

バイオテロ対策のための備蓄されている細胞培養痘そうワクチンの備蓄等, バイオテロ病原体への検査対応, 公衆衛生との関連のあり方に関する研究

分担報告書

細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究

所属 国立感染症研究所・感染病理部・室長
研究分担者 永田 典代

研究要旨: 新興感染症に対する新規ワクチンとして LC16m8 組換えワクチンの有効性と安全性の評価が必要とされている。今年度は、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)に対するワクチン開発で作出された SFTS ウイルスと LC16m8 の組換えウイルスを皮下免疫後、攻撃接種を行った I 型インターフェロン α レセプター欠損マウスのリンパ系組織について病理学的解析を行った。SFTS ウイルスの GP タンパクおよび GP+N タンパクを発現する組換えワクチン免疫群では、その免疫効果が認められた。一方、非免疫群および N 免疫群で認められた組織病変はいずれも SFTS ウイルス抗原の局在と一致しており、ポックスウイルスに関連すると示唆される結節性壊死性病変は観察されなかった。今後はこの組換えウイルスに特有な副反応の可能性についてさらに検討する必要がある。

研究協力者

氏名・所属研究機関名・職名

岩田奈織子・国立感染症研究所・感染病理部・主任
研究官

吉河智城・国立感染症研究所・ウイルス第一部・主任
研究官

A. 研究目的

痘瘡ワクチンの安全性・有効性における病理学的理解は、依然、不十分である。また、天然痘のワクチン株の一つである、LC16m8 を動物由来のオルソポックスウイルス感染症対策に応用できると考えられているが、その有効性、安全性の評価が必要とされている。一方で、新興感染症に対する新規ワクチンとして LC16m8 組換えワクチンの開発を行っており、その有効性と安全性の評価も必要とされている。今年度は、LC16m8 組換えウイルスを利用した新規ワクチンを免疫後、感染実験に供した動物の組織標本の病理学的解析結果について報告する。

B. 研究方法

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)に対するワクチン開発で作出された Dabie bandavirus (SFTS ウイルス)と LC16m8 の組換えウイルスを皮下免疫後、SFTS ウイルスを致死量皮下接種された I 型インターフェロン α レセプター欠損(IFNAR $^{-/-}$)マウスのリンパ

系組織について病理組織学的に検索を行った (Yoshikawa T et al., 2021)。

なお、具体的には、組換えワクチンは SFTS ウイルスのヌクレオカプシドタンパク(N)あるいは糖タンパク(GP)の遺伝子をそれぞれあるいは両方の遺伝子を LC16m8 の B5R 遺伝子部分に組換えたものを用いた。非免疫群には EGFP 遺伝子を組換えたものを用いた。1 \times 10⁶ PFU の LC16m8 組換えウイルスをそれぞれ 2 週間隔二回免疫した IFNAR $^{-/-}$ マウスに 1 \times 10⁵ TCID₅₀ 量の SFTS ウイルス YG-1 株を皮下接種し、1, 3, 5 日目の個体(一群 3 匹)の脾、頸部リンパ節を用いて常法どおりホルマリン固定パラフィン包埋組織標本作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色、免疫組織化学法によるウイルス抗原の検出を行い、病理組織学的解析を行った。

【倫理面への配慮】

当該分担研究者においては、動物実験等の実施は担当しておらず、ホルマリン固定組織標本を分与後、研究を実施した。ただし、本動物実験の実施にあたっては“厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針”および機関内規程を遵守した。遺伝子組換え実験に関しては、“遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性確保に関する法律”を遵守し、国立感染症研究所の指針に則って実施した。本実験は、大臣確認実

験が含まれるため、文部科学大臣による拡散防止措置の確認後に実施した。感染実験は、「国立感染症研究所・病原体等安全管理規定」に従いバイオセーフティレベルを遵守し取り扱った。

C. 研究結果

非免疫群において接種3あるいは5日目の脾臓、頸部リンパ節に SFTS ウイルス特異的な壊死性病変が認められた。免疫群では、N 単独免疫群で感染に伴う壊死病変が認められたが、GP 単独および GP+NP 免疫群ではいずれも SFTS ウイルス感染に伴う病変は観察されなかった。これらの所見は SFTS ウイルス抗原あるいはウイルス RNA 遺伝子の検出結果と関連した。

D. 考察

今年度は、LC16m8 組換えウイルスを利用した新規の SFTS ウイルスワクチンを免疫後、感染実験に供した動物について病理学的解析を行った。いずれの組織病変も SFTS ウイルス抗原の局在と一致しており、ポックスウイルスに関連する明らかな組織病変（結節性壊死性病変やマクロファージの活性化など）は観察されなかった。この組換えウイルスに特有な副反応の可能性について、LC16m8 由来抗原の検出を試みて確認する必要がある。

