

平成28年10月22日

第20回日本ワクチン学会学術集会第5回高橋奨励賞受賞記念講演

粘膜ワクチンで誘導される分泌型 IgA抗体の多量体構造と機能の解析

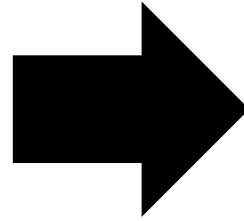
鈴木 忠樹

国立感染症研究所 感染病理部



経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの開発

皮下接種
インフルエンザHAワクチン



経鼻不活化全粒子
インフルエンザワクチン

研究代表者：長谷川 秀樹 先生

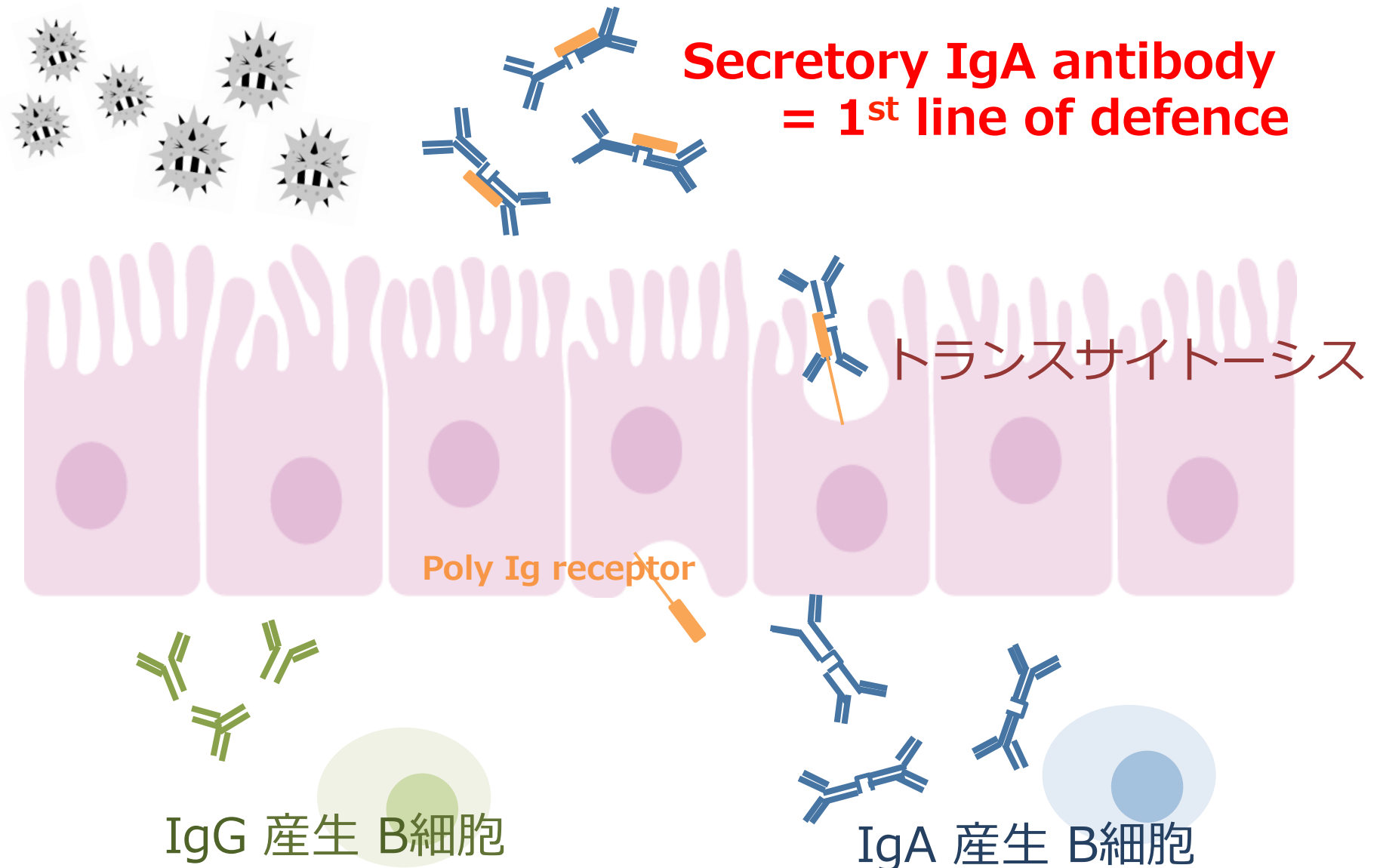
➤ 開発において解決しなければならない問題

皮下接種ワクチンと機序が異なる**免疫応答の質と量**、さらにインフルエンザ**予防効果との関係性**を明らかにする必要がある。

➤ 解決するための基礎研究

経鼻ワクチン接種により**ヒト**で誘導される免疫応答を解析し、インフルエンザ予防に**関与する免疫の質と量**を明らかにする。

