



Dengue tetravalent DNA vaccine increases its immunogenicity in mice when mixed with a dengue type 2 subunit vaccine or an inactivated Japanese encephalitis vaccine

井本, 淳一

(Degree)

博士 (保健学)

(Date of Degree)

2008-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4234

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004234>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名 井本 淳一
博士の専攻分野の名称 博士（保健学）
学 位 記 番 号 博い第 57 号
学位授与の要 件 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の日 付 平成 20 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Dengue tetravalent DNA vaccine increases its immunogenicity in mice when mixed with a dengue type 2 subunit vaccine or an inactivated Japanese encephalitis vaccine (デング 2 型タンパクワクチンまたは日本脳炎不活化ワクチンの混合投与によるデング 4 倍 DNA ワクチンのマウスにおける免疫原性の上昇効果)

審 査 委 員

主 査 教 授 塩澤 俊一
教 授 宇賀 昭二
教 授 伊藤 光宏

論文内容の要旨

専攻領域 病因・病態解析学
専攻分野 病態解析学
氏名 井本 淳一

論文題目（外国語の場合は、その和訳を併記すること。）

Dengue tetravalent DNA vaccine increases its immunogenicity in mice when mixed with a dengue type 2 subunit vaccine or an inactivated Japanese encephalitis vaccine (デング 2型タンパクワクチンまたは日本脳炎不活化ワクチンの混合投与によるデング4価DNAワクチンのマウスにおける免疫原性の上昇効果)

デング熱/デング出血熱(DF/DHF)は、世界中の熱帯地域、亜熱帯地域を中心に毎年1億人の罹患者が推定される蚊媒介性のラビウイルス病である。また、DF/DHFは、感染地域の拡大、罹患者数の増加が世界的な問題であり、感染予防の必要性は温帯地域においても高くなってきていく。しかしながら、DF/DHFに対するワクチンは未だ開発段階にあり、効果的な新型ワクチン及び投与法の開発が望まれる。そこで、我々はデング1型から4型に対する4価DNAワクチンを開発し、全ての型に対して中和抗体価が誘導されることを、マウスモデルを用いて示した。しかし、4価DNAワクチン単独の2回投与では、誘導された中和抗体価は70%ブラーク減少法で1:40-1:80と低く、また抗体誘導の長期的な持続性がないなどの問題点があった。当研究では、これらDF/DHFに対するDNAワクチンとタンパクワクチンの混合投与法および針無注射器投与法という2つの方法を用いた併用効果により、中和抗体誘導能を上昇させることを目的にした。

DNAワクチンとして、デング1から4型ウイルスおよび日本脳炎ウイルス（JEV）それぞれのprM/E遺伝子を組み込んだプラスミドを、タンパクワクチンとして、日本脳炎精製不活化ワクチン（JEVAX）及びデング2型ウイルス細胞外粒子（ニュークレオカプシドのない空のウイルス粒子：D2EPs）を用いた。マウス実験は、4週齢の1群5あるいは6匹のマウスに、針無注射器を用いて免疫し、3週間隔で採血を行った。

まず、10 µgのデング2型DNAワクチンあるいは1/10ドーズのJEVAX単独投与の場合、それぞれデング2型に対する中和抗体価が1:10あるいは検知レベル以下であったのに対して、両者を混合投与することにより1:20と2倍以上の抗体価の上昇を示した。同様に、1 µgのデング2型DNAワクチンと1/100ドーズのJEVAXの混合投与により、単独投与では各々デング2型に対する中和抗体価が検知レベル以下であったのに対して、混合投与により1:10の検知レベルの抗体価を示した。このことより、異なる抗原グループに属するJEVとデングウイルスの抗原であっても針無混合投与により中和抗体誘導能が上昇することが示された。また、JEVとデングの各型に対するマウス過剰免疫腹水を用いて、全てのウイルスに対する中和試験における交差反応性を調べた結果、同種のウイルスに対する抗体価が1:5120-1:10240の時に他のウイルスに対する中和抗体価はすべて1:40以下であったことより、測定法上の非特異的な交差反応のレベルは1/128以下と極めて低いものであることがわかった。したがって、今回誘導された中和抗体価の上昇は、中和試験の

検査上の交差反応によるものではなく、針無混合投与法によりin vivoでの交差反応が効率的に誘導された結果みられたものであることが確認された。さらに、デング1から4型のDNAワクチン各々25 µgの計100 µgのデング4価DNAワクチンに、150 ngのD2EPsあるいは1/10ドーズのJEVAXを混合し、マウスに針無投与した。その結果、4価DNAワクチン単独での1回投与では、90%ブラーク減少法で1:10-1:40と低値であったのに対して、混合投与の場合全ての型に対する中和抗体価は、DNA単独投与と比較して2-16倍の上昇が認められた。また、誘導された高い中和抗体価のレベルは免疫後12週まで維持された。次に、免疫マウスにウイルス攻撃を行った結果、非免疫群と比較しDNAワクチンとタンパクワクチン混合投与群においては、血中のウイルス感染力値の有意な減少が認められたことから、中和抗体が誘導された群ではウイルス攻撃によるウイルス血症から防御されることが示唆された。

今回のDNAとタンパクワクチンの混合免疫の系によって単回の免疫により長期持続的な中和抗体反応の誘導が可能になり、ワクチンのコストを減少できることにつながる。また、中和試験における交差免疫性が低いとされるJEVとデングウイルス間でも、針無混合投与法により、異なる抗原グループの免疫原（JEVAX）によってデング4価DNAワクチンの免疫原性が上昇したことは、今後の混合ワクチン開発を考える上で意義深いと考えられる。

指導教員

塩澤 俊一

論文審査の結果の要旨

氏名	井本 淳一		
論文題目	Dengue tetravalent DNA vaccine increases its immunogenicity in mice when mixed with a dengue type 2 subunit vaccine or an inactivated Japanese encephalitis vaccine (デング 2型タンパクワクチンまたは日本脳炎不活化ワクチンの混合投与によるデング 4価 DNA ワクチンのマウスにおける免疫原性の上昇効果)		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	教授	塩澤 俊一
	副査	教授	宇賀 昭二
	副査	教授	伊藤 光宏
	副査		印
要旨			
<p>デングの患者数は極めて多く（年間推定約1億人）、重要な蚊媒介性ウイルス疾患である。しかし、予防ワクチンがないため、早急の開発が望まれる。本研究は、学位申請者がすでに作製したデング4価DNAワクチン（副論文参照）の免疫原性を高める工夫として、蛋白ワクチンと混合して針無注射器で投与する方法を検討したものである。蛋白ワクチンとしてデングウイルス表面蛋白や市販の日本脳炎ワクチンを用いることにより、デング4価DNAワクチンの免疫原性が相乗的に上昇することを、マウスを用いた実験により証明した。</p> <p>以上、本研究はデング4価DNAワクチンについて、その効果的投与法を研究したものであり、蛋白ワクチンと混合投与することによる免疫原性の相乗的上昇について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。</p> <p>よって、学位申請者の井本淳一氏は、博士（保健学）の学位を得る資格があると認める。</p>			
<p>論文名 : Dengue tetravalent DNA vaccine increases its immunogenicity in mice when mixed with a dengue type 2 subunit vaccine or an inactivated Japanese encephalitis vaccine.</p> <p>掲載誌名 : Vaccine</p> <p>著者名 : Jun-ichi Imoto and Eiji Konishi</p> <p>巻、頁、発行年 : 25、1076-1084、2007</p>			