を産生するフルゲノムプラスミドによる DNA ワクチンの開発)
論文調査委員	(主 査) 教授 速 水 正 憲 教授 津 田 謹 輔 教授 松 村 道 一 助教授 三 浦 智 行

論 文 内 容 の 要 旨

最新の WHO の統計によると、後天性免疫不全症候群（エイズ）の原因ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）は病気の発見以来、この20年間に約2000万人の命を奪い、現在世界中で約3400万人が感染していると報告されている。近年先進諸国においては、種々の抗 HIV-1 薬を用いた多剤併用療法（HAART）の開発によりエイズによる死亡率は低下する傾向にある。しかし、エイズ感染者の9割以上は高価な抗 HIV-1 薬の恩恵にあずかれない貧しい発展途上国に居住していること、また先進諸国の感染者においても HAART の精神的経済的負担は僅少ではなく、加えて薬剤耐性ウイルスの出現という新たな難題も生じており、効果的なワクチン開発の必要性に迫られている。

これまでに開発されたエイズワクチンとしては、ウイルス蛋白質を精製したサブユニットワクチンが知られている。しかし、このワクチンは安全ではあるが急速に変異するウイルスに対応できず効果が低いことが明らかになっている。またウイルス遺伝子の一部を欠損させた弱毒生ワクチンは少なくとも動物実験レベルで効果があることが示されているが、安全性の問題から実用化には未解決な問題もある。こうした状況下、エイズワクチンの有力な候補の一つとして DNA ワクチンが注目されている。ただし、従来の DNA ワクチンは数種類のウイルス蛋白質を個別に発現させる方法が主流であり、それらの単独接種では防御効果が弱いことが既に指摘されていた。そこで本研究では各蛋白質を個別に発現させるだけでなく、ウイルスのフルゲノムプラスミドを用いてウイルス蛋白質の集合、粒子の形成及び発芽までの過程を経る新しい型の DNA ワクチン候補を開発した。本法のねらいは、従来法に比べ実際のウイルスのライフサイクルに近づけることにより高い効果を引き出すことである。また、免疫誘導能及び防御効果の評価にあたってはエイズ動物モデルとして確立されているアカゲザルと HIV-1/SIV キメラウイルス（SHIV）の感染系を用いた。

本研究では、この新しい型のフルゲノムプラスミドによる DNA ワクチン開発のため2種類のプラスミドを用いている。Part I では非感染性 HIV-1 粒子を産生するプラスミドを DNA ワクチンとして使用した。ワクチン接種は1回当たり 500 μ g の DNA を筋肉 F 種により合計14回行った。ワクチン接種した4頭のサルのうち2頭で良好な液性免疫が、他の2頭では細胞性免疫が誘導された。また防御効果判定に用いた攻撃ウイルスの血中ウイルス量のピーク値は、すべての免疫されたサルにおいて非免疫コントロール群のサルの血中ウイルス量に比べて 1/100 以下に下がっていることが確認された。特に、細胞性免疫が誘導された2頭のサルにおいては血中ウイルス量が攻撃接種4週後以降に検出限界以下になった。一方、液性免疫が誘導された2頭では攻撃接種8週後まで血中ウイルスが検出され、ウイルスの排除には細胞性免疫の誘導が重要であると考えられた。しかし、この方法においては頻回の免疫接種が必要であったため、将来的にヒトへの応用を考えて1回当たりのワクチン効率の向上と安全性の更なる確保が次の課題と考えられた。そのため Part II においては、HIV-1 の LTR を用いてウイルス粒子を産生するプラスミドに代えて、SIV の LTR プロモーターを用いて非感染性 SHIV 粒子を産生するプラスミドを使用した。ワクチン接種は1回当たり 500 μ g の DNA を筋肉接種により合計8回行った。ワクチン接種した4

頭いずれのサルにおいても、液性免疫の誘導は見られなかったが細胞性免疫が誘導された。また防御効果判定に用いた攻撃ウイルスに対しては、Part I で得られたのとはほぼ同様の部分的な防御効果が確認された。また、ワクチン接種された4頭のサルのうち3頭で血中ウイルス量が攻撃接種4週後以降に検出限界以下になっており、残り1頭でも攻撃接種6週後以降に検出限界以下になっていた。Part II においては接種回数を Part I の約半分に減少させているにもかかわらず同等の効果が得られ、ワクチン効率が上がったと考えられた。

