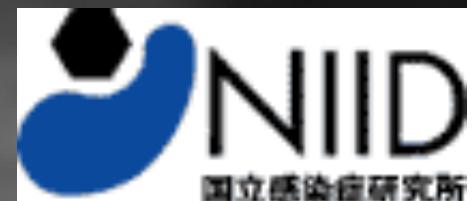


平成28年10月22日
第20回日本ワクチン学会学術集会第5回高橋奨励賞受賞記念講演

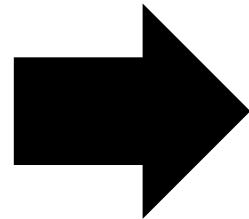
粘膜ワクチンで誘導される分泌型 IgA抗体の多量体構造と機能の解析

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

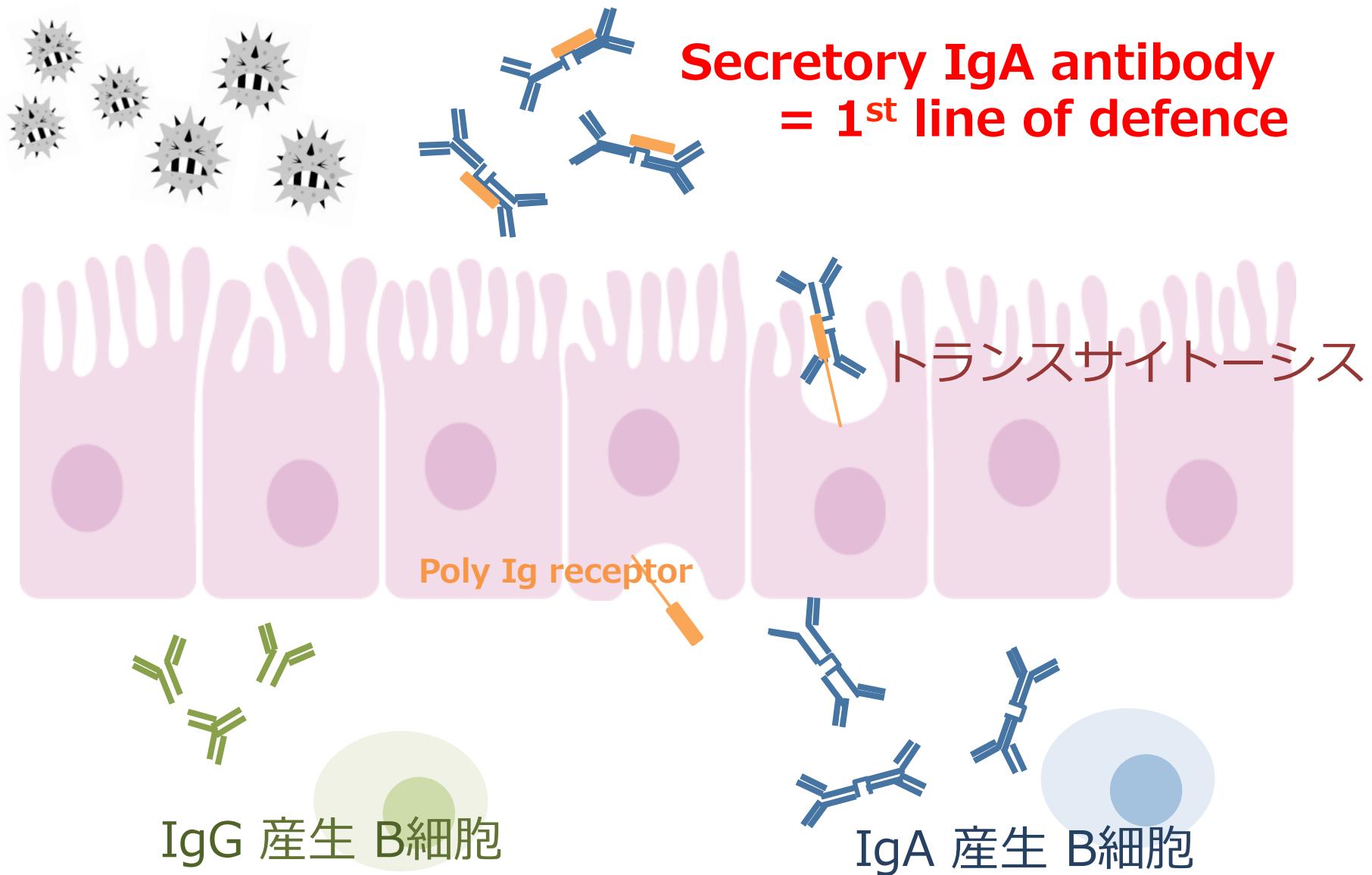
➤ 開発において解決しなければならない問題

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。

