

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09658

研究課題名(和文) RSV感染症克服を目指した臨床分離株による「RSV妊婦ワクチン」の基礎的研究

研究課題名(英文) Basic research for "RSV pregnant women vaccine" by clinical isolates aimed at overcoming RSV infection

研究代表者

橋本 浩一 (Hashimoto, Koichi)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50322342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Respiratory Syncytial ウイルス(RSV)感染症は全世界的に大きな疾病負担でありワクチン開発が望まれている。本研究では実用化に最も近い「妊婦ワクチン」に繋がる基礎的研究としてRSV臨床分離株を用いたマウスでの感染実験、そして成人血清中の抗RSV中和抗体価測定を実施した。研究結果からワクチン作成時にはサブグループA、Bともに中和抗体を導き、遺伝子型の変化にも対応可能なエピトープの選択が重要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Respiratory syncytial virus (RSV) infection is a major disease burden worldwide and vaccine development is desired. In this study, basic research leading to "pregnant women vaccine", which is the closest to practical application, was carried out by mice infection experiments using RSV clinical isolates and measurement of anti-RSV neutralizing antibody titers in adult sera. From the results of the study, it was suggested that choice of antigen recognition site that can lead to neutralizing antibodies in subgroups A and B at the time of vaccine preparation and also capable of coping with genotype change is important.

研究分野：臨床ウイルス学

キーワード：RSV ワクチン 中和抗体価 臨床分離株 マウス 遺伝子型

1. 研究開始当初の背景

Respiratory Syncytial ウイルス (RSV) は乳幼児の急性呼吸不全の病因の1つである。WHO の 2003 年の死亡率推計では、全世界での RSV 感染による死亡は、感染症においてヒト免疫不全ウイルス、B 型肝炎ウイルス / C 型肝炎ウイルス、麻疹ウイルスに次ぐ 4 番目である。3 歳までに殆どの幼児が感染し、乳幼児全体の約 2 ~ 10% が重症 RSV 感染症にて入院し、入院児の約 20% が人工呼吸器の装着などの集中治療が必要となる。治療に抗ウイルス薬は期待できず、ワクチンの開発が望まれている。

RSV は 2 つのサブグループ (A、B) に分類され、さらに複数の遺伝子型が各サブグループ内に存在し、抗原的、遺伝的多様性が、毎年の流行、再感染の一因と考えられている。NA1、NA2 は新潟市での 2001 年 - 2007 年の株解析により初めて報告された遺伝子型であり、遺伝子型 ON1 は 2011 年にカナダのオンタリオ州で検出され報告された。いずれもグループ A である。福島県では 2008 年には NA1 が、2009 年、2010 年においては NA2 が優勢となり、2013 年に ON1 は分離され、2015 年には分離株の 90% を占めている。

2. 研究の目的

RSV への高中和抗体価の母からの出生児、移行抗体として高中和抗体価を有する児では RSV 感染症の重症化から免れる。接種時期と接種対象を考慮した場合、妊娠母親からの移行抗体により児を感染症から守る、「RSV 妊婦ワクチン」への期待が高い。本研究では治療法、予防法のない本感染症に対する「妊婦ワクチン」に繋がる基礎的研究を行う。

3. 研究の方法

- 1) RSV マウス感染モデルを用い、サブグループ、遺伝子型の異なる RSV 臨床分離株を用い、ワクチン効果 (中和抗体誘導能) をウイルス学的、免疫学的、呼吸生理学的に検討する。
- 2) サブグループ A、遺伝子型 ON1 出現前後の成人血清を用い、中和抗体のサブグループ、遺伝子型への抗体誘導について検討する。

4. 研究成果

- 1) RSV マウス感染モデルを用いての研究。
 - サブグループ A 遺伝子型 NA1、NA2、ON1、サブグループ B 遺伝子型 B3 を用いマウスで感染実験を実施した。
 - 初めに、BALB/C マウスに NA1 あるいは ON1 を感染させ、1 か月後に血液を採取し、他のウイルス株への中和抗体価を測定した。NA1 感染マウスでは NA1、NA2、ON1、B3 に対して中和抗体の幾何

平均は 64 倍、9 倍、18 倍、7 倍であった。一方、ON1 感染マウスでは NA1、NA2、ON1、B3 に対して中和抗体の幾何平均は 16 倍、6 倍、32 倍、8 倍であった (図 1)。

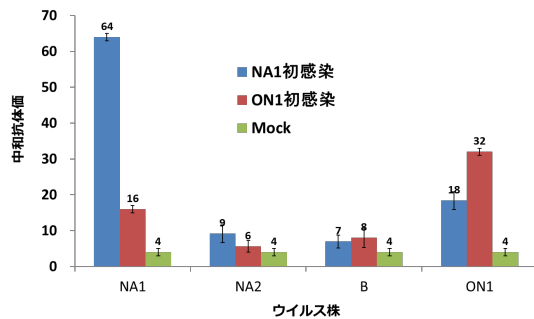
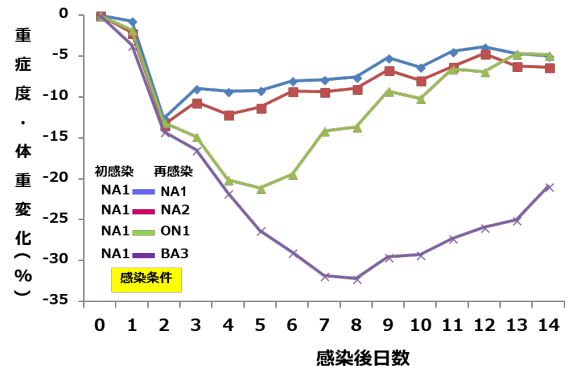