呼吸器粘膜でのインフルエンザウイルス感染防御

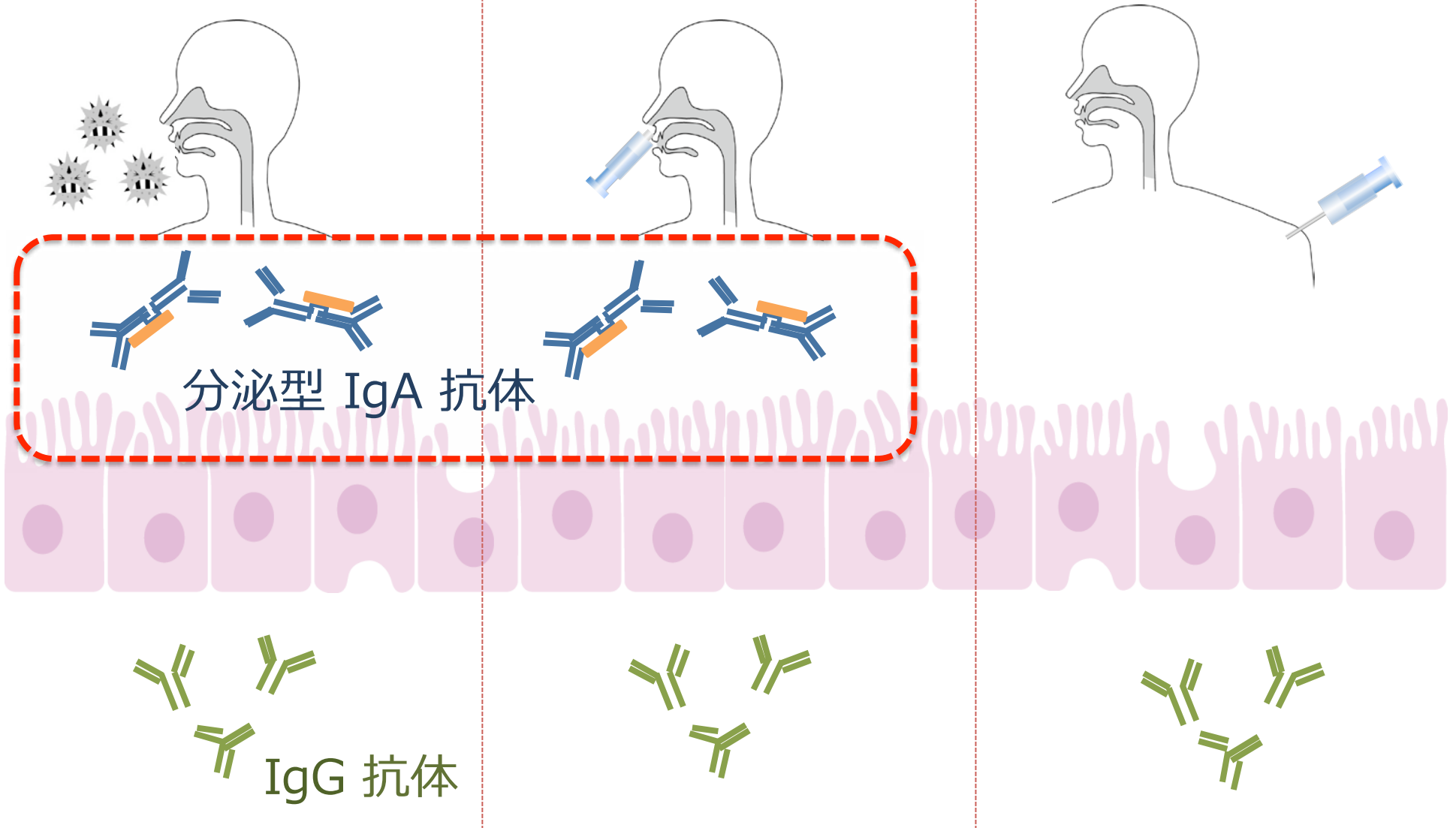


免疫応答機序の違いによる経鼻ワクチンの優位性

自然感染

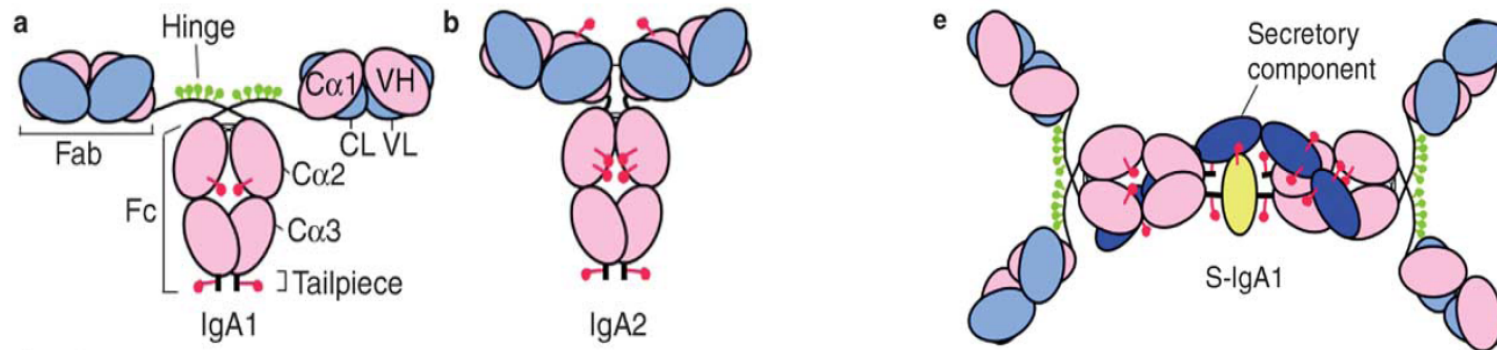
経鼻ワクチン

注射型ワクチン



ヒトIgA抗体、分泌型IgA抗体の種類と構造

- HCの種類でIgA1とIgA2が存在
- 血清中IgA抗体は単量体
- 粘膜上にはSCと結合した分泌型抗体が存在
- 分泌型は二量体が主体



- 粘膜上には、二量体より大きい多量体も存在
1970年代の仕事。
ヒト呼吸器粘膜にあるのか？ 生理的意義？ どんな形？

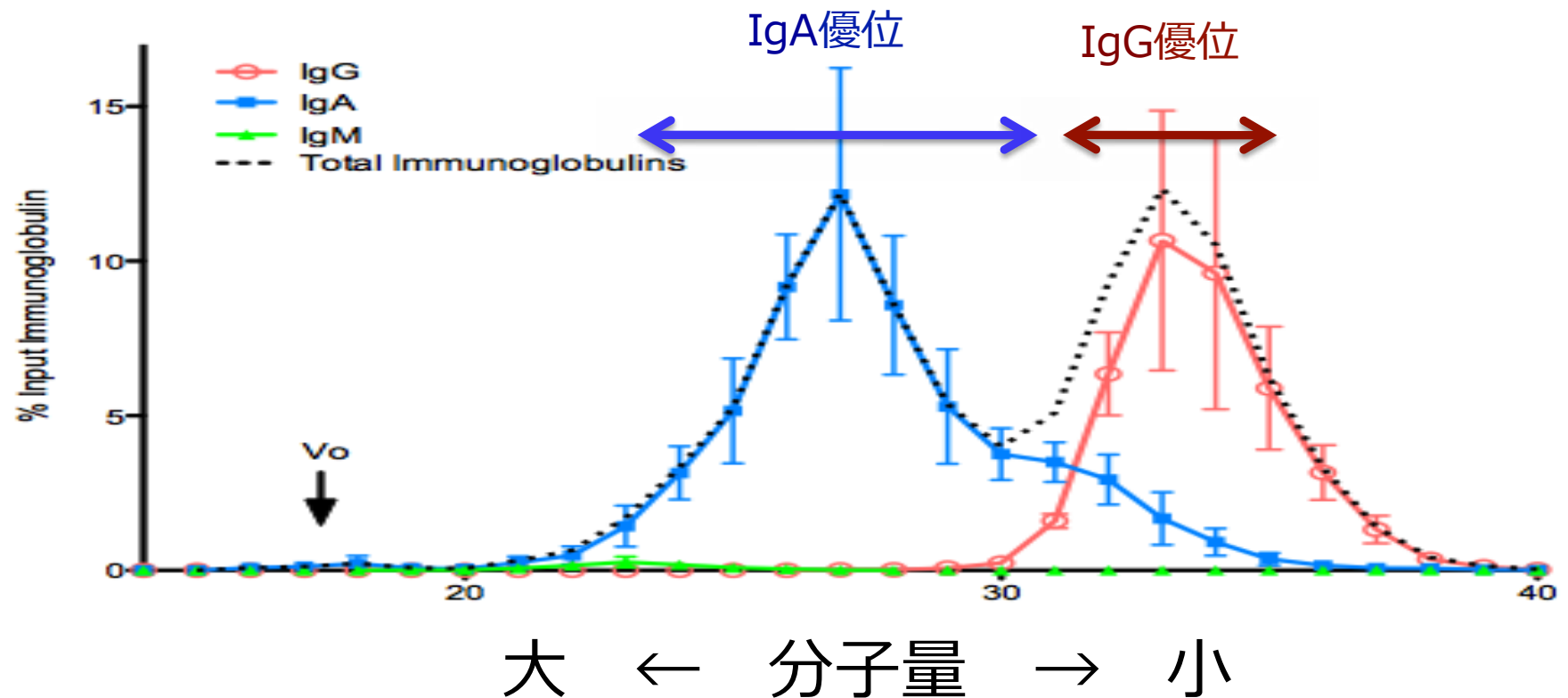
目的 . 経鼻ワクチンによりヒト呼吸器粘膜に誘導された多量体
・ IgAの性状とウイルス感染防御における意義の解明

研究の材料と方法

ワクチン： 経鼻不活化全粒子ワクチン
(H3N2 / H5N1)

被験者： 健康成人 (5～6名)