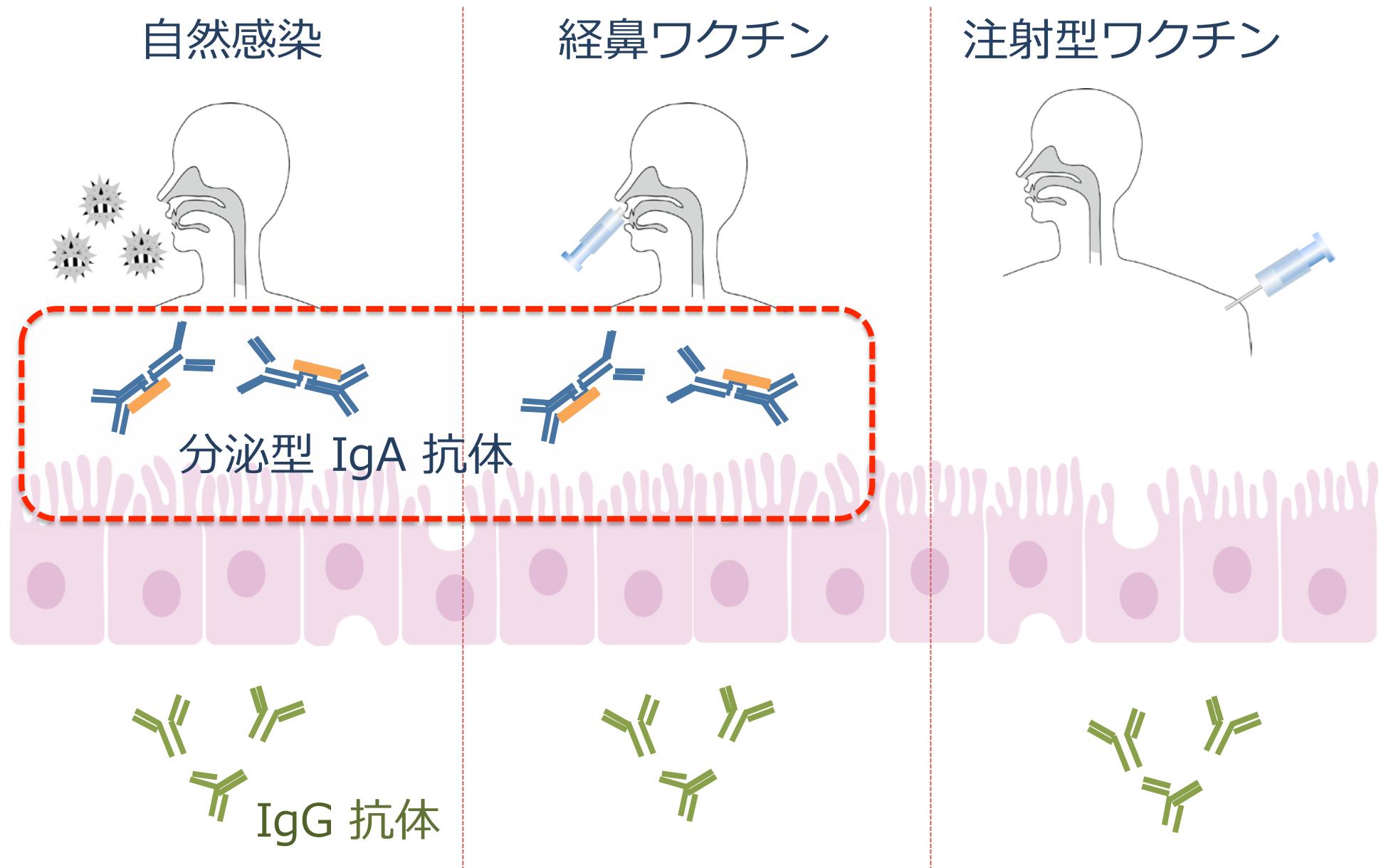
➤ 解決するための基礎研究

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

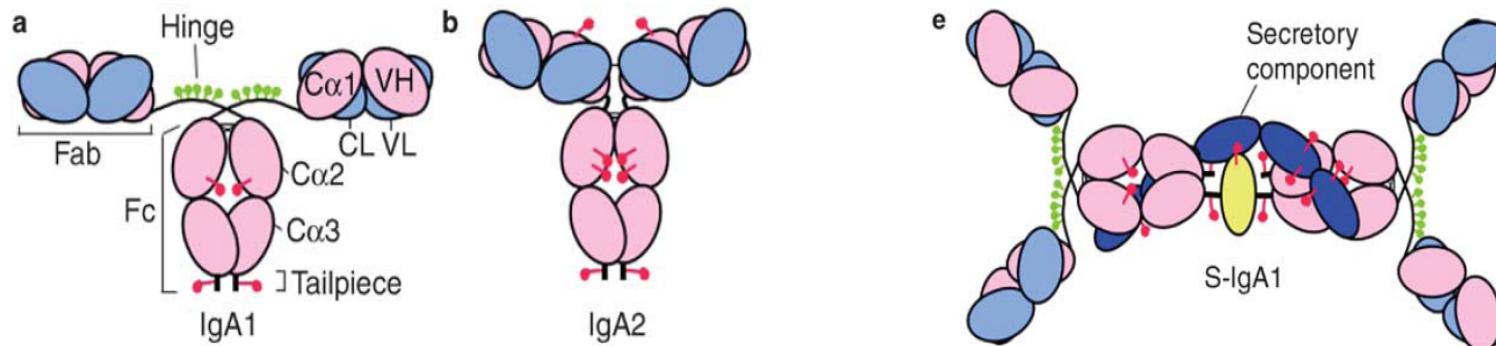


免疫応答機序の違いによる経鼻ワクチンの優位性



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？

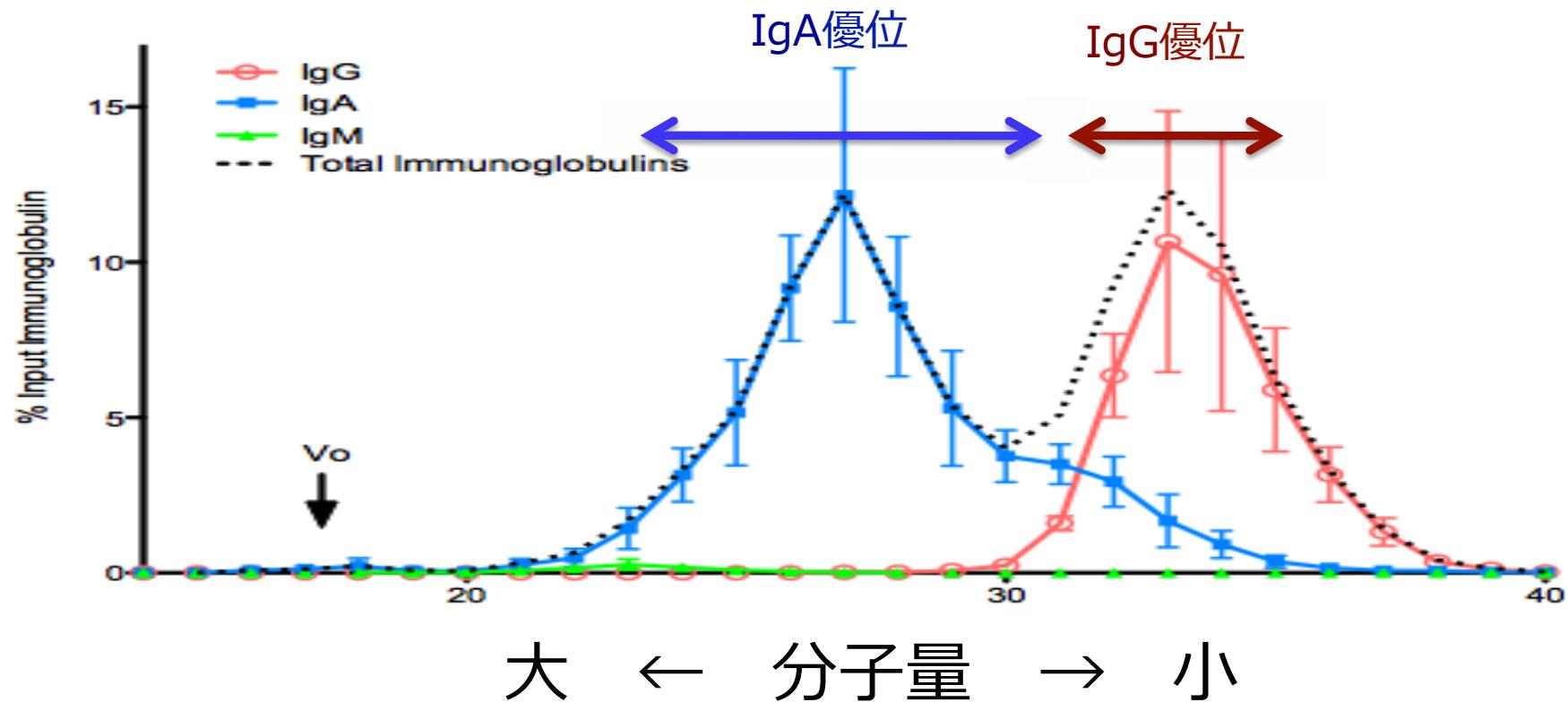
目的：経鼻ワクチンによりヒト呼吸器粘膜に誘導された多量体 IgA の性状とウイルス感染防御における意義の解明

