Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Complement-Dependent Cytotoxicity Assay for Differentiating West Nile Virus from Japanese Encephalitis Virus Infections in Horses

北井，陽子

(Degree)
博士（保健学）
(Date of Degree)
2011-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲5161
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005161

※ 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	北井　陽子
博士の専攻分野の名称	博士（保健学）
学　位　記　番　号	博い第 5161 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 23 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Complement-Dependent Cytotoxicity Assay for Differentiating West Nile Virus from Japanese Encephalitis Virus Infections in Horses（ウマにおけるウエストナイルウイルス感染を日本脳炎ウイルス感染から鑑別する補体依存性細胞傷害を利用した検査法）

審　査　委　員

主　査　　教　授　宇賀　昭二
　　教　授　林　祥剛
　　准教授　小西　英二

（別紙様式３）

論文内容の要旨

専攻領域　国際保健学

専攻分野　感染症対策

氏　　名　北井　陽子

論文題目（外国語の場合は，その和訳を（　）を付して併記すること。）

Complement-Dependent Cytotoxicity Assay for Differentiating West Nile Virus from Japanese Encephalitis Virus Infections in Horses
（ウマにおけるウエストナイルウイルス感染を日本脳炎ウイルス感染から鑑別する補体依存性細胞傷害を利用した検査法）

論文内容の要旨（1,000字～2,000字でまとめること。）

ウエストナイルウイルス（*West Nile virus*, WNV）および日本脳炎ウイルス（*Japanese encephalitis virus*, JEV）は、フラビウイルス属の日本脳炎血清グループに分類される。主として、JEVはアジアに、一方WNVはアジア以外の世界中に分布する。WNVが西半球に侵入後、急速に分布域が拡大したように、WNVが日本を含むアジアへ侵入する可能性がある。ヒトやウマにおけるWNV感染およびJEV感染による臨床症状は類似するため、両ウイルス感染症の鑑別診断には実験室検査が必要である。血清学的検査において、中和試験は最も特異性が高い検査法とされている。しかしながら、日本脳炎血清グループに属するウイルス間の交差反応の影響により、中和試験でさえWNV感染とJEV感染の鑑別診断が困難となる場合がある。

抗体媒介性補体依存性細胞障害（antibody-mediated complement-dependent cytotoxicity, CDC）は、細胞表面上の抗原抗体反応により補体が活性化し、C5b-9の膜侵襲複合体を形成して細胞を傷害する現象である。我々は、以前CDCの原理を抗体測定に応用し、ウマ血清中のJEV非構造蛋白1（nonstructural protein 1, NS1）に対する抗体を特異的に検出した。本研究では、ウマにおけるWNV NS1抗体を検出するCDC法を確立し、CDC法によりWNV感染をJEV感染から鑑別可能であるかを検討した。

CDC法は、(1) WNV NS1抗原を表面に発現した細胞（2G2細胞）の浮遊液を被検血清と混合、(2) ウサギ補体の添加、(3) 発色基質による乳酸脱水素酵素活性の測定、の順に行った。検体中にWNV NS1特異抗体が存在する場合、細胞が溶解し、乳酸脱水素酵素が反応液中に放出されるため、乳酸脱水素酵素活性の測定より細胞溶解率（%）を算出し、WNV NS1抗体量として表した。

WNV感染馬血清が濃度依存的に2G2細胞を溶解したことから、CDC法によりウマ血清中WNV NS1抗体の測定が可能であることが示された。酵素結合免疫測定法においてWNV NS1抗原に対して同等の値を示すWNVおよびJEV感染馬血清をCDC法にて測定すると、WNV感染馬血清がより高い細胞溶解率を示し、CDC法の特異性の高さが示唆された。WNV感染陰性馬血清の測定により求めたWNV NS1抗体陽性を判定するカットオフ値（19.8%）に基づくと、JEV感染馬または非感染馬100検体のうち、偽陽性を示した検体は血清希釈度1:10、1:20、および1:40においてそれぞれ5、1、および0検体であった。一方、WNV感染馬血清では、血清希釈度1:10から1:80において高い（55-76%）細胞溶解率が認められ、CDC法によりWNV感染をJEV感染から鑑別可能であることが示唆された。また、WNV実験感染馬の連続血清の測定では、感染後10日でWNV NS1抗体陽性となった。

以上より、CDC法はウマ血清中WNV NS1抗体の測定が可能であり、WNV感染をJEV感染から鑑別する有用な検査法であることが示唆された。

指導教員氏名：宇賀　昭二

（別紙１）

論文審査の結果の要旨

氏　名	北井　陽子		
論文題目	Complement-Dependent Cytotoxicity Assay for Differentiating West Nile Virus from Japanese Encephalitis Virus Infections in Horses （ウマにおけるウエストナイルウイルス感染を日本脳炎ウイルス感染から鑑別する補体依存性細胞傷害を利用した検査法）		
審査委員	区　分	職　名	氏　名
	主　査	教授	宇賀　昭二
	副　査	教授	林　祥剛
	副　査	准教授	小西　英二
	副　査		印

要　旨

本研究は、1999年にニューヨークに侵入し急速に西半球で流行域を広げた新興感染症であるウエストナイル熱の診断法に関するものである。アジアの多くの地域にはウエストナイルウイルスは存在せず、逆に日本脳炎ウイルスが分布する。症状が類似するため、アジアにウエストナイルウイルスが侵入したときには鑑別するための検査法が必要となる。学位申請者は、抗体媒介性補体依存性細胞障害の原理を利用した抗体測定法を開発し、ウマ血清を用いて鑑別が可能であることを証明した。侵入に備えて、厚生労働省や農林水産省はすでに診断マニュアルを作成しているが、そこで用いられる従来の抗体測定法より特異性の高い方法であり、有用であると考えられる。

この研究結果は、インパクトファクターが2.373であるClinical and Vaccine Immunology誌に掲載された。また、本研究に関連する論文が2本副論文として提出されており、いずれも学位申請者が筆頭著者である。面接試験において質問に正しく答え、また、2名の副査の評価も高いものであった。以上の所見を総合的に判断して、学位申請者は博士（保健学）の学位を得るにふさわしいと考える。

掲載論文名・著者名・掲載（予定）誌名・巻（号），頁，発行（予定）年を記入してください。
Complement-Dependent Cytotoxicity Assay for Differentiating West Nile Virus from Japanese Encephalitis Virus Infections in Horses s・Yoko Kitai, Takashi Kondo, Eiji Konishi・Clinical and Vaccine Immunology・17 (5)・875-878・2010