サンプル： 鼻腔洗浄液 (NW) 1 L → 1 mLへ濃縮 → ゲル濾過

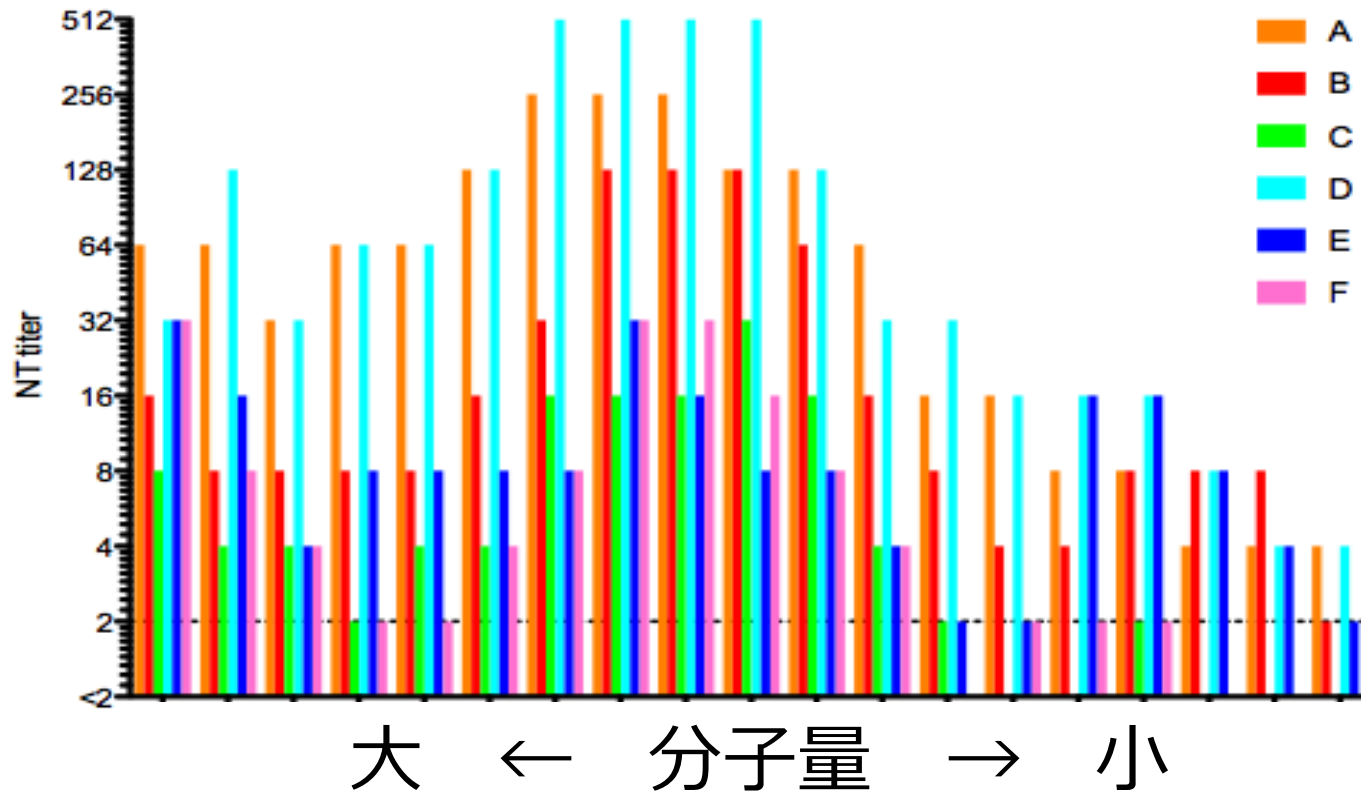


H5N1経鼻ワクチンにより誘導される 鼻腔粘膜抗体の中和能比較

ワクチン： 経鼻不活化全粒子ワクチン
A/Indonesia/05/2005
PR8-IBCDC-RG2 (H5N1)

被験者： 健康成人 (6名)
サンプル： 鼻腔洗浄液 (NW)

A/Indonesia/05/2005(H5N1) Clade 2.1



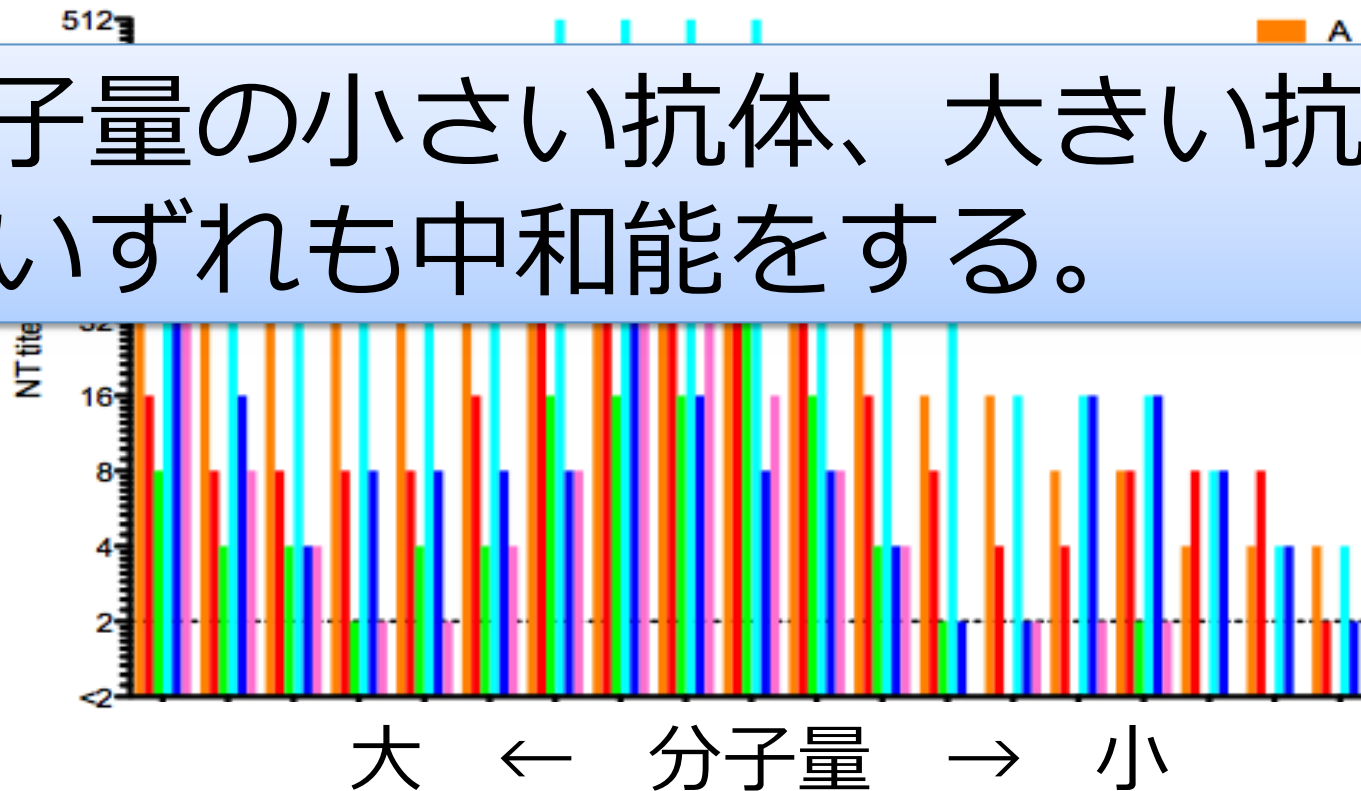
H5N1経鼻ワクチンにより誘導される 鼻腔粘膜抗体の中和能比較

ワクチン： 経鼻不活化全粒子ワクチン
A/Indonesia/05/2005
PR8-IBCDC-RG2 (H5N1)

被験者： 健康成人 (6名)
サンプル： 鼻腔洗浄液 (NW)