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

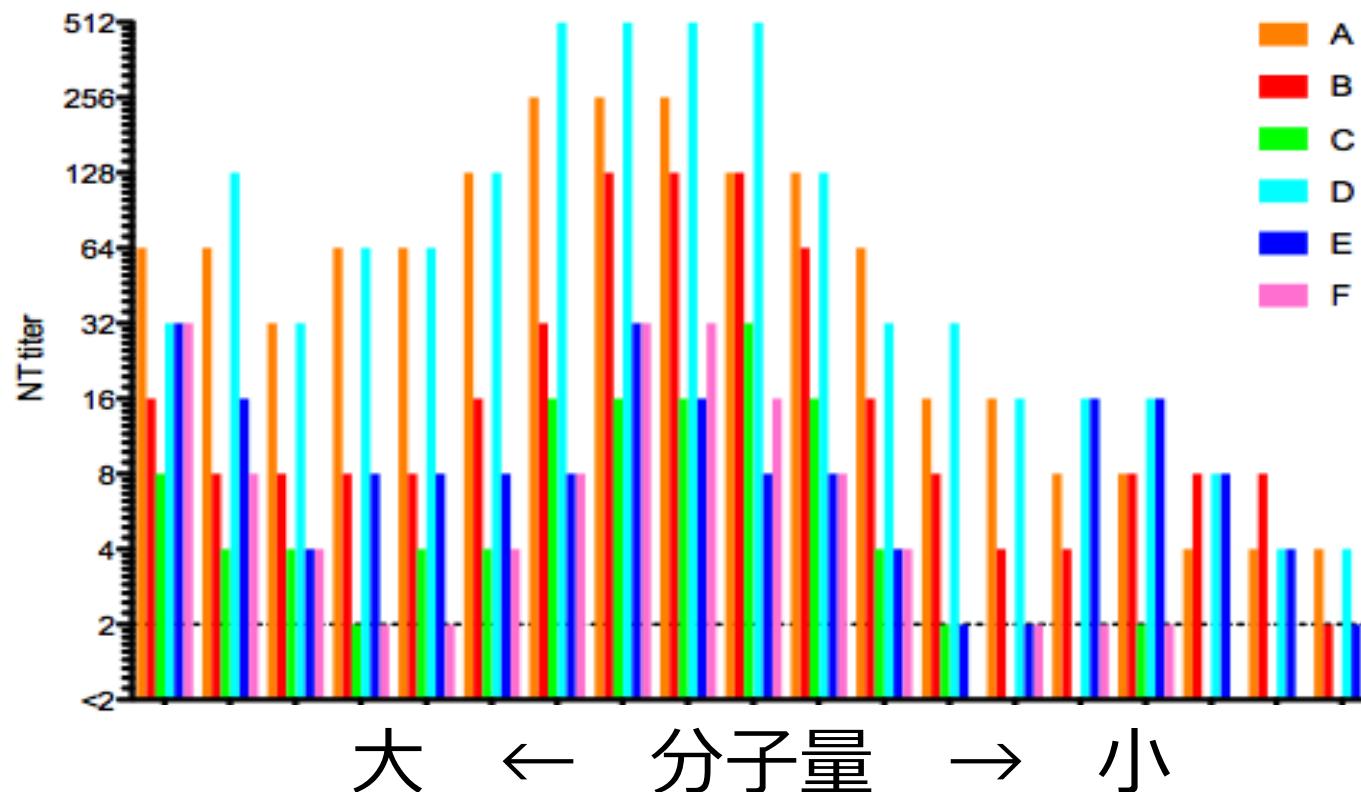
A/Indonesia/05/2005

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

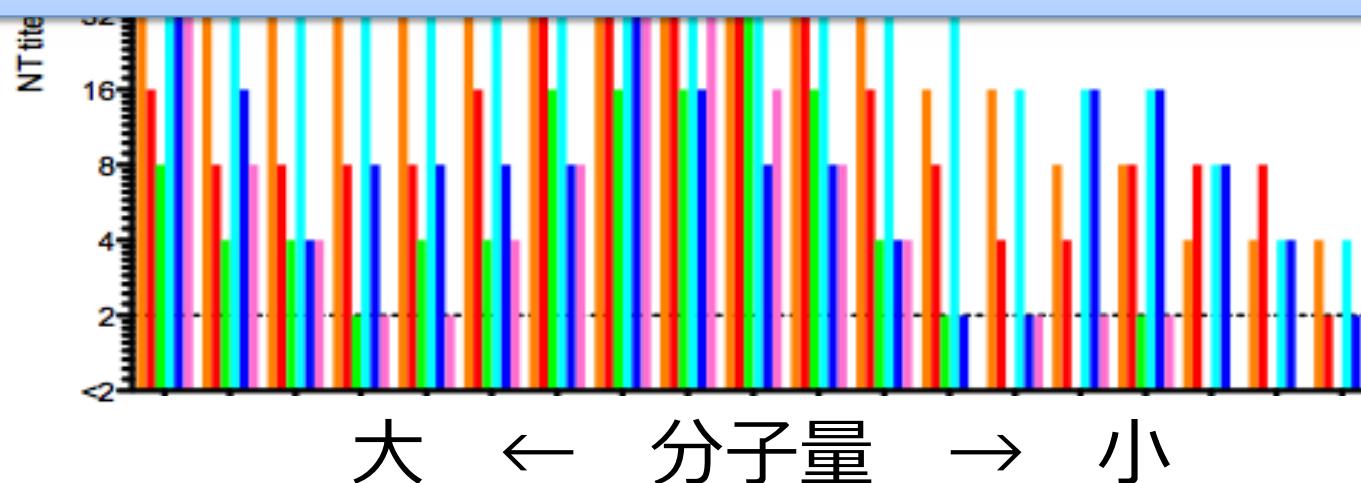
PR8-IBCDC-RG2 (H5N1)

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

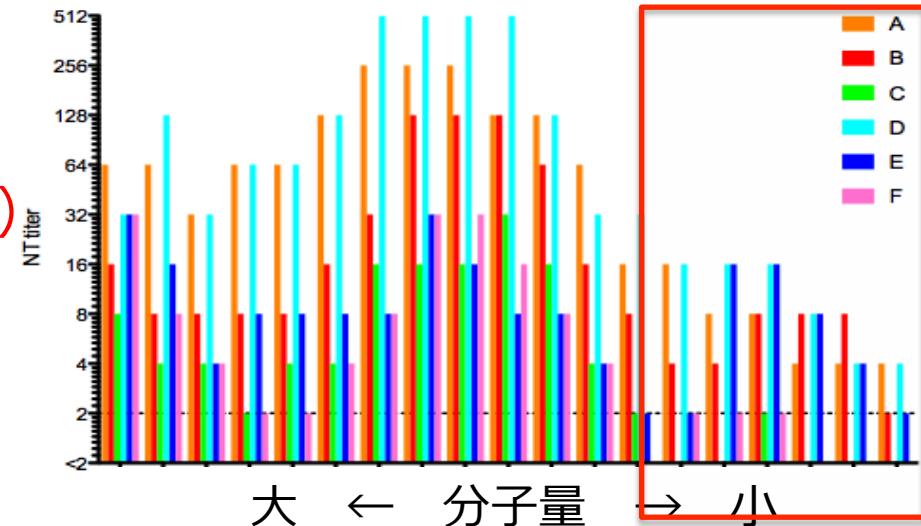
A/Indonesia/05/2005

PR8-IBCDC-RG2 (H5N1)

