

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	松本 萌
題 目	Interleukin-12 を指標とした魚類の細胞内寄生細菌感染症に対する細胞性免疫誘導型ワクチンの開発 (Development of the vaccine for inducing cell-mediated immunity by using interleukin-12 against intracellular bacterial infection of fish)
<p>日本の代表的な海産魚であるブリ類（ブリ、カンパチおよびヒラマサ）は、国内生産量の約 7 割を養殖によって生産されており、鹿児島県はそのうち約 3 割を担っている。一方で、魚病被害による経済的損失は年間 5 億円にのぼり、生産額の約 3 割に達する。近年、ブリ類で最も被害が報告されている細胞内寄生細菌感染症（ノカルジア症、ミコバクテリウム症）は、発症すると薬剤による完治が難しく、さらに従来の水産用ワクチンも効果を示さない。そのため新規ワクチンによる未然の防除が強く求められる。細胞内寄生細菌に対する感染防御には、感染した細胞を直接破壊する「細胞性免疫」の誘導が重要である。そこで本研究では、ほ乳類の細胞性免疫誘導に必須のサイトカインである Interleukin-12 (IL-12) に着目し、ブリ類の細胞内寄生細菌感染症に対する新規ワクチンの開発を試みた。</p> <p>IL-12 は 35kDa 分子(IL-12p35)と 40kDa 分子(IL-12p40) のヘテロ二量体である、IL-12p70 として機能する。一方ブリ類では 35kDa 分子が 2 種類 (p35a および p35b)、40kDa 分子が 3 種類 (p40a, p40b および p40c) が存在していることが明らかになった。さらにそれらの組み合わせである 6 種類の IL-12p70 組換え体はすべて、細胞性免疫誘導に関与していることが分かった。そこでこの組換え体のカクテルをアジュバントとして従来ワクチンに添加し、ノカルジア症に対して効果を示すか検討したところ、従来ワクチンでは生残率が 0% であったのに対し、IL-12 組換え体を添加するだけで生残率は 88% にまで上昇した。しかし組換え体の実用化は技術面や費用面から困難であることが予想されたため、カンパチにおける内在性 IL-12 の産生機構を明らかにし、これを魚体内で産生させる方法を検討した。これまでの研究から、ノカルジアの生菌は IL-12 を産生する一方で、死菌は産生できないことが明らかとなっていたため、「なぜ死菌は IL-12 を産生できないか」に着目し研究を行った。その結果、ブリ類における IL-12 産生には 1) <i>IL-12p35a</i> の発現が重要であること、2) その発現には抗原の貪食が必要であること、さらに 3) 貪食後の菌体の状態（特に細胞壁や最外週部の脂質層の有無）がその発現に関与していること、が明らかになった。そこで、菌体の細胞壁に存在する脂質層を単離し、従来ワクチンにアジュバントとして添加することでそのワクチン効果を検討した。ノカルジアを用いた攻撃試験の結果、54% の生残率を示し、技術面や費用面から考えると現時点で一番実用可能なワクチンであると考えられた。</p> <p>しかしながら、今回のワクチンでは細胞内寄生細菌感染症の再燃を防ぐことはできなかったことから、今後は感染初期だけではなく再燃（後期ステージ）に対しても対応可能なマルチステージ対応型ワクチンの開発が求められる。</p>	