A/Indonesia/05/2005(H5N1) Clade 2.1

➤ 分子量の小さい抗体、大きい抗体
のいずれも中和能をする。



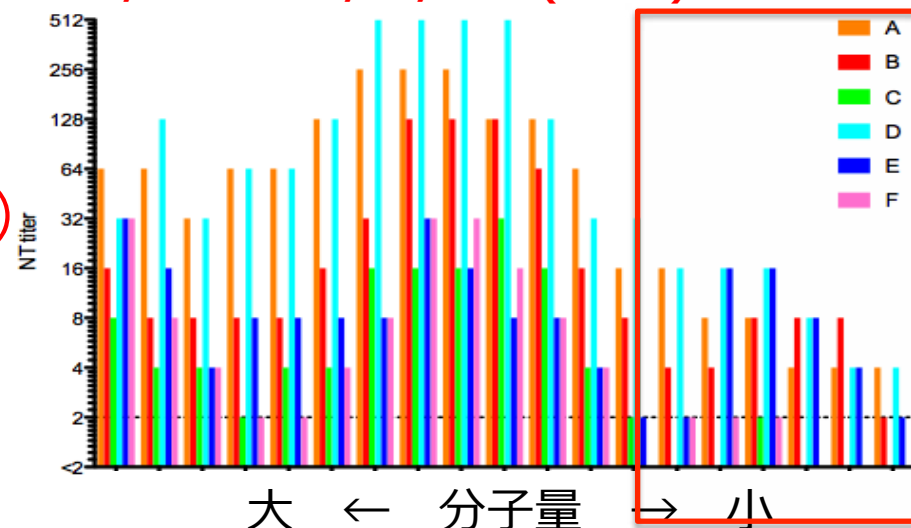
H5N1経鼻ワクチンにより誘導される 鼻腔粘膜抗体の中和能比較

ワクチン： 経鼻不活化全粒子ワクチン
A/Indonesia/05/2005
PR8-IBCDC-RG2 (H5N1)

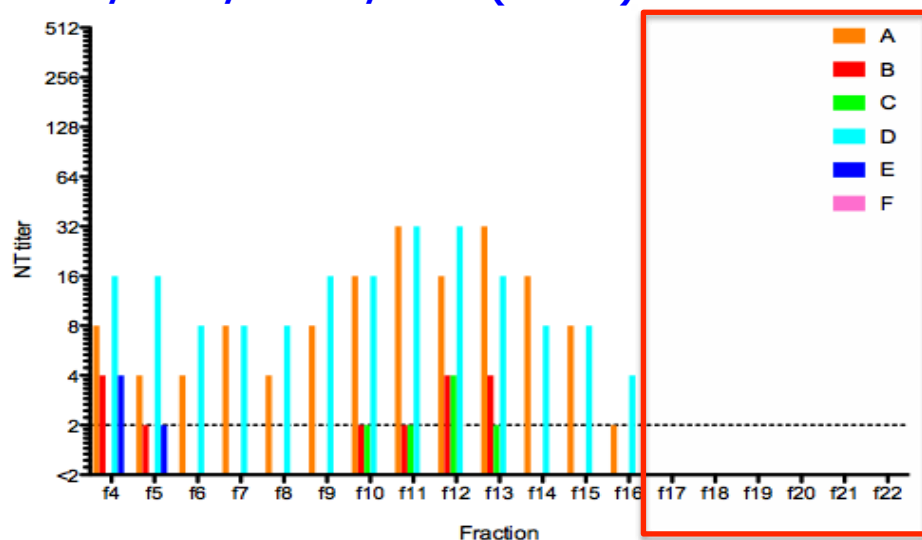
被験者： 健康成人 (6名)

サンプル： 鼻腔洗浄液 (NW)

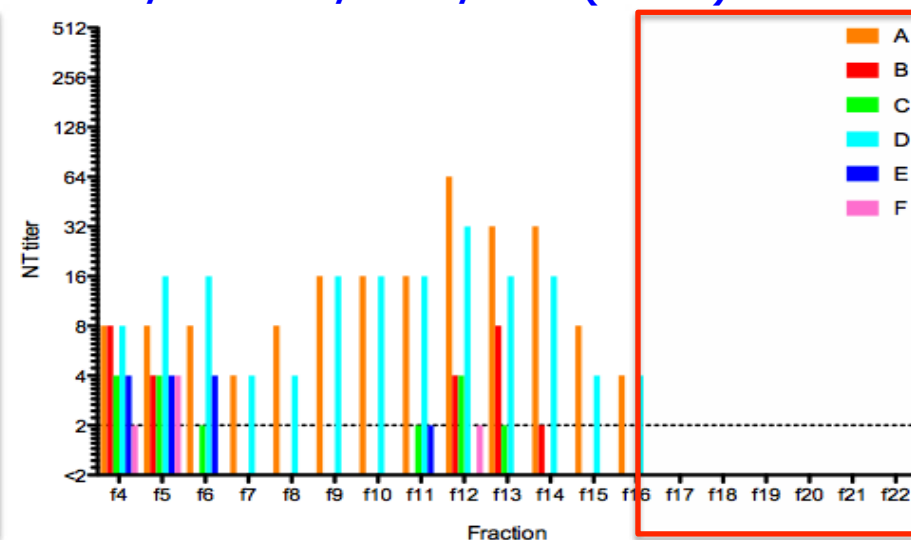
A/Indonesia/05/2005(H5N1) Clade 2.1



A/Laos/JP127/2007(H5N1) Clade 2.3.4



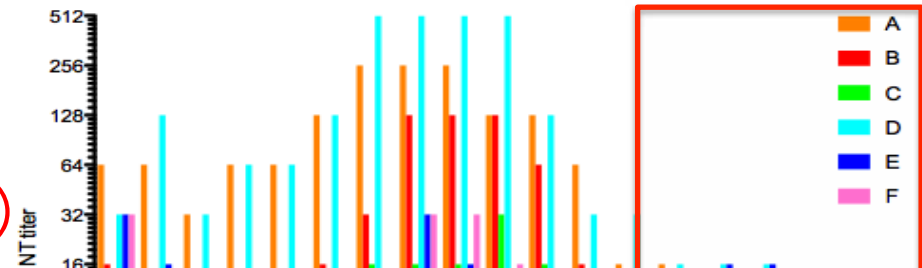
A/Vietnam/1194/2004(H5N1) Clade 1



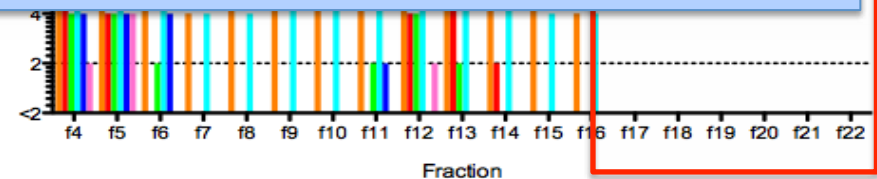
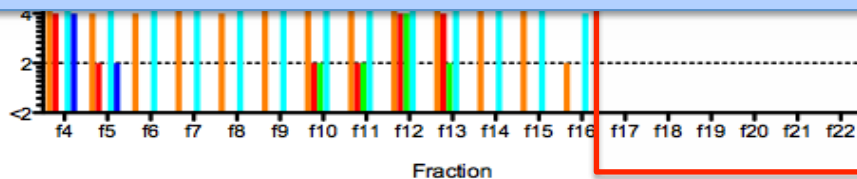
H5N1経鼻ワクチンにより誘導される 鼻腔粘膜抗体の中和能比較

ワクチン： 経鼻不活化全粒子ワクチン
A/Indonesia/05/2005
PR8-IBCDC-RG2 (H5N1)