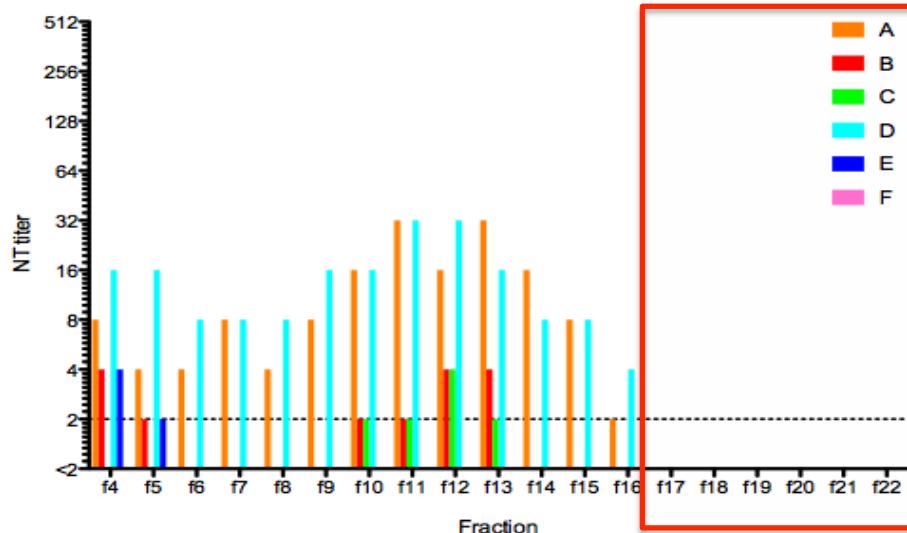
被験者： 健康成人（6名）

サンプル： 鼻腔洗浄液 (NW)

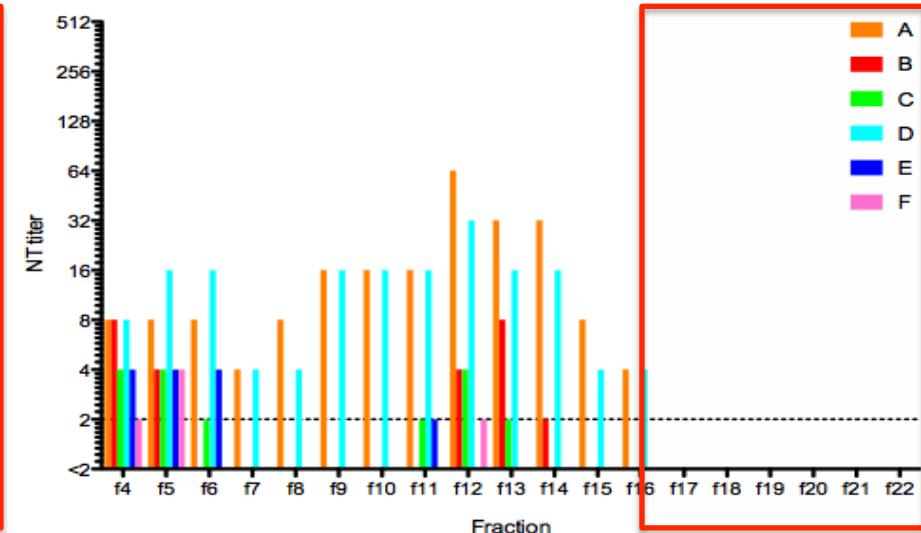
A/Indonesia/05/2005(H5N1) Clade 2.1



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



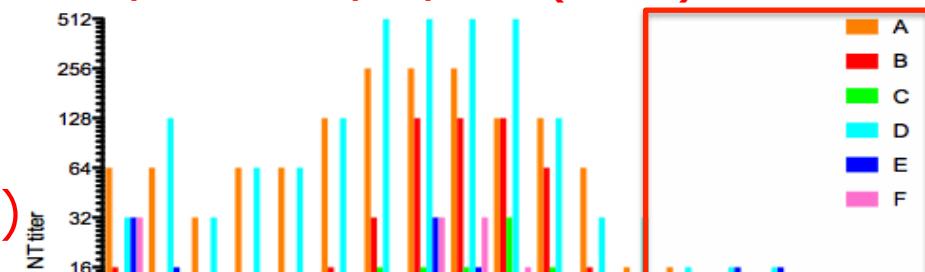
A/Vietnam/1194/2004(H5N1) Clade 1



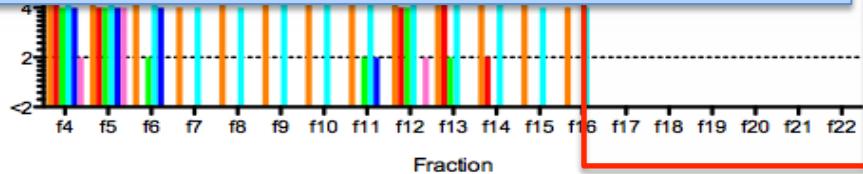
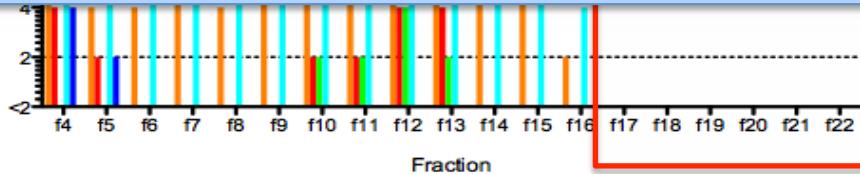
H5N1経鼻ワクチンにより誘導される 鼻腔粘膜抗体の中和能比較

ワクチン：経鼻不活化全粒子ワクチン

A/Indonesia/05/2005
PR8-IBCDC-RG2 (H5N1)