図 1. 中和抗体価 (幾何平均)

次に、BALB/C マウスに NA1 を感染させ、1 か月後に NA1、NA2、ON1、B3 を感染させ、呼吸変化、体重変化による重症度を検討した。NA1、NA2 での再感染では重症化は認められなかったが、ON1、B3 では ON1 < B3 の順に重症化した (図 2)。



RSV 初感染 4 週間後に RSV を各々の条件で再感染させた。再感染日を day0 とし、連日 7 日間、体重を測定した。

図 2. RSV 再感染後の体重 (重症度) 変化

2) 成人血清を用いての研究。

小児科医師 (ON1 流行前 2010 年; 35 人、後 2016 年; 78 人) から採取し、-80 にて保管した保存血清を用い、サブグループ A の遺伝子型 NA1、NA2、ON1、サブグループ B の遺伝子型 B3 を用い中和抗体価を測定した。

2010 年の検体の NA1、NA2、ON1、B3 への中和抗体価 (幾何平均、倍) は、各々 48.5、60.3、33.3、89.6、2016 年では 33.2、49.0、45.7、77.1 であった。特に NA1 と ON1 について統計的に有意な変化を認めた (図 3)。

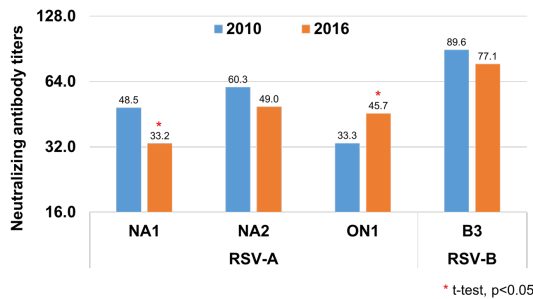


図3. 各種 RSV 遺伝子型への中和抗体価 (幾何平均)

先行論文において RSV 中和抗体価 32 倍以上では RSV 再感染による症状出現なしと報告があり、抗体の保有割合について検討した。32 倍以上について 2010 年、2016 年の検体 (%) は、64 倍以上で NA1 に対しては 57.1% から 25.6% へ低下し、ON1 に対しては 28.6% から 47.4% へ上昇した。いずれも統計的に優位な変化であった (図 4)。

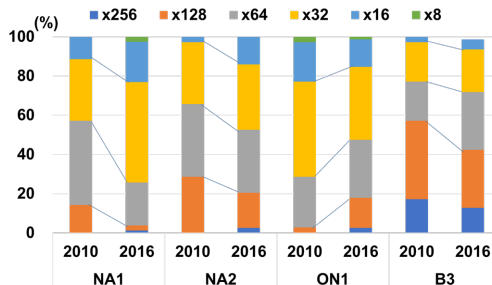


図4. RSV 各種遺伝子型への中和抗体価・割合

さらに、中和抗体価の相関は各遺伝子型が異なっても同一のサブグループ内では強い相関、一方、異なるサブグループ間では弱い相関を示した。2010 年、2016 年の血清何れでも同様であった (表 1)。

表1. 各 RSV 遺伝子型株への中和抗体価の相関

【2010 年】

組合せ (遺伝子型)	相関係数
NA1-NA2	0.71
NA1-ON1	0.70
NA2-ON1	0.68
NA1-B3	0.36
NA2-B3	0.35
ON1-B3	0.30

【2016 年】

組合せ (遺伝子型)	相関係数
NA1-NA2	0.60
NA1-ON1	0.81
NA2-ON1	0.70
NA1-B3	0.23
NA2-B3	0.50
ON1-B3	0.30

以上のマウス、或いはヒトでの検討結果は、ワクチン作成時にはサブグループ A、B とともに中和抗体を導き、遺伝子型の変化にも対応可能なエピトープの選択が重要であることを示唆する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Hashimoto K, Hosoya M.

Neutralizing epitopes of RSV and palivizumab resistance in Japan.

査読あり Fukushima J Med Sci. 2017 ; 63: 127-134.

doi: 10.5387/fms.2017-09.

〔学会発表〕(計 3 件)

橋本浩一、佐藤晶論、前田創、川崎幸彦、細矢光亮

ON1 流行前後の成人血清を用いた RSV のサブグループ、遺伝子型間の中和抗体価の検討. 第 121 回日本小児科学会学術集会、2018 年

Koichi Hashimoto, Yukihiko Kawasaki, and Mitsuaki Hosoya

Neutralization antibody titers against ON1 using adult serum obtained before/after an RSV-A genotype ON1 epidemic in Japan.

RSV Vaccines For The World conference 2017, 2017

橋本浩一、佐藤晶論、前田創、宮崎恭平、細矢光亮

成人血清を用いた RSV のサブグループ、遺伝子型間の中和抗体交差活性の検討 第 58 回日本臨床ウイルス学会、2017 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 浩一 (HASHIMOTO, Koichi)
福島県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：50322342

(2) 研究分担者

橋本 優子 (HASHIMOTO, Yuko)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：60305357

(3) 研究分担者

細矢 光亮 (HOSOYA, Mitsuaki)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：80192318

(4) 研究分担者

錫谷 達夫 (SUZUTANI, Tatsuo)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：40196895

(5) 研究分担者

川崎 幸彦 (KAWASAKI, Yukihiro)
福島県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：00305369