A/Indonesia/05/2005(H5N1) Clade 2.1

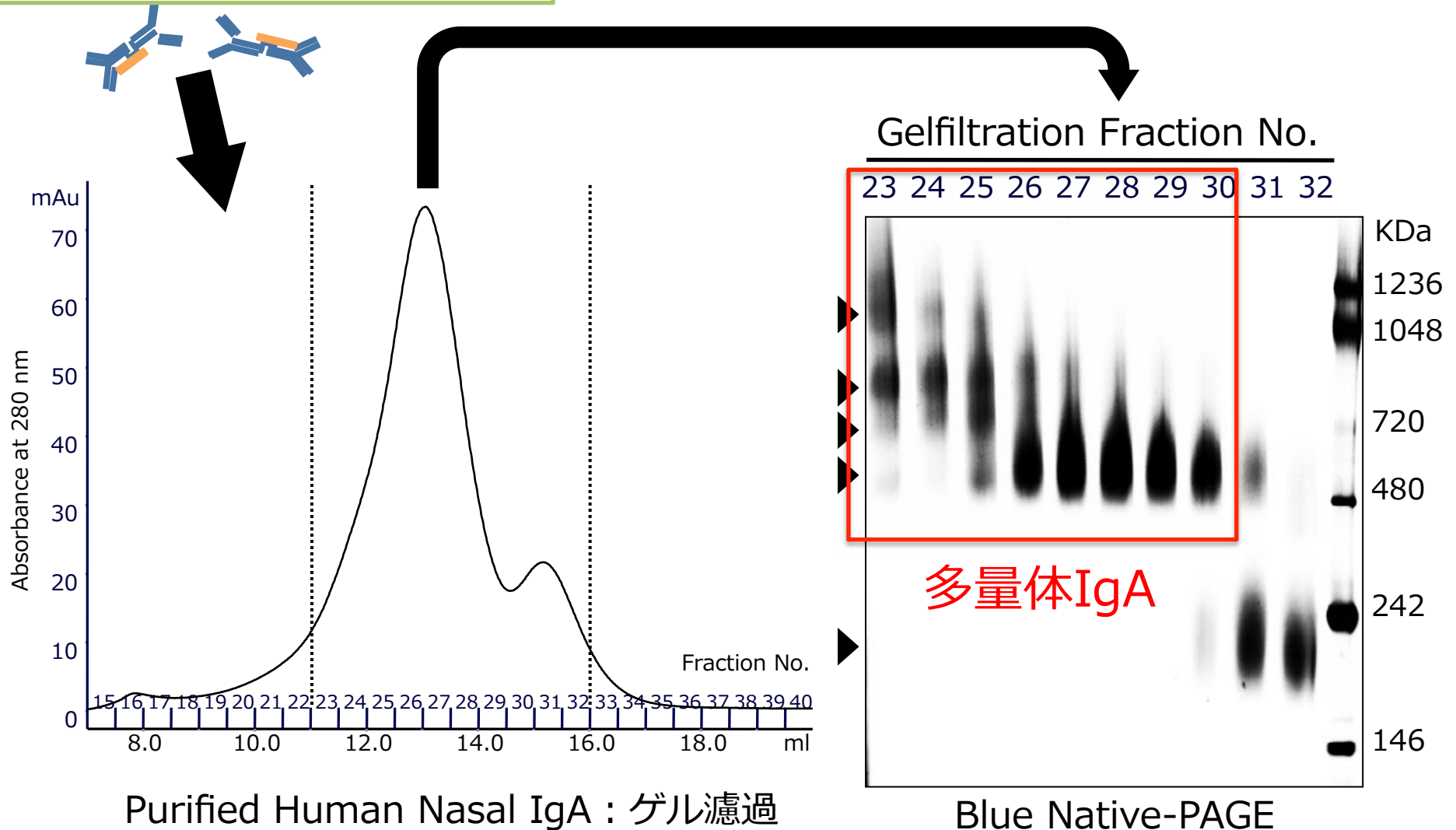


➤ ワクチン株に対しては、分子量が小さい抗体と大きい抗体のいずれも中和能を有するが、非ワクチン株に対しては、分子量の大きい抗体 (= IgA) のみが中和能を有する。



ヒト鼻腔粘膜IgAの分子サイズ分布

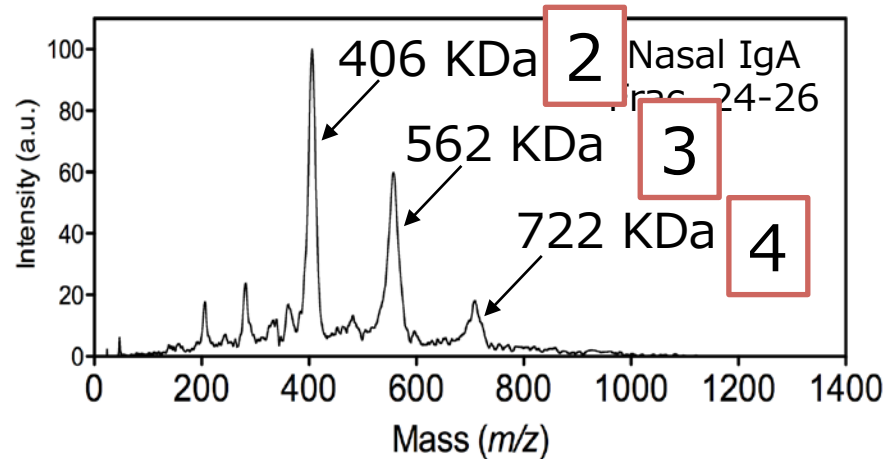
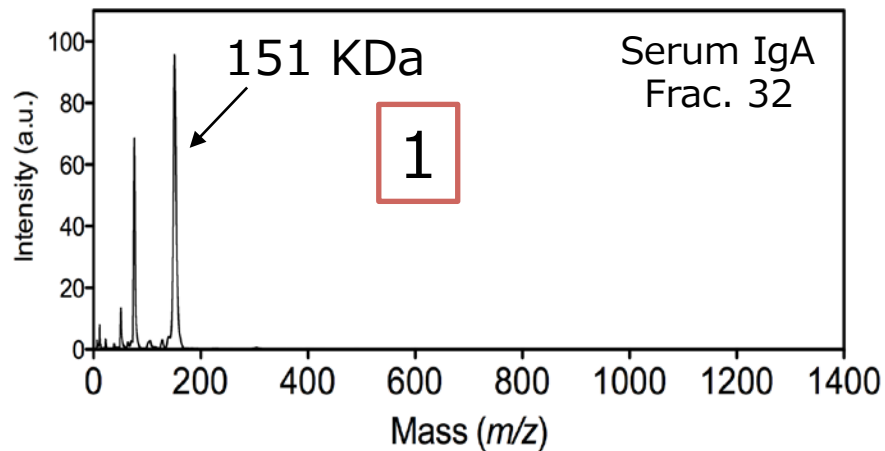
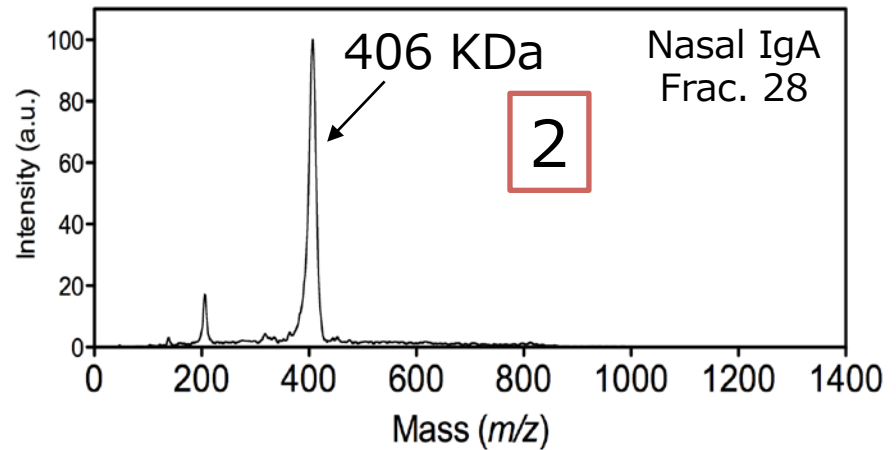
鼻腔洗浄液から精製したIgA



ヒト鼻腔粘膜IgAのTOF-MS解析

- (1) 2HC + 2LC = 150 KDa
- (2) 4HC + 4LC + 1JC + 1SC = 410 KDa
- (3) 6HC + 6LC + 1JC + 1SC = 560 KDa
- (4) 8HC + 8LC + 1JC + 1SC = 710 KDa