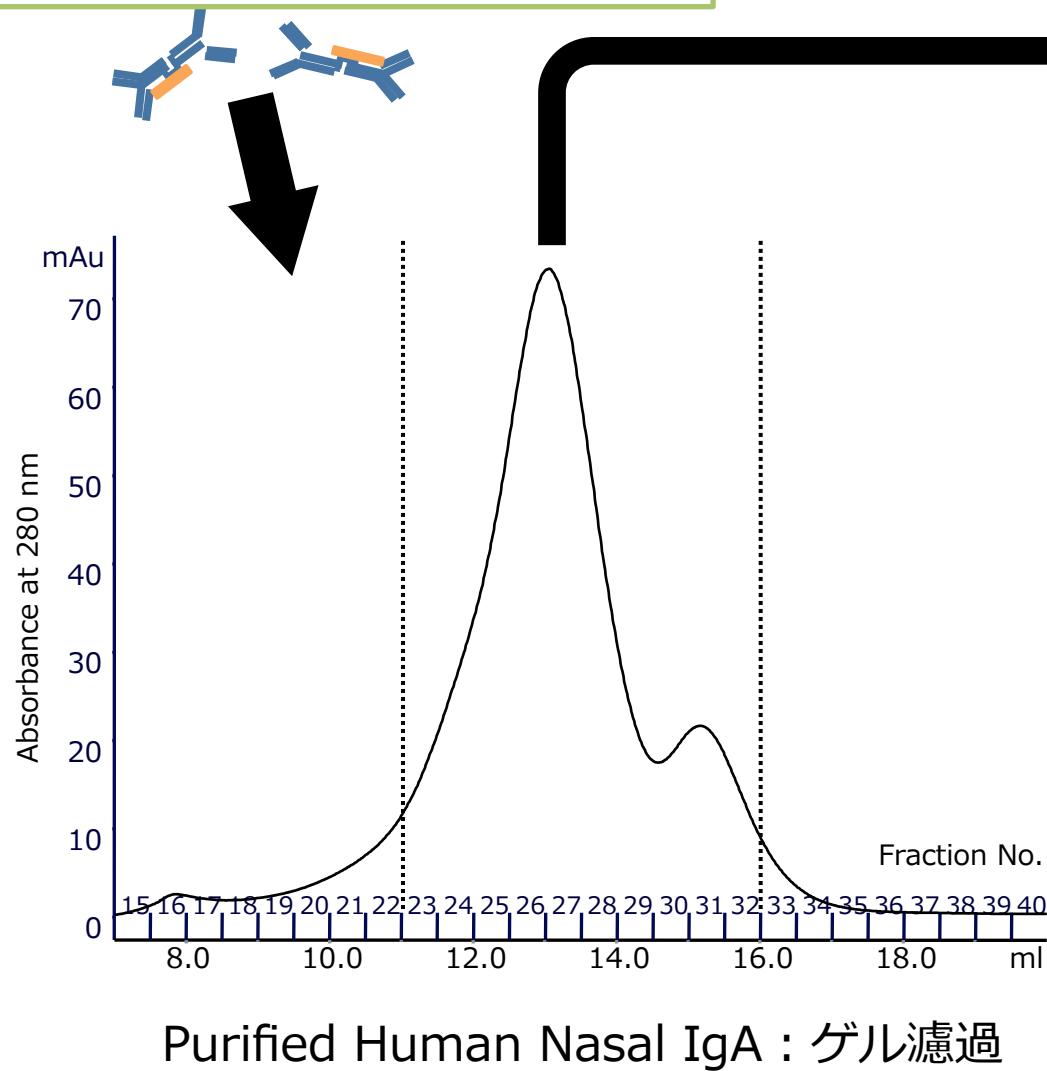


➤ワクチン株に対しては、分子量が小さい抗体と大きい抗体のいずれも中和能を有するが、非ワクチン株に対しては、分子量の大きい抗体 (=IgA) のみが中和能を有する。

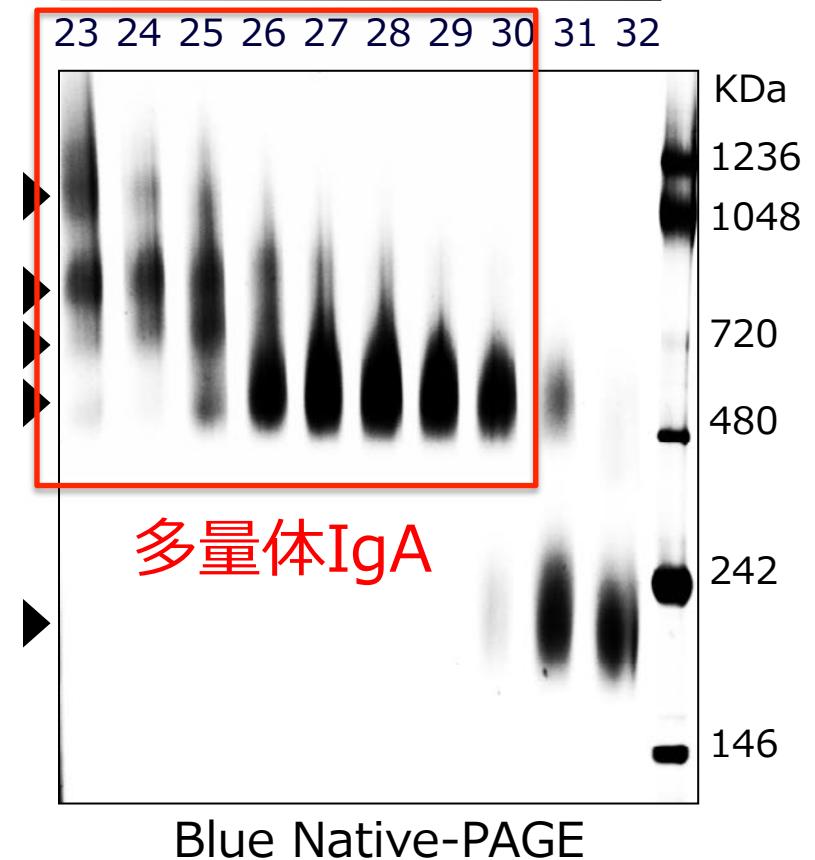


ヒト鼻腔粘膜IgAの分子サイズ分布

鼻腔洗浄液から精製したIgA



Gelfiltration Fraction No.



ヒト鼻腔粘膜IgAのTOF-MS解析

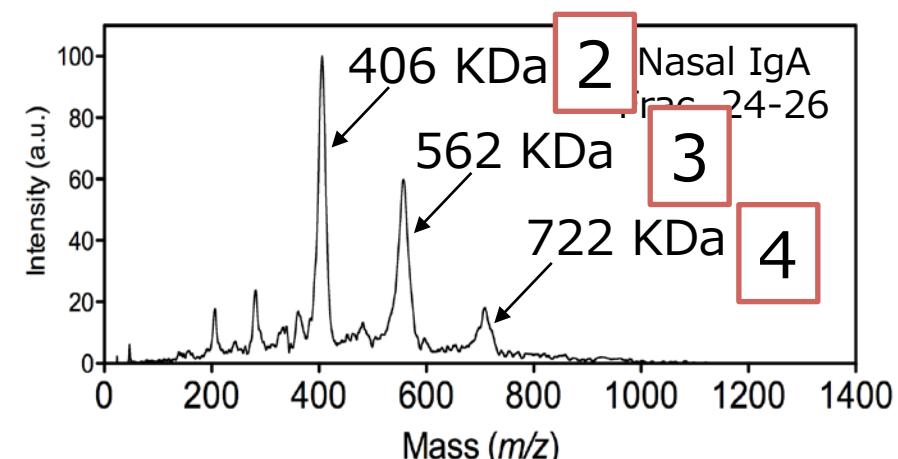
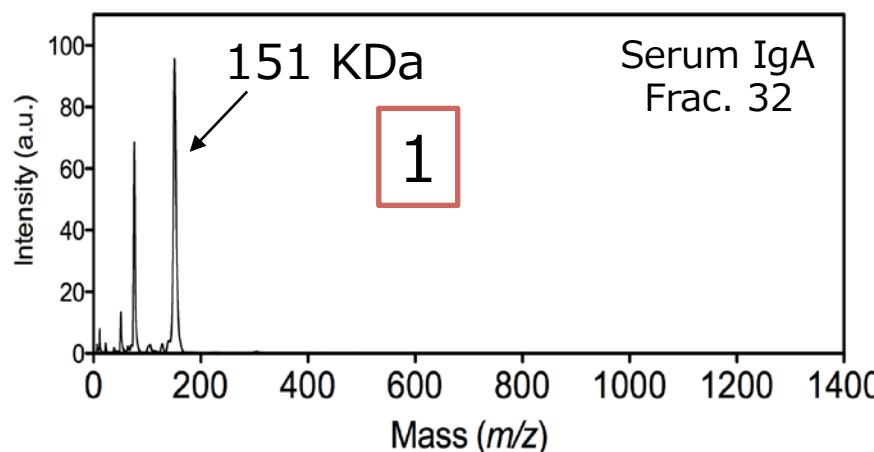
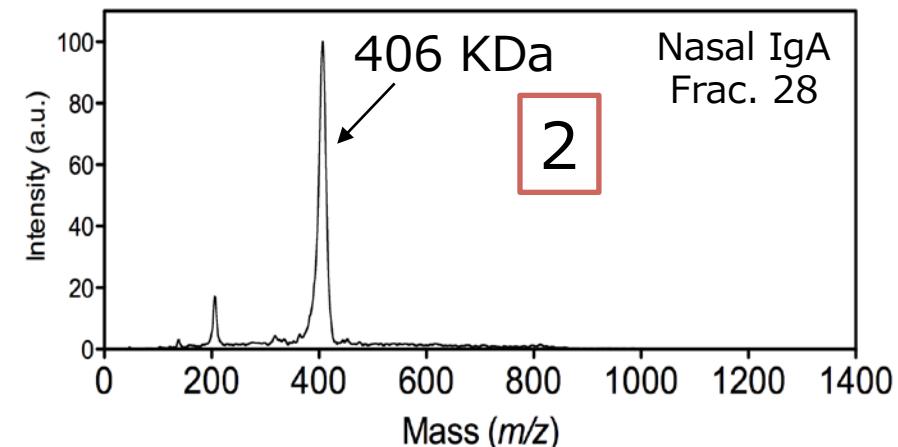
(1) 2HC + 2LC = 150 KDa

