

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06647

研究課題名(和文) 抗ウイルス広域中和抗体の誘導メカニズム

研究課題名(英文) The mechanism of broadly reactive anti-influenza virus antibody responses

研究代表者

宮内 浩典 (Miyuchi, Kosuke)

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・副チームリーダー

研究者番号：50619856

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではユニバーサルワクチンの開発の基礎となる広域中和抗体の産生機構の解明を目的として、インフルエンザウイルス感染時におけるウイルス特異的抗体産生の研究を行った。ウイルス感染において肺に誘導される免疫応答について解析するために、肺細胞のトランスクリプトーム解析を行った。さらに感染と不活化ワクチンによって誘導されるウイルス抗原特異的B細胞の違いを解析する目的で、ウイルス特異的B細胞を分離し抗体遺伝子の解析を行った。その結果、感染時に形成される肺免疫環境に対するウイルス抗原暴露とウイルス特異的な濾胞性ヘルパーT細胞の誘導が広域中和抗体産生B細胞の誘導に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究においてインフルエンザウイルス感染時における広域中和抗体の産生メカニズムの一端が解明できたことで、新興インフルエンザウイルス感染症に対抗するためのユニバーサルワクチンの開発に向けて有用な基礎データを提供できた。これによって、安全性の高い不活化ワクチンを使用しながら、濾胞性ヘルパーT細胞を活性化することで、広域中和抗体を誘導するワクチン投与法の検討を進める方針が確認出来たことは、今後の抗ウイルスワクチン研究において大きな意義をもつと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Here, we investigated virus-specific antibody responses against the influenza virus infection to elucidate the production mechanism of broadly neutralizing antibodies, which will give us new insight for the development of a universal vaccine. To analyze the immune response induced in the lung by influenza virus infection, we performed transcriptome analysis of lung cells isolated from influenza virus infected mice. In addition, to analyze the difference in virus antigen-specific B cell responses between the infection with live viruses and the vaccination with inactivated viruses, we isolated virus-specific B cells and analyzed their IgG genes. Based on results of these experiments, we revealed that the activation of virus-specific follicular helper T cells in the lung draining lymph nodes induced by infection and the exposure of viral antigens to lung immune system play important roles in the induction of broadly neutralizing antibody responses.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ウイルス中和抗体 インフルエンザウイルス 濾胞性ヘルパーT細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

インフルエンザウイルス感染では、ウイルス株を超えて感染を防御できる広域中和抗体が誘導されることがある。新型インフルエンザウイルスにも対応できる広域中和抗体は一般的な不活化ウイルスワクチンでは誘導されないが、生ワクチンや実際のインフルエンザウイルス感染では誘導されることが知られている。安全性が高いユニバーサルワクチンの開発のために、広域中和抗体の産生機構の解明は喫緊の課題である。