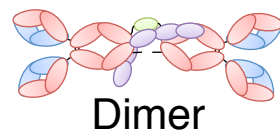
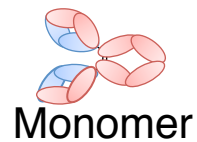
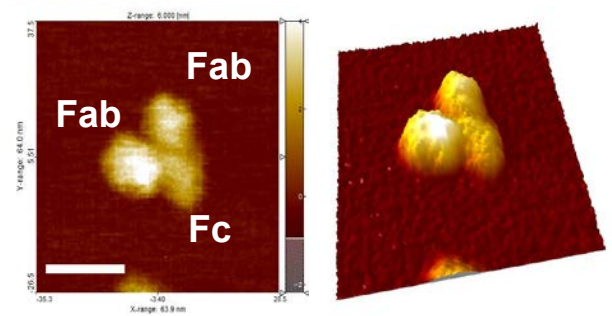
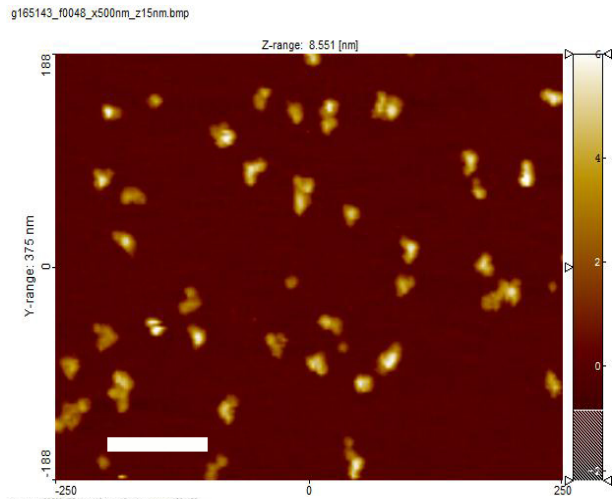
HC = 50 KDa, LC = 25 KDa,
JC = 20 KDa, SC = 90 KDa



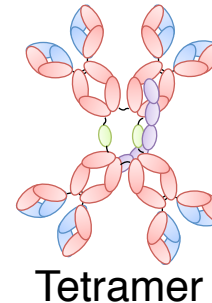
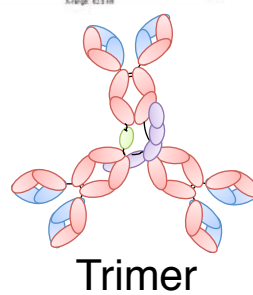
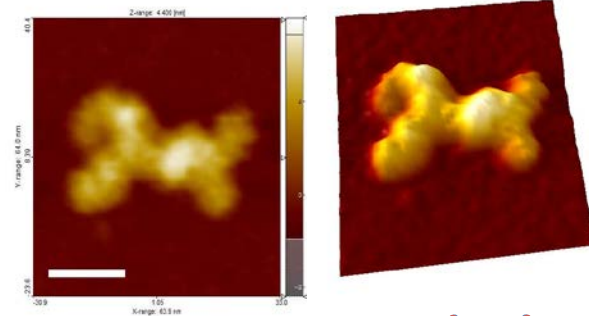
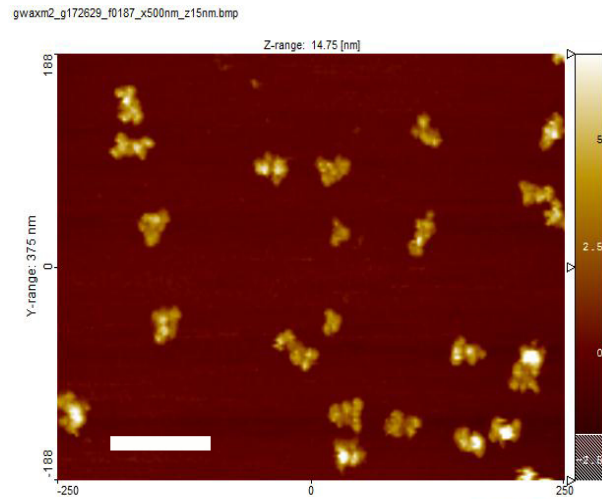
* 4量体よりも大きな分画に存在する分子は量が少なく解析不能

原子間力顕微鏡によるIgAの形状解析

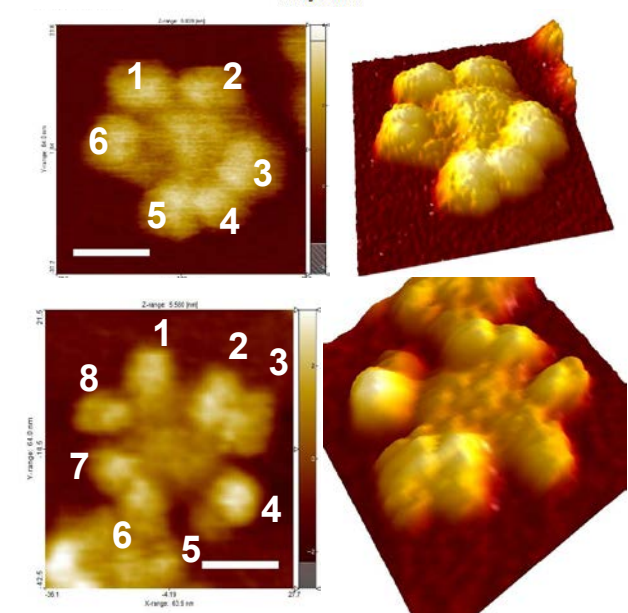
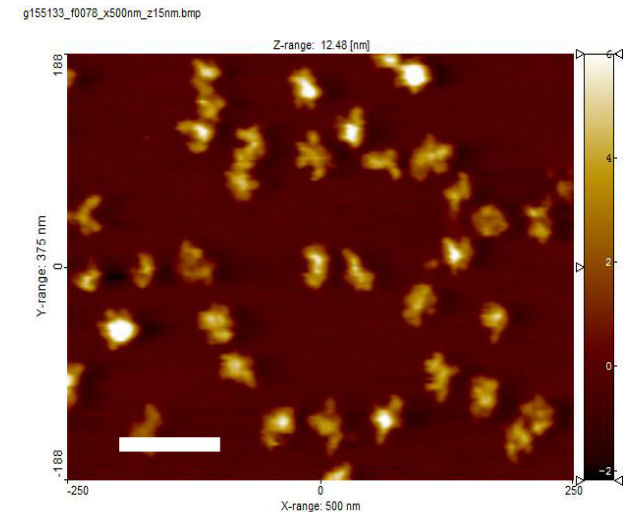
Serum mIgA