(2) 4HC + 4LC + 1JC + 1SC = 410 KDa

(3) 6HC + 6LC + 1JC + 1SC = 560 KDa

(4) 8HC + 8LC + 1JC + 1SC = 710 KDa

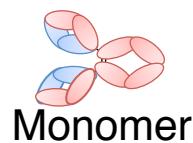
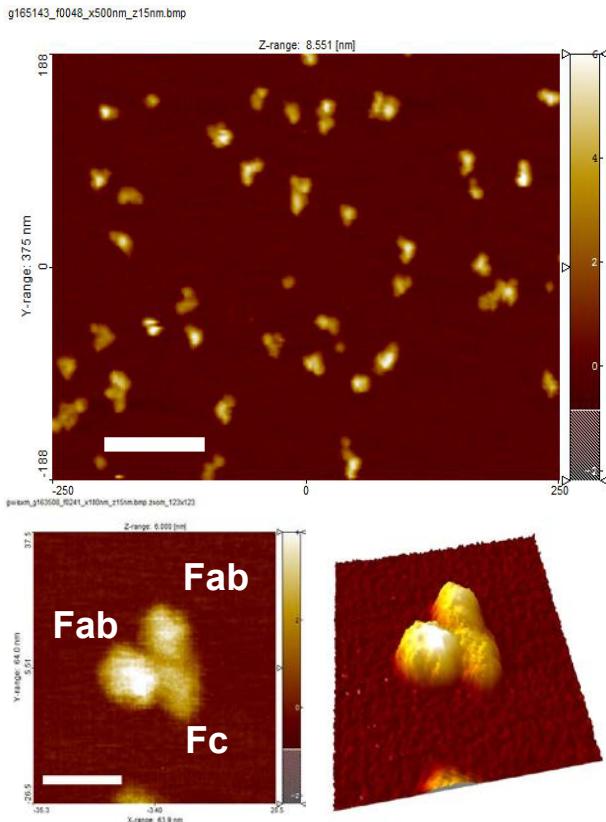
HC = 50 KDa, LC = 25 KDa,
JC = 20 KDa, SC = 90 KDa



* 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

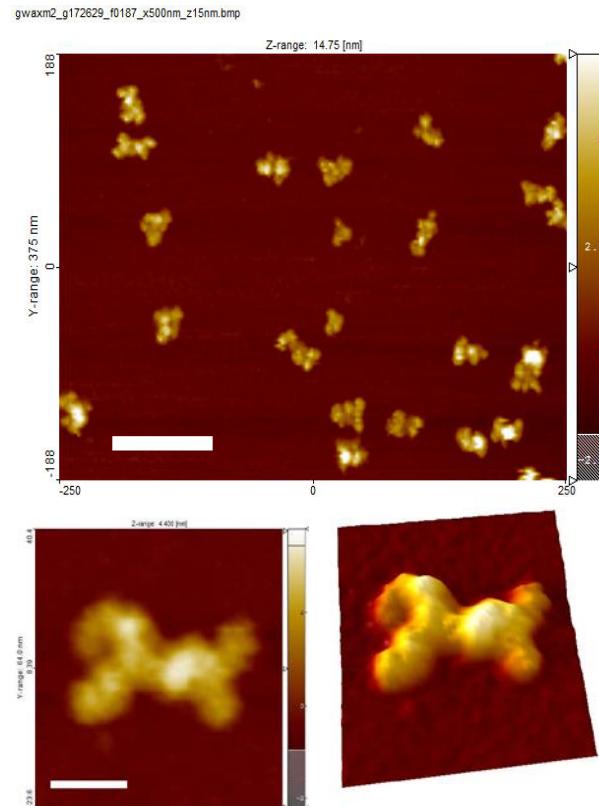
Serum mIgA



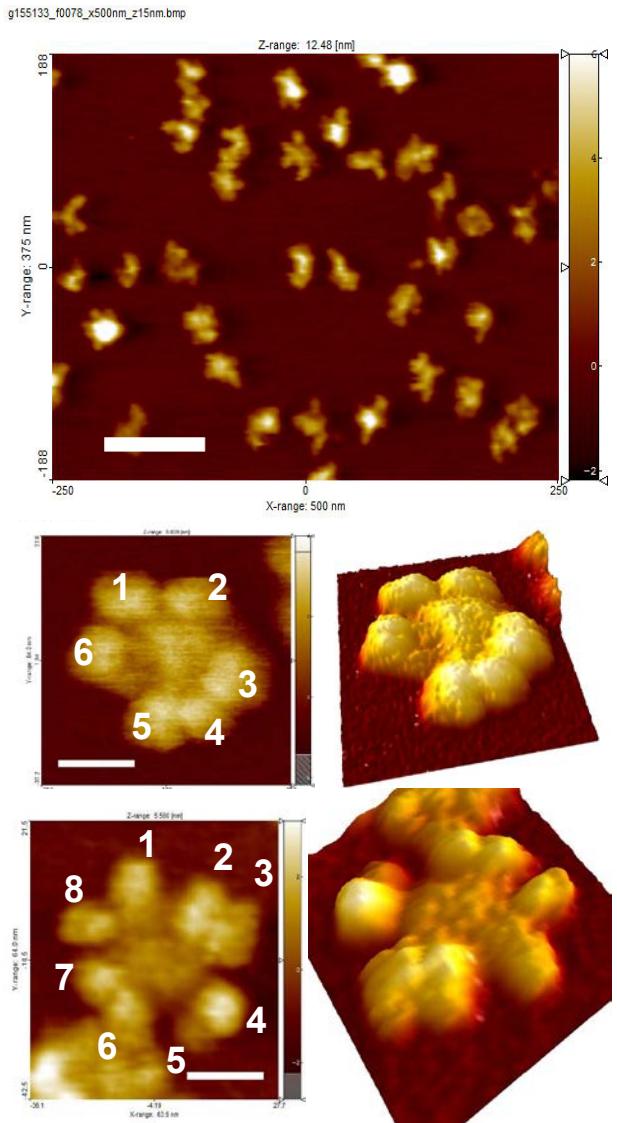
Dimer

Trimer

The diagram illustrates a Tetramer protein complex. It consists of four identical subunits, each represented by a red oval with blue lobes at the top and bottom. These subunits are arranged in a square-like formation, with each subunit's top lobe connecting to the bottom lobe of its neighbors. In the center of this arrangement is a green oval, which is further surrounded by two purple ovals.