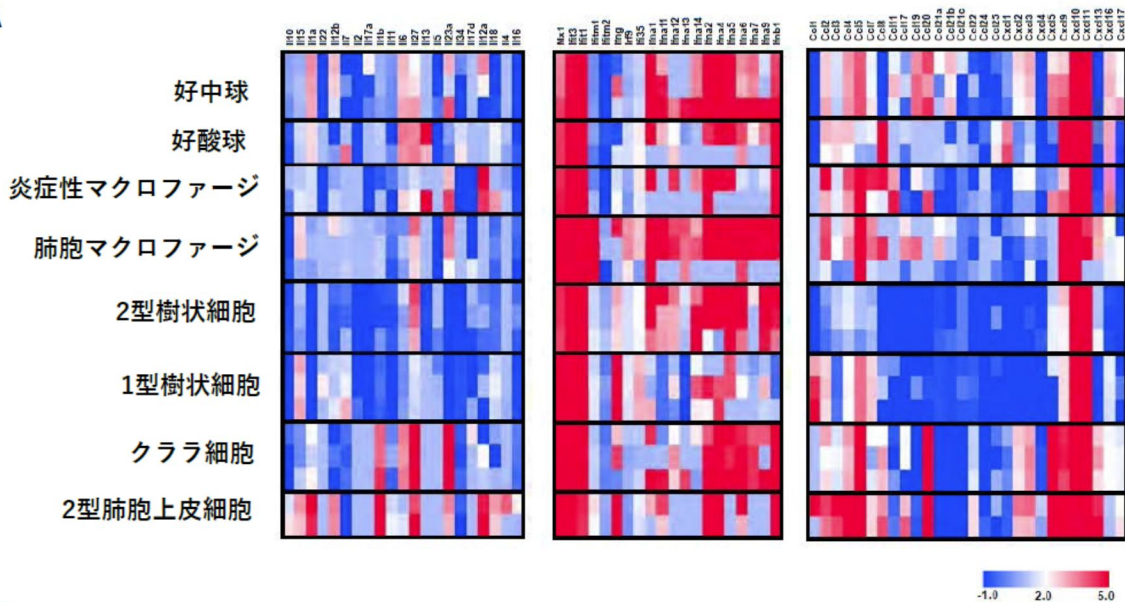
2. 研究の目的

本研究ではインフルエンザウイルス感染時における広域中和抗体産生の研究を行った。本感染組織において誘導される免疫応答や活性化 T 細胞、ウイルス特異的な中和抗体産生 B 細胞を解析することで広域中和抗体の産生メカニズムを解明し、ウイルス株を超えた感染防御能を誘導できるワクチン開発の基礎とすることを目的とする。

3. 研究の方法

インフルエンザウイルス感染において肺に誘導される免疫応答について解析するために、肺細胞のトランスクリプトーム解析とパスウェイ解析を行った。インフルエンザウイルスを感染させたマウスから肺を採取し、ウイルス感染の標的となる肺胞上皮細胞とマクロファージ、さらに好中球、好酸球、樹状細胞をフローサイトメーターにより分取し、次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行った。次に、感染と不活化ワクチンによって誘導されるウイルス抗原特異的 B 細胞の違いを解析する目的で、感染マウス肺からウイルス抗原を認識する B 細胞を、蛍光標識ウイルス抗原とフローサイトメーターにより分離、培養した。培養した B 細胞が産生する抗体がウイルス抗原に結合することを確認した後、シーケンサーを用いて抗体遺伝子 (BCR レパトア) の配列決定を行った。また、不活化ワクチンによって誘導された抗体についても同様の遺伝子解析を行い、これらの結果を比較検討した。

A



B

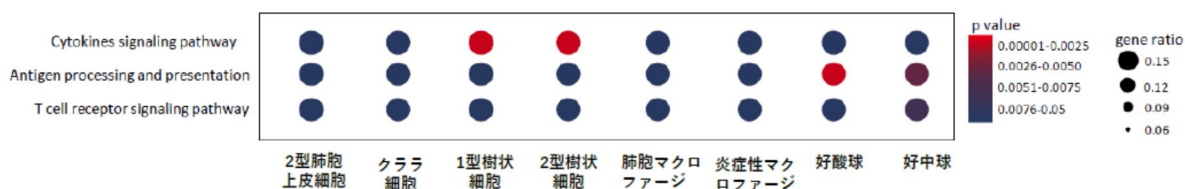


図 1. インフルエンザウイルス感染マウス肺細胞のトランスクリプトーム解析

ウイルス感染マウスより肺の上皮細胞や免疫細胞をセルソーターにより分離し、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析を行った。A) ウイルス感染による肺の各細胞におけるサイトカイン遺伝子の発現変化(Log2 Fold)。B) 2倍以上の変化が見られた遺伝子群を用いたパスウェイ解析。

4. 研究成果

肺細胞のトランスクリプトームの結果から、インフルエンザウイルス感染肺においては、炎症性サイトカインの増加と共に、T細胞やB細胞を活性化するサイトカイン遺伝子発現の顕著な上昇が認められた。ウイルス感染によって発現が上昇した遺伝子群についてパスウェイ解析をおこなったところ、それらの遺伝子の多くが樹状細胞による抗原提示やT細胞の活性化に関連するパスウェイに属していることが明らかとなった(図1)。そのため、肺の排出リンパ節において、抗体産生に重要なT細胞である濾胞性ヘルパーT細胞を解析したところ、感染後7日から10日以降において、濾胞性ヘルパーT細胞の顕著な増加が認められた。さらに、濾胞性ヘルパーT細胞の発達に障害がある遺伝子改変マウスを用いて、インフルエンザウイルス感染後の中和抗体をしらべたところ、これらのマウスでは感染株特異的な中和抗体産生は維持されているが、広域中和抗体産生能は失われていることが明らかとなった。この結果から、ウイルス感染時における濾胞性ヘルパーT細胞の活性化は広域中和抗体の産生に必須であることが明らかとなった。さらにインフルエンザウイルス感染マウスのリンパ節よりウイルス抗原特異的B細胞を分離し、その抗体の遺伝子解析と認識エピトープの解析をおこなったところ、不活化ウイルスより分離した抗体遺伝子とウイルス感染とでは、使用されている抗体の遺伝子(BCRレパトア)が異なり、感染ではウイルス株間で保存されているエピトープを認識する抗体がより誘導されやすいことが明らかとなった(図2)。これらの結果から、感染時において肺に形成される免疫環境とウイルス抗原の暴露によって、肺の排出リンパ節にウイルス特異的な濾胞性ヘルパーT細胞が誘導されることが広域中和抗体産生B細胞の誘導に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