Nasal dIgA

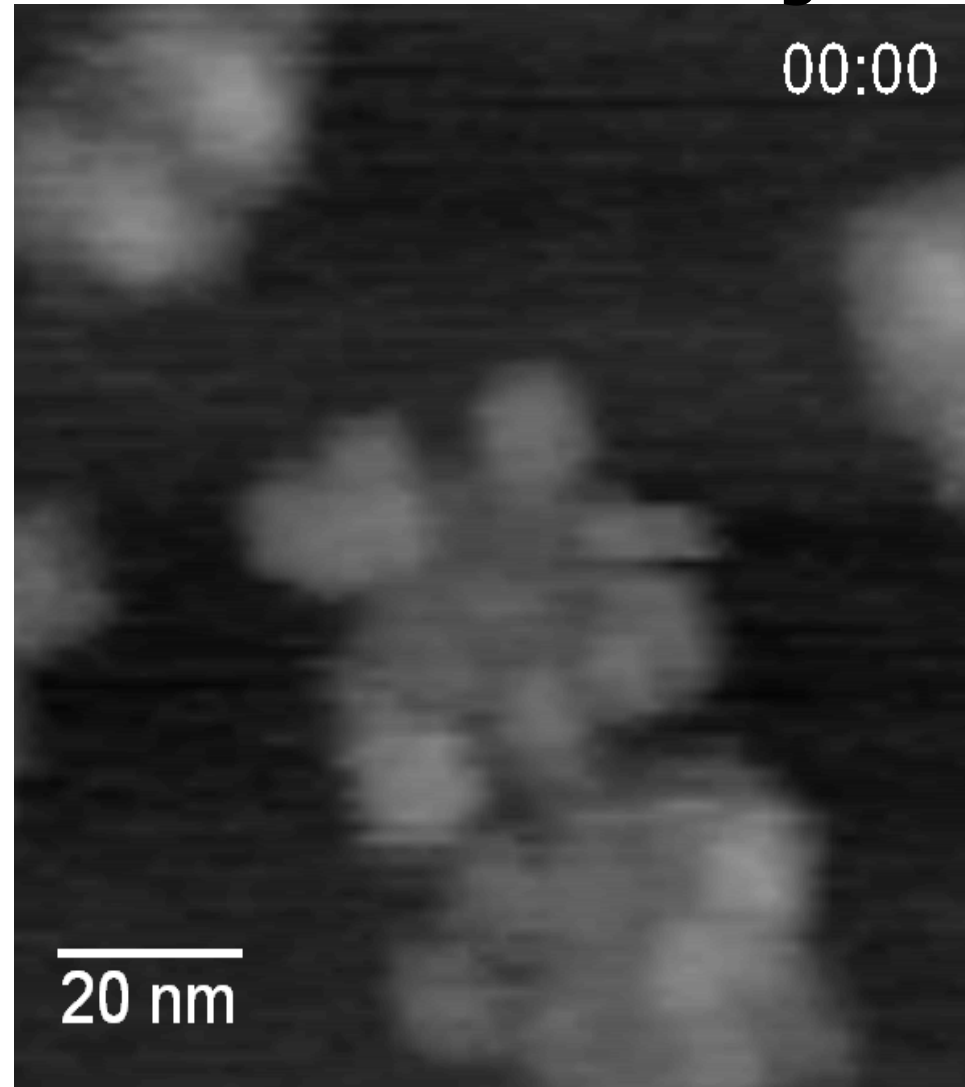


Nasal tri/tetra IgA



原子間力顕微鏡によるIgAの分子動態観察

Nasal tetrameric IgA



1 frame / sec

原子間力顕微鏡によるIgAの分子動態観察

Nasal tetrameric IgA



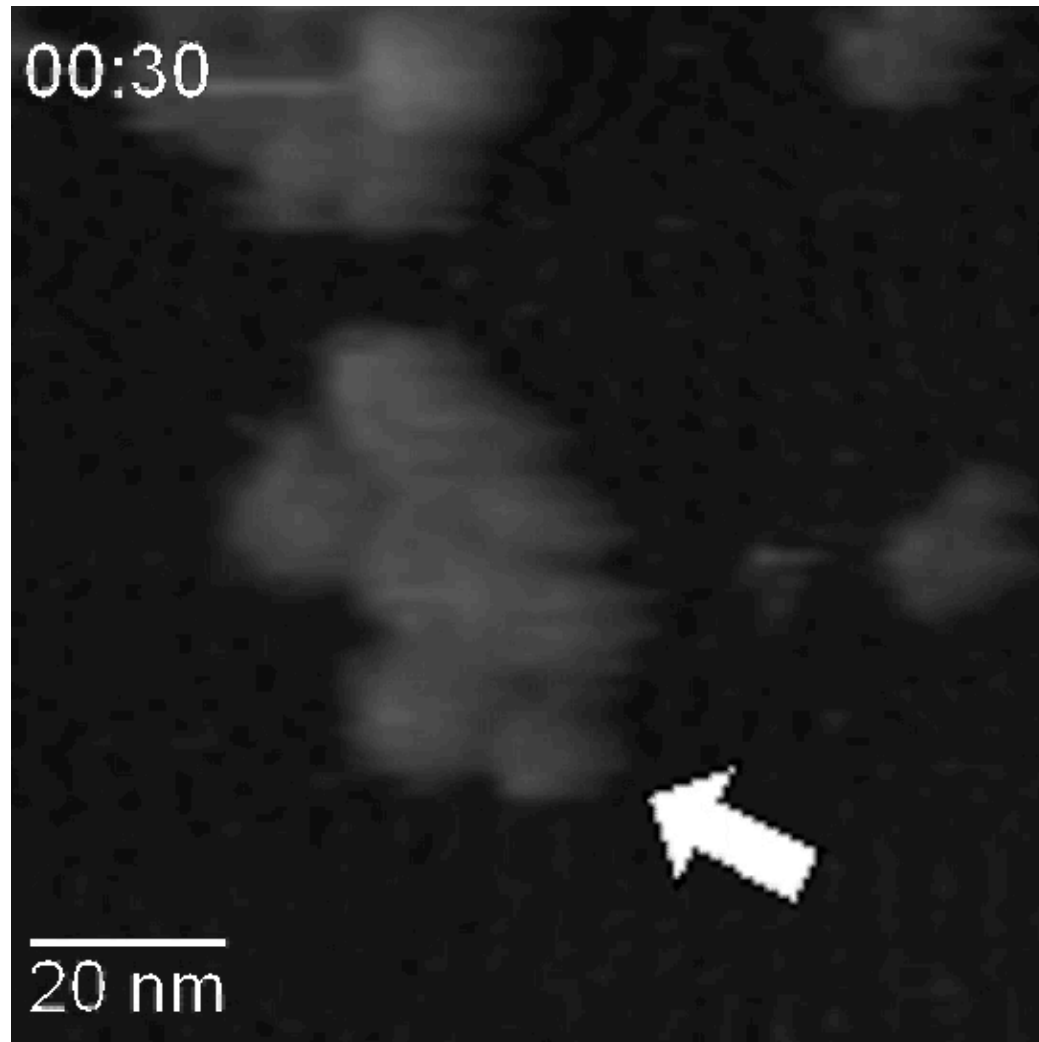
- 四量体IgAは、分子外側部に可動性に富む大きな**8つの「腕」**を持つ。



1 frame / sec

AFMによるIgA-HA相互作用の直接観察

tIgA + HA抗原(↙)



0.25 frame / sec

AFMによるIgA-HA相互作用の直接観察

tIgA + HA抗原(✓)