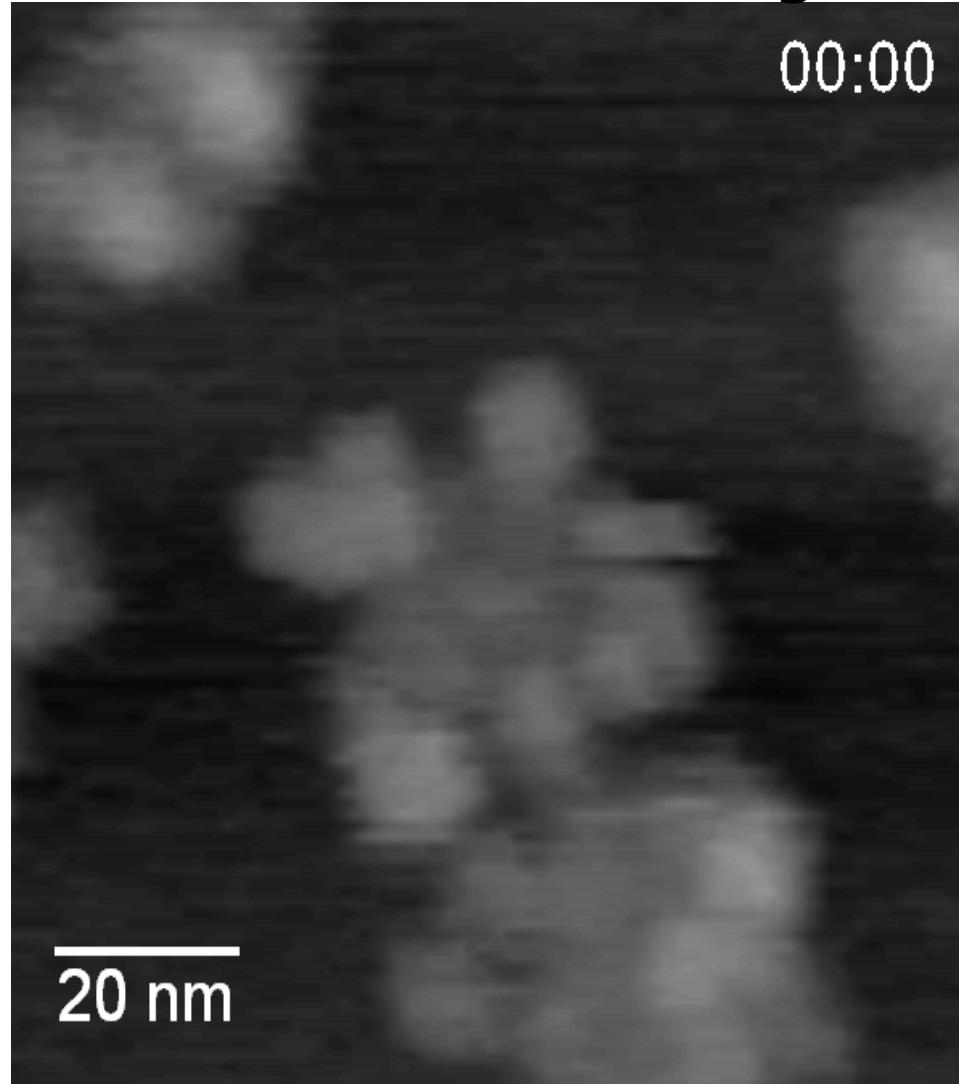


Nasal tri/tetra IgA



原子間力顯微鏡による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



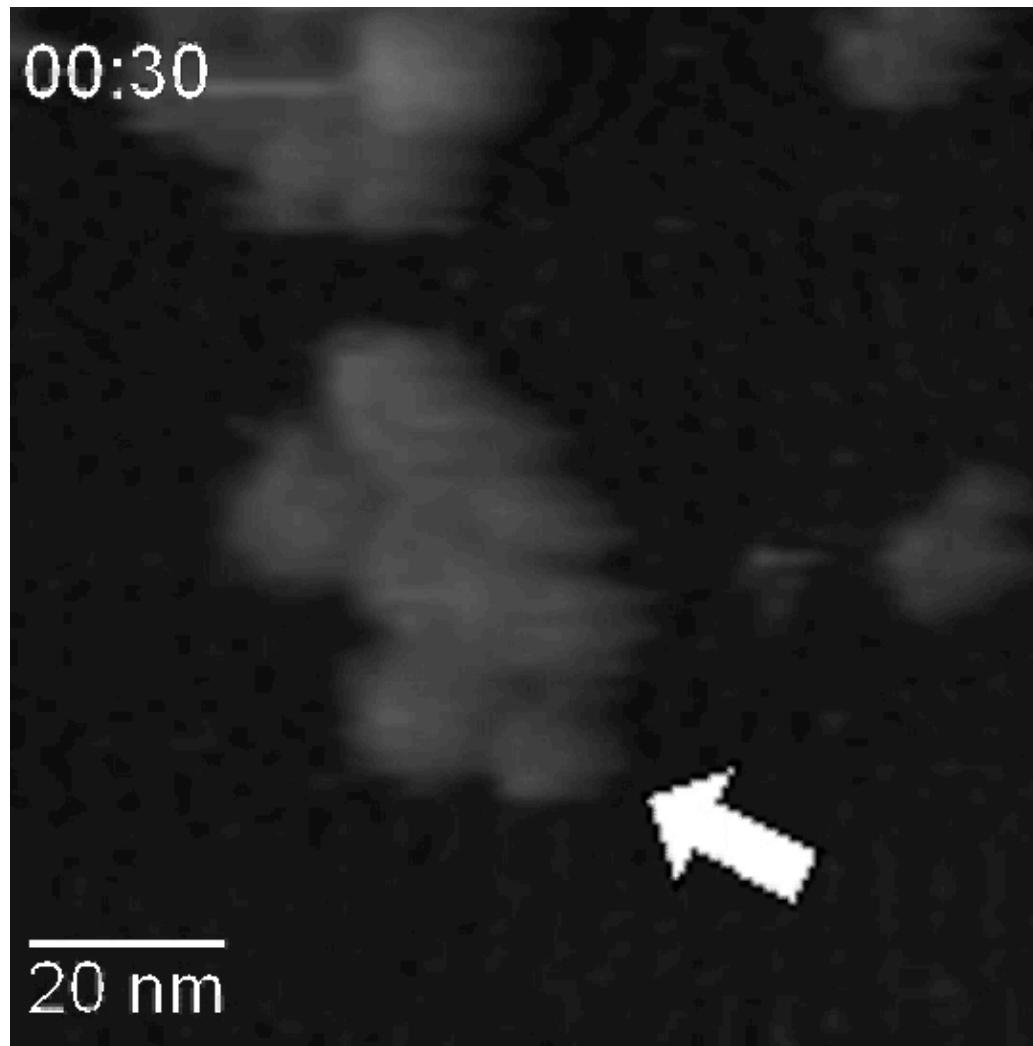
➤ 四量体IgAは、分子外側部に可動性に富む大きな**8つの「腕」**を持つ。



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(↙)

