

学位論文要旨	
氏名	山崎 雅俊
題目	ギンブナの <i>Edwardsiella tarda</i> に対する感染防御機構に関する研究 (Analysis on protective immune responses against <i>Edwardsiella tarda</i> infection in ginbuna crucian carp, <i>Carassius auratus langsdorfii</i> )
<p>エドワジエラ症の原因細菌である <i>Edwardsiella tarda</i> は細胞内寄生細菌として知られている。哺乳類の細胞内寄生細菌に対する感染防御においては <math>CD4^+</math> ヘルパーT 細胞が産生する <math>IFN-\gamma</math> によって活性化されたマクロファージや <math>CD8^+</math> 細胞障害性 T 細胞 (CTLs) が主役となる細胞性免疫が主要な役割を果たす。しかし、魚類の細胞内寄生細菌に対する感染防御における主要な免疫機構は明らかではない。本研究では細胞内寄生細菌である <i>E. tarda</i> 感染に対する主要な免疫機構を明らかにした。</p> <p><i>E. tarda</i> 感染に対する獲得免疫応答を調べるため、<i>E. tarda</i> を人為感染させたギンブナにおける免疫関連遺伝子の発現解析や細胞組成、血中特異抗体価、<i>E. tarda</i> 感染細胞に対する細胞障害活性を継続的に調べた。組織内 <i>E. tarda</i> の排除は細胞性免疫関連遺伝子や <math>CD4^+</math> および <math>CD8\alpha^+</math> リンパ球の増加、そして CTLs の細胞障害活性が上昇した後、観察された。このことから組織内 <i>E. tarda</i> の排除に細胞性免疫が関与していることが示唆された。一方、特異抗体価や B 細胞は組織内菌数が検出限界以下となつてから誘導されたことから、液性免疫は <i>E. tarda</i> に対する感染防御において主要な免疫系ではないことが考えられた。</p> <p>次に細胞性免疫の <i>E. tarda</i> に対する感染防御における貢献度を明らかにするため養子移入試験を行うとともに攻撃試験後 2 日目の免疫関連遺伝子の発現解析を行った。<i>E. tarda</i> によって感作を受けた <math>CD4^+</math> および <math>CD8\alpha^+</math> 細胞移入区は攻撃試験後にすべて生残した。また感作 <math>CD4^+</math> 細胞移入区では T-bet や perforin 遺伝子の高い発現が見られ、感作 <math>CD8\alpha^+</math> 細胞移入区では <math>IFN-\gamma</math> や perforin 遺伝子の高い発現がそれぞれ見られた。このことから 1 型ヘルパーT 細胞や CTLs が主役となる細胞性免疫が <i>E. tarda</i> の排除に直接的に関わることを示された。</p> <p>最後に <i>E. tarda</i> に対する弱毒生ワクチンとホルマリン不活化ワクチンの有効性を調べた。<i>E. tarda</i> 強毒株を用いた攻撃試験の結果、生ワクチン接種魚はすべて生残したのに対し、FKC ワクチン接種区ではすべての個体が死亡した。そこで各ワクチンの有効性が異なる要因を明らかにするため、ワクチン接種魚における獲得免疫応答を比較した。その結果、弱毒生ワクチン接種魚では細胞性免疫が強く誘導されていたのに対し、ホルマリン不活化ワクチン接種魚においては液性免疫が誘導されており、また細胞性免疫の誘導が対照区と比較して抑制されていた。このことから <i>E. tarda</i> に対する感染防御において細胞性免疫を強く誘導する弱毒生ワクチンの有効性が明らかになった。さらにホルマリン不活化ワクチンは液性免疫を誘導することによって細胞性免疫を抑制し、感染を拡大させていることが示唆された。本研究成果は魚類の細胞内寄生細菌感染症に対する細胞性免疫指向性ワクチンの開発に貢献するのみならず、魚類の免疫機構の解明に大きく貢献すると考えられる。</p>	