以上、本研究により非感染性ウイルス粒子を産生するフルゲノムプラスミドによる DNA ワクチンが動物実験レベルにおいて有効であることが示された。この研究の成果はヒトのエイズワクチン開発の上で重要な知見であり、今後の開発研究に役立つものと期待される。

論文審査の結果の要旨

近年開発された種々の抗ウイルス薬を組み合わせる多剤併用療法 (HAART) は、エイズによる死亡率を低下させることに大きく貢献した。しかし、エイズに感染しているほとんどの人は発展途上国の人々であり、そのような治療を受けることができないのが実状である。また、HAART による治療も耐性ウイルスの出現をどう克服するかという新たな課題をかかえている。このようなことから、エイズの問題を根本的に解決するための効果的なワクチン開発が強く望まれている。現在その有力な候補として DNA ワクチンが注目されている。ただし、これまでの DNA ワクチンは数種類のウイルス蛋白質を個別に発現させる方法が主流であり、それらの単独接種では防御効果が弱いことが指摘されていた。こうした背景の下、申請者は各蛋白質を個別に発現させるだけでなく、ウイルスのフルゲノムプラスミドを用いて全ウイルス蛋白質の集合、粒子の形成および発芽までの過程を経る新しい型の DNA ワクチンの開発を試みた。本法のねらいは、従来法に比べ実際のウイルスのライフサイクルにより近い形を経ることにより高い効果を引き出すことにある。また、免疫誘導能及び防御効果の評価にあたってはエイズ動物モデルとして確立されているアカゲザルと HIV-1/SIV キメラウイルス (SHIV) の感染系を用いている。

申請者は、この新しい型のフルゲノムプラスミドによる DNA ワクチン開発のため2種類のプラスミドを用いて行った。part I では非感染性 HIV-1 粒子を産生するプラスミドを DNA ワクチンとして使用した。ワクチン接種した4頭いずれのサルにおいても良好な液性もしくは細胞性免疫が誘導された。また防御効果判定のため接種した攻撃ウイルスの血中ウイルス量を 1/100 以下に下げることが確認された。これらのことから非感染性 HIV-1 粒子を産生するプラスミドが DNA ワクチンとして有効であることが示されたが、頻回の免疫接種が必要であったため、将来的にヒトへの応用を考えて1回当たりのワクチン効率の向上と安全性の更なる確保が次の課題と考えられた。その方策の一つとして Part II においては、SIV の LTR プロモーターを用いて非感染性 SHIV 粒子を産生するプラスミドを使用した。ワクチン接種した4頭すべてのサルにおいて細胞性免疫誘導が見られ、攻撃実験においても先とはほぼ同様な防御効果が見られた。Part II においては接種回数を Part I の約半分に減少させているにもかかわらず同等の効果が得られ、ワクチン効率が上がったと考えられる。

以上、本研究により非感染性ウイルス粒子を産生するフルゲノムプラスミドによる DNA ワクチンが動物実験レベルにおいて有効であることが示された。このようなフルゲノムプラスミドによる新しい型の DNA ワクチンの有効性を示したのは、本研究が初めてである。ワクチンの実用化に向けては、接種回数の一層の減少や安全性の確保といった研究をさらに進める必要があるが、本研究で得られた結果をもとにアジュバントなどを組み合わせることで改良される可能性が考えられる。また、最近のエイズワクチン開発においては、DNA ワクチンでブラインディングし、様々なブースターと組み合わせることでより効果が上がることが報告され始めている。本研究の DNA ワクチンとそれらのブースターと組み合わせたワクチンの開発に今後の進展に期待が持たれる。また、現在様々なヒトのエイズワクチン開発が臨床レベルで行われているが、ヒトでは攻撃ウイルスを接種して防御効果判定を行うことは不可能である。本研究の成果は、動物モデルとしてヒトと同じ霊長類を用いた個体レベルでのヒトのエイズワクチン開発上非常に重要な知見をもたらすものである。申請者は、本論文の内容に関して、既に Part I に関する論文が国際学術誌 (Virology 誌) に受理されており、本論文の価値は当該分野の研究者にも高く評価されている。本論文は、人間と環境の問題を総合的に考察し、現在人類の直面している困難な諸問題の根本的解決に資する創造的研究を目指して創設された人間・環境学専攻自然環境論講座にふさわしい内容を備えたものと言える。

よって本論文は博士（人間・環境学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成14年1月24日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。