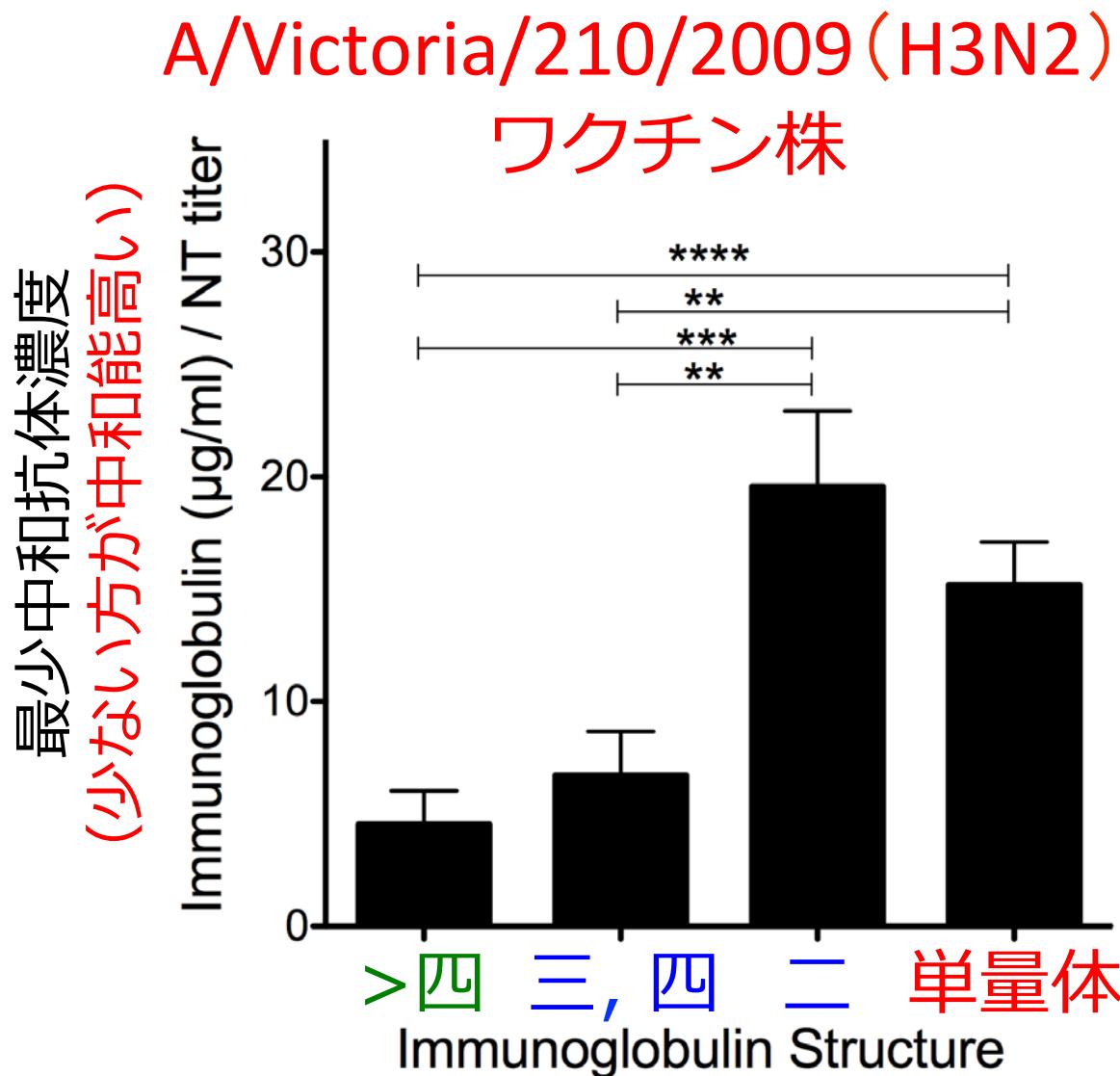


- 四量体IgAは、分子外側部の「腕」の領域で抗原を捉える。
= 分子外側部はFab領域。



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

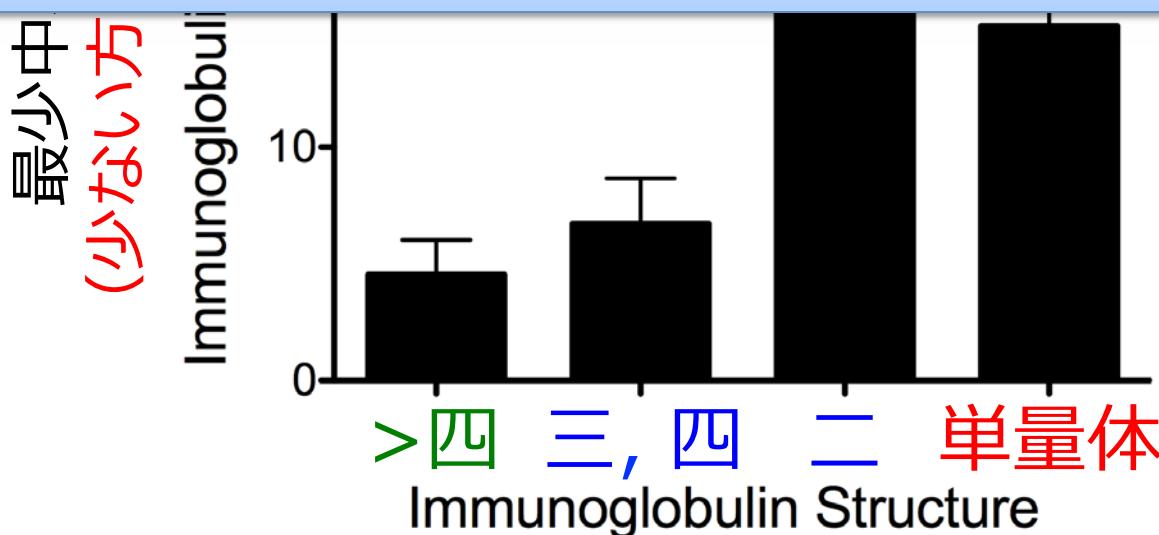


高次構造の異なる鼻腔粘膜抗体の H3N2中和能比較

A/Victoria/210/2009(H3N2)



- 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、**单量体、二量体、三量体、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。
- 单量体、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 インフルエンザウイルス研究センター

川口 晶

浅沼 秀樹

相内 章

小田切 孝人

伊藤 良

田代 真人

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

謝辞

臨床研究に参加してくれた被験者の皆様

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