

加藤郁 学位論文審査要旨

主 査 景 山 誠 二
副主査 梅 北 善 久
同 林 一 彦

主論文

Synthetic peptides of Epstein-Barr virus-major envelope glycoprotein-350/220 do not prevent infection in a rabbit Epstein-Barr virus infection model

(Epstein-Barrウイルスの主要なエンベロープ糖蛋白であるgp-350/220の合成ペプチドは、Epstein-Barrウイルスのウサギ感染を完全には予防できない)

(著者：加藤郁、佐野仁志、長田佳子、杉原弘貢、金井亨輔、桑本聡史、加藤雅子、村上一郎、林一彦)

平成24年 Journal of Vaccines & Vaccination 掲載予定

参考論文

1. In vitro Epstein-Barr virus infection model of rabbit lymphocytes from peripheral blood or spleen

(ウサギの脾臓及び末梢血由来リンパ球を用いたin vitroにおけるEBV感染モデル)

(著者：金井亨輔、加藤郁、佐野仁志、長田佳子、奥野啓介、桑本聡史、檜垣裕美、杉原弘貢、加藤雅子、村上一郎、林一彦)

平成22年 Intervirology 54巻 17頁～24頁

2. Lifelong persistent EBV infection of rabbits with EBER1-positive lymphocyte infiltration and mild sublethal hemophagocytosis

(終生EBV感染を維持したウサギはEBER1陽性リンパ球浸潤と非致死性の血球貪食を呈した)

(著者：金井亨輔、高島一昭、奥野啓介、加藤郁、佐野仁志、桑本聡史、檜垣裕美、長田佳子、杉原弘貢、加藤雅子、村上一郎、林一彦)

平成22年 Virus Research 153巻 172頁～178頁

学 位 論 文 要 旨

Synthetic peptides of Epstein-Barr virus-major envelope glycoprotein-350/220 do not prevent infection in a rabbit Epstein-Barr virus infection model

(Epstein-Barrウイルスの主要なエンベロープ糖蛋白であるgp-350/220の合成ペプチドは、Epstein-Barrウイルスのウサギ感染を完全には予防できない)

ヒト γ ヘルペスウイルス4型であるEpstein-Barr-virus (EBV) は、伝染性単核球症などEBV関連疾患の原因であり、免疫不全や移植後患者の死亡率を下げるには、EBVへのワクチン開発が貢献すると考えられる。EBVエンベロープ糖蛋白であるgp-350/220は、B細胞に発現するCD21と結合し感染が始まることが知られており、この糖蛋白の中和抗体も報告がある。また、ウサギへEBV静脈内投与により感染し、脾腫や血中EBV-DNAの長期検出、EBV抗原への抗体価上昇が解明されている。これらより、ペプチドワクチンとしてCD21の結合部位と予想されるgp-350/220の3つの領域のペプチドを合成混合しウサギに皮下投与、中和抗体が上昇したペプチドワクチン免疫ウサギにEBVの静脈内投与をすることで抗体のEBV感染阻害や低減能力の程度を病理学的に検討し、ワクチンの効力やウサギにおけるEBV感染経路と病態について考察した。

方 法

雄性日本白ウサギ6羽に対し、合成したgp-350/220の3種類のKLH結合ペプチド (Pep-1 ; 16-29 : [IHLTGEDPGFFNVE]、Pep-2 ; 142-161 : [HHAEMQNPVYLIPETVPYIK]、Pep-3 ; 282-301 : [YVFYSGNGPKASGGDYCIQS] ; 各300~400 μ g含有) をアジュバント2 mlと混和し皮下4カ所に投与した。その約2週間後、約5週間後に追加免疫とし抗体価上昇ウサギをワクチン接種群とした。対照群7羽は低濃度のウイルス液による感染能力確認のため、B95-8株EBVウイルス 9.2×10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 copiesを1羽ずつ計4羽に静脈内投与、加えて3羽に感染最少用量 9.2×10^4 copyを投与、ワクチン接種群6羽にも同量のウイルスを投与した。ウイルス投与後は採血、体重、血液一般検査、末梢血のEBV-DNA定量、各種EBV関連抗体(ELISA法)を解析、剖検にて肉眼所見、HE染色及びEBER1-ISH標本にてEBV感染状態を確認した。

結 果

gp-350/220合成ペプチドによる免疫処理をされたワクチン接種群6羽すべてのウサギに

抗体価上昇を認めた。ワクチン接種群6羽において、定量法により血中EBV-DNAを6羽中1羽に検出、組織EBER1-ISHによりEBER1陽性リンパ球浸潤を6羽中5羽に認めた。ワクチン接種群の血中EBV-DNA陽性の1羽(0-19)では、リンパ節に多数のEBER1陽性リンパ球浸潤と軽度の血球貪食を認めた。対照群7羽中、EBV 9.2×10^7 、 9.2×10^6 、 9.2×10^5 copiesのEBVをそれぞれ1羽に、 9.2×10^4 copyのEBVを4羽に感染させたところ、各ウイルス感染群のそれぞれ1羽に、血中EBV-DNAが検出されたが、EBV 9.2×10^4 copy投与群の残り3羽には検出されなかった。しかし、対照群すべて(7/7羽)のリンパ組織でEBER1陽性リンパ球浸潤を認めた。ワクチン接種群と対照群の間にEBV感染率に有意差はないが、1羽(0-19)を除くワクチン接種群で対照群に比してEBER1陽性リンパ球の浸潤の程度が、より軽度ないし、ごく少数または陰性であった。

考 察

EBV 9.2×10^4 copy 静脈内投与の対照群4羽中3羽で、血中EBV-DNAは検出されなかったが、組織EBER1-ISHはすべて陽性であり、このウイルス量が感染可能な投与量であることを確認でき、ウサギへのgp-350/220合成ペプチドワクチンによる十分な抗体価の上昇も確認された。ワクチン接種群6羽にて血中EBV-DNA(-)、組織中EBER1陽性リンパ球(-)は1羽のみであり、残りの1羽は血中EBV-DNA(+) EBER1陽性リンパ球(+)、4羽は血中EBV-DNA(-) EBER1陽性リンパ球(+)であったが、これら4羽のEBER1陽性リンパ球浸潤の程度は対照群より軽微であった。このワクチン検定動物実験結果のとおり、今回のペプチドワクチンは、EBV感染の程度をある程度減弱させるが、完全にEBV初感染を予防することはできなかった。このことより、ウサギEBV感染モデルでもヒトと同様、エンベロープ糖蛋白gp-350/220とB細胞表面抗原CD21との結合以外のEBV感染経路が存在することが示唆された。

結 論

CD21の結合部位と予想されるgp-350/220の3つの領域に対するペプチドワクチンの効果をウサギEBV感染モデルで検定した結果、これらのペプチドワクチンは、ある程度EBV感染の程度を低減させたが、EBVの初感染を完全には予防できなかった。これらより、ウサギEBV感染モデルでは、EBVエンベロープ糖蛋白gp-350/220とB細胞表面抗原CD21との結合による感染経路以外にもEBV感染経路が存在することが示唆された。