

論文審査の結果の要旨

氏名 桂 廣亮

本論文は三章からなる。第一章では蛍光タンパク質を発現するレポーターインフルエンザウイルスの性状解析や、それを用いた宿主応答解析を行っている。このレポーターウイルスは既報のレポーターウイルスを改良したものであり、蛍光強度・発現安定性の面で優れた性能を有していることが示された。また *in vitro*、*in vivo* においてウイルスの増殖能が向上しており、生体内ライブイメージングへの応用も期待できるものであった。さらに、このレポーターウイルスを感染させたマウスの肺よりウイルス感染マクロファージ及び非感染マクロファージを蛍光タンパク質の発現の有無で分離し、それぞれの細胞集団に関して網羅的に遺伝子発現解析を行い、ウイルス感染がマクロファージの機能に与える影響を検討している。解析の結果、ウイルスに感染したマクロファージはI型インターフェロンや数種類のケモカインなどに加え、細胞外マトリックスなど損傷に対する治癒に関与する遺伝子群の発現も上昇していることが明らかになり、感染局所におけるマクロファージの新たな機能明らかにした。

第二章では、インフルエンザウイルスを人工合成するリバーシジェネティクス法を用いて人為的に変異を導入し、増殖できないようにしたインフルエンザウイルスを用いてワクチンへの応用を試みた。インフルエンザウイルスの感染成立に必須であるヘマグルチニン (HA) の開裂に重要なアミノ酸を置換した非開裂型 HA を持つウイルスは、感染細胞でウイルスタンパク質を発現するが、感染が周辺細胞に広がることはない。この非開裂型 HA ウイルスをマウスに経鼻投与すると、呼吸器粘膜において効率よく抗原特異的抗体や細胞傷害性 T 細胞が誘導されることが明らかにした。また、複数回投与することにより致死量のウイルス感染に対して完全に防御効果を発揮することが示された。なお、本論文第二章は、岩附 (堀本) 研子、福山聡、渡邊真治、坂部沙織、八田寧子、村上晋、下島昌幸、堀本泰介、河岡義裕との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

第三章では、第二章で得られた知見を応用した二価ワクチンの開発を行っていた。ワクチンの対象としては、インフルエンザと同じく呼吸器感染症を引き起こす原因病原体である肺炎球菌を使用した。インフルエンザウイルスの分節化されたゲノムの効率的な粒子内取り込みに重要な塩基配列を肺炎球菌の抗原遺伝子の両端に付加し、HA の代わりに肺炎球菌タンパク質を発現する非増殖型組み換えウイルスをワクチンとして用いていた。感染細胞にてウイルスタンパク質及び肺炎球菌タンパク質が発現することを確認した後、マウスを用いてワクチンとしての性状解析を行った。その結果、このウイルスで免疫したマウスは、インフルエンザウイルスのみならず、致死的な肺炎球菌感染症からも防御されることが明らかとなった。また、鼻腔内における肺炎球菌の定着も予防することが示されている。肺炎球菌によって引き起こされる病気は、鼻腔内の菌の定着から始まる。従って、その予防はワクチンとして非常に重要な性質である。

これらの研究は、所属研究室で開発されたリバーシジェネティクス法やインフルエン

ザウイルスゲノムパッケージング技術を駆使して行われたものである。どの実験もよくデザインされており、結論を支持するのに十分な結果が得られている。したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1443 字