E. 結論

LC16m8 組換えウイルスを利用した新規ワクチンを免疫後、感染実験に供した動物においてポックスウイルスの感染に関連する組織病変は観察されなかった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshikawa T, Taniguchi S, Kato H, Iwata-Yoshikawa N, Tani H, Kurosu T, Fujii, H, Omura N, Shibamura M, Watanabe S, Egawa K, Inagaki T, Sugimoto S, Phanthanawiboon S, Harada S, Yamada S, Fukushi S, Morikawa S, Nagata N, Shimojima M, Saijo M. A highly attenuated vaccinia virus strain LC16m8-based vaccine for severe fever with thrombocytopenia syndrome. PLoS Pathog. 2021 Feb 3;17(2):e1008859. doi: 10.1371/journal.ppat.1008859.

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

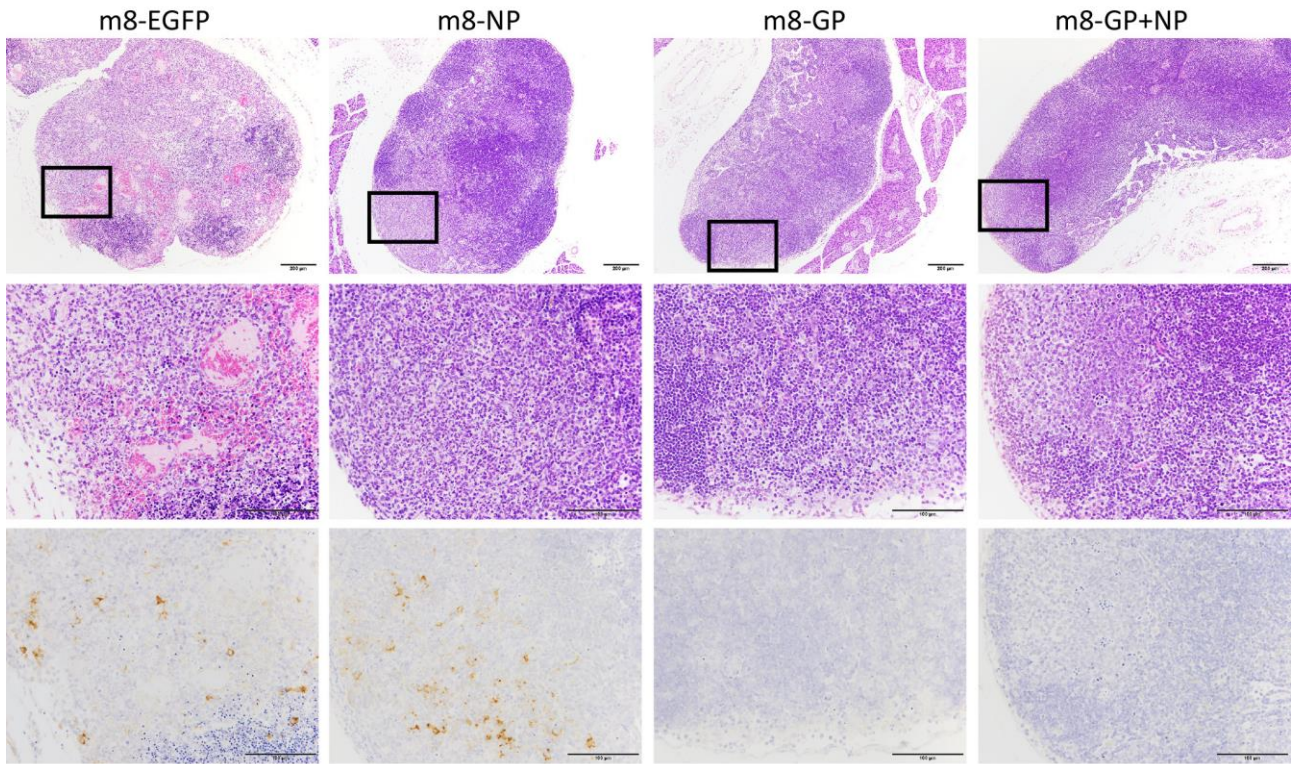


図 SFTS ウイルス接種 5 日目のリンパ節. 各群の代表的な組織像を示した. 上段 ヘマトキシリン・エオジン染色, 低倍, バーは 200 μm . 中段 ヘマトキシリン・エオジン染色, 上段図の□部拡大図. バーは 100 μm . 下段 免疫組織化学法によるウイルス抗原の検出(茶色). 核染色はヘマトキシリン. 中段図の連続切片.