

鳥インフルエンザ万能ワクチン開発を目指した ペプチド免疫法の確立

九州大学大学院医学研究院・助教 藤本 佳万

■ 目的

多数の亜型ウイルスが同時に常在する地域での鳥インフルエンザ制圧方法を考える際、ウイルス表面糖蛋白質 HA(18 種類)および NA(11 種類)の様々な抗原亜型の組合せが常に問題となる。本研究では、亜型に関わらないウイルス感染防御法の確立を目的として、抗 NP モノクローナル抗体(mAb)を誘導するペプチドワクチン開発に向けた基礎研究を実施した。

■ 方法

本研究には、以前作製した H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)回復患者由来抗 NP mAb 発現トランスジェニックマウスを用いた。トランスジェニックマウス血清中に発現する抗 NP mAb 発現量は、抗ヒト IgG 抗体を使用したサンドイッチ ELISA により測定した。抗 NP mAb が認識する抗原決定基を決定するため、様々な長さもしくはアラニン置換 NP 変異体蛋白質発現プラスミドを導入した培養細胞を用いて、蛍光抗体法およびその溶解液を用いた免疫沈降法を実施した。

■ 結果および考察

トランスジェニック 2647 系統および 2660 系統マウスは、HPAI ウイルス感染後 90%以上のマウスが生存する一方、2495 系統および 2497 系統マウスの生存率は 20%以下であることを以前の研究にて明らかにしている。マウス血清中に発現する抗 NP 抗体量を ELISA にて測定した結果、高い感染抵抗性を示した 2647 系統および 2660 系統マウス血清中抗 NP 抗体濃度は、それぞれ平均 1.6mg/mL および 1.2mg/mL であった。一方、感染抵抗性を示さなかった 2495 系統および 2497 系統マウス血清中にはそれぞれ平均 0.2mg/mL および 0.4mg/mL の抗体が発現していた。これらの結果、感染防御効果を示すために必要な抗 NP 抗体血清中濃度は、約 1mg/mL 程度であることが示唆された。

抗 NP mAb のエピトープ領域を明らかにするため、完全長 NP(アミノ酸 1-498 位)もしくは C 末端欠損 NP(アミノ酸 1-350 位、1-340 位、1-330 位、1-320 位、1-310 位および 1-300 位)を発現した HEK-293T 細胞溶解液を回収し、トランスジェニックマウス血清を用いた免疫沈降およびウエスタンブロッティング解析を行った。その結果、抗 NP mAb は、完全長 NP(1-498)および 1-350 位、1-340 位、1-330 位および 1-320 位欠損 NP と共沈した一方、1-310 位および 1-300 位欠損 NP とは共沈しなかった。さらに、蛍光抗体法により、本抗体は 306-310 位および 316-320 位をアラニン置換した変異 NP に特異的結合する一方、311-315 位をアラニン置換した変異 NP とは結合しないことが確認された。以上の結果から、本抗 NP mAb のエピトープは NP 分子の 311-315 位のアミノ酸であることが明らかとなった。

■ 結語

本研究により、①様々な亜型インフルエンザウイルスに対して感染防御効果を示す抗 NP mAb のエピトープが NP 分子の 311-315 位のアミノ酸である事、②本抗体が感染防御効果を示すために必要な血清中抗体濃度が 1mg/mL 程度であることを明らかにした。本研究成果は、ペプチドによる効率的な Universal Influenza Vaccine の開発に重要な情報になると考えられる。