- 四量体IgAは、分子外側部の「腕」の領域で抗原を捉える。
= 分子外側部はFab領域。

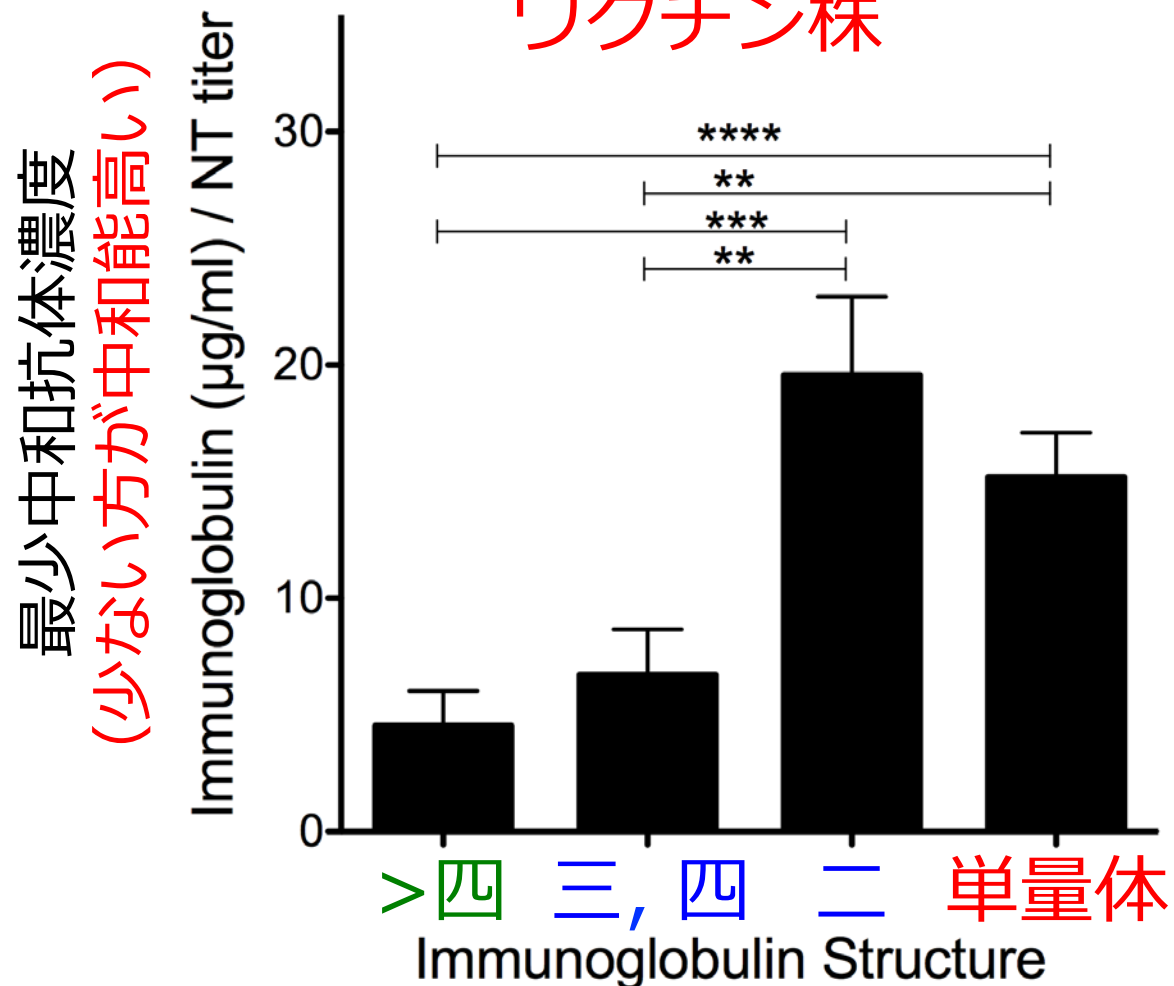


0.25 frame / sec

高次構造の異なる鼻腔粘膜抗体の H3N2中和能比較

A/Victoria/210/2009 (H3N2)

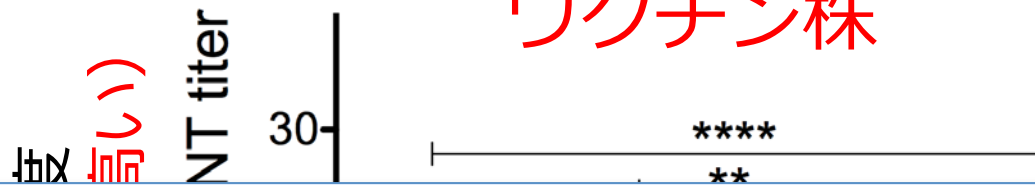
ワクチン株



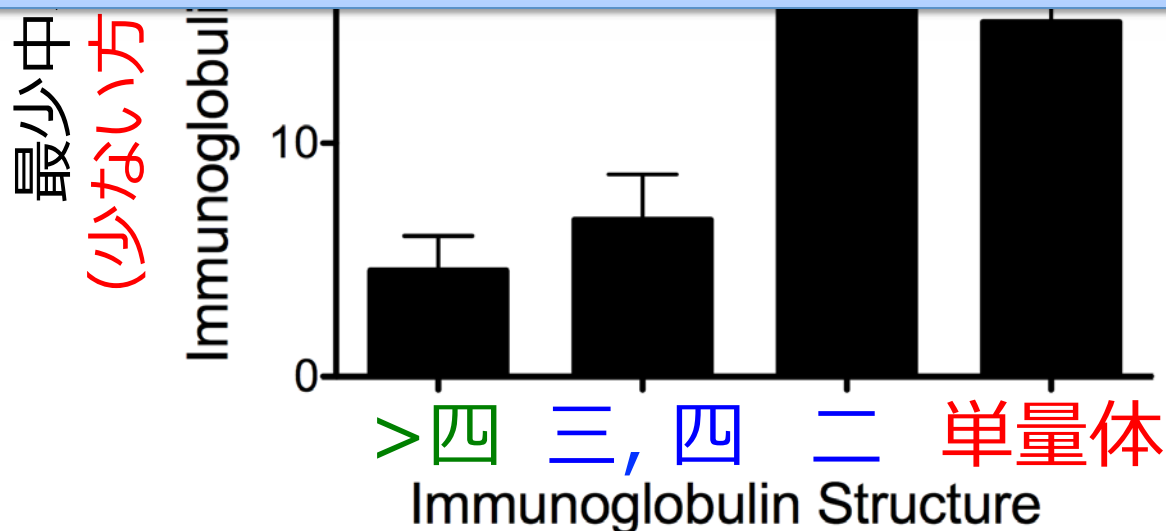
高次構造の異なる鼻腔粘膜抗体の H3N2中和能比較

A/Victoria/210/2009 (H3N2)

ワクチン株



➤ 多量体化した抗体の方が単量体、二量体抗体よりも中和能が高い。



粘膜ワクチンで誘導される分泌型 IgA抗体の多量体構造と機能

- 経鼻不活化インフルエンザワクチンは、ヒトにおいて**鼻腔粘膜上に抗原特異的な分泌型IgA抗体を誘導**する。
- 鼻腔粘膜上に誘導された分泌型IgA抗体は、**単量体、二量体、三量体、四量体、四量体より大きな多量体**として存在する。
- 三量体、四量体分泌型IgA抗体は**分子外周に存在する複数の抗原認識部位で抗原を捕捉**することができる。
- 単量体、二量体抗体に比べ**多量体化した抗体はウイルス中和能が高く、交叉中和能も高い**。

経鼻インフルエンザワクチンにより鼻腔粘膜に誘導される多量体IgA抗体は感染防御に寄与すると考えられた。

共同研究者

国立感染症研究所

感染病理部

川口 晶

相内 章

伊藤 良

池田 千将

大原 有樹

山口 喜之

齊藤 慎二

van Riet Elly

泉池 恭輔

倉田 毅

岩田 奈織子

永田 典代

佐多 徹太郎

田村 慎一

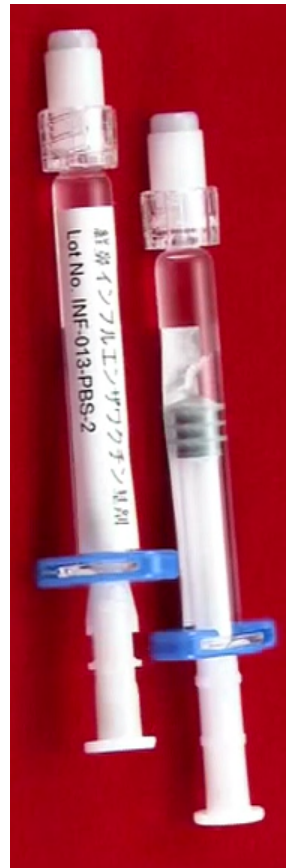
長谷川 秀樹

インフルエンザウイルス研究センター

浅沼 秀樹

小田切 孝人

田代 真人



謝辞

臨床研究に参加してく
ださった被験者の皆様

阪大微生物病研究会

谷本 武史 先生

五味 康行 先生

真鍋 貞夫 先生

石川 豊数 先生

東興薬品工業株式会社

宮崎 隆 先生

上下 泰造 先生

生体分子計測研究所

兼上 明美 先生

七里 元晴 先生