



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Development of a marker vaccine against classical swine fever [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Huynh, Tan Loc
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第16164号
Issue Date	2024-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/93831
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Loc_Tan_Huynh_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：ヒュー ロック タン

審査委員	主査	教授	荻和	宏明
	副査	特任教授	大橋	和彦
	副査	教授	迫田	義博
	副査	准教授	磯田	典和

学位論文題名

Development of a marker vaccine against classical swine fever (豚熱に対するマーカーワクチンの開発)

豚熱はフラビウイルス科ペスチウイルス属の豚熱ウイルスを原因とするブタとイノシシの急性熱性の感染症である。国内では 2018 年に 26 年ぶりに岐阜県において発生が確認されて以降、飼養豚または野生イノシシにおける感染が拡大し、現在は北海道を除く各地で感染が確認されている。本感染症の予防には 1969 年に国内で実用化された弱毒生ワクチンが飼養豚に使用されており、野生イノシシに由来する野外ウイルスへの感染予防に高い効果を示している。一方、現行の豚熱ワクチンは、ワクチン接種により産生された抗体と野外ウイルスの感染により産生された抗体を識別することができない。そのため、ワクチン接種農場では臨床的に異常がない豚群において、野外ウイルスの感染がないことを証明することができない。そこで、本研究では豚熱のワクチンによる抗体と野外ウイルスの感染による抗体を識別する技術を確認することを目的として、豚熱のマーカーワクチンの候補となるウイルス株の作出、マーカーワクチン候補株のブタにおける有効性、マーカーワクチン候補株により誘導される抗体と野外ウイルスの感染による抗体の識別、さらにマーカーワクチン候補株の安全性を確認する研究を企図した。

第 1 章では、国内で使用されている豚熱弱毒生ワクチン株である GPE⁻株のリバーシジェネティクス系を利用して、表面糖蛋白質の一つである E^{rns} をコードする遺伝子領域を同じペスチウイルス属のアンテロープペスチウイルスまたはネズミイルカペスチウイルスのそれと相同組換えしたウイルス、vGPE⁻/PAPeV E^{rns} と vGPE⁻/PhoPeV E^{rns} をそれぞれ作出した。作出したこれらのウイルスを培養細胞に接種したところ、ウイルスは高い増殖性を示した。また、これらのウイルスをブタに筋肉内接種して 1 週間後に強毒株 vALD/A76 で攻撃し、臨床症状とウイルスの排泄を 2 週間確認した。その結果、2 つのマーカーワクチン候補株を接種したブタにおい

て、強毒株の攻撃に対して臨床症状とウイルス排泄の抑制を確認した。またその効果は従来のワクチン株である GPE⁻株を接種したブタのそれと同等であった。

第2章では、豚熱ウイルスの糖蛋白質である E^{rns} と E2 に対する組換え蛋白質を発現し、これを精製した蛋白質を用いた抗体検出用イムノクロマトキットを開発した。作出したイムノクロマトキットは E^{rns} および E2 蛋白質に対する抗体を検出する市販の酵素結合免疫測定法と同等の感度と特異性を有することがわかった。さらに第1章の動物実験で採取したブタの血清を用いて E^{rns} および E2 蛋白質に対する抗体を検出したところ、vGPE⁻/PAPeV E^{rns} と vGPE⁻/PhoPeV E^{rns} を免疫したブタからは E2 蛋白質に対する抗体のみが検出された。一方、従来のワクチン株である GPE⁻株を接種したブタおよびワクチンを接種せず強毒株である vALD/A76 を接種したブタの血清からは E^{rns} と E2 の両方の蛋白質に対する抗体が検出された。以上より、作出した抗体検出用イムノクロマトキットにより、マーカーワクチン候補株の接種により誘導される抗体と従来型ワクチンまたは野外ウイルスの感染により誘導される抗体を識別することができた。

第3章では、第1章で作出したマーカーワクチン候補株のブタに対する安全性を確認する試験を実施した。ブタにマーカーワクチン候補株をそれぞれ接種後、接種7日目までに回収されたウイルスを直接別のブタに接種する試験を最大5回繰り返した。その結果、vGPE⁻/PAPeV E^{rns} はブタに2代、また vGPE⁻/PhoPeV E^{rns} はブタに4代継代した時点で、接種したウイルスがブタから回収されなくなった。以上の結果から、マーカーワクチン候補株はブタに対する病原性が復帰する可能性が低く、ワクチン株として安全性が高いことが証明された。

以上の結果から、作出されたマーカーワクチン候補株の有効性と安全性が確認された。ワクチンの実用化には有効性と安全性に関する更なるデータの蓄積が必要であるが、豚熱のマーカーワクチン開発の基盤を確立した本研究の成果は、日本における豚熱の清浄化に大きく貢献することが期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 ヒュー ロック タン 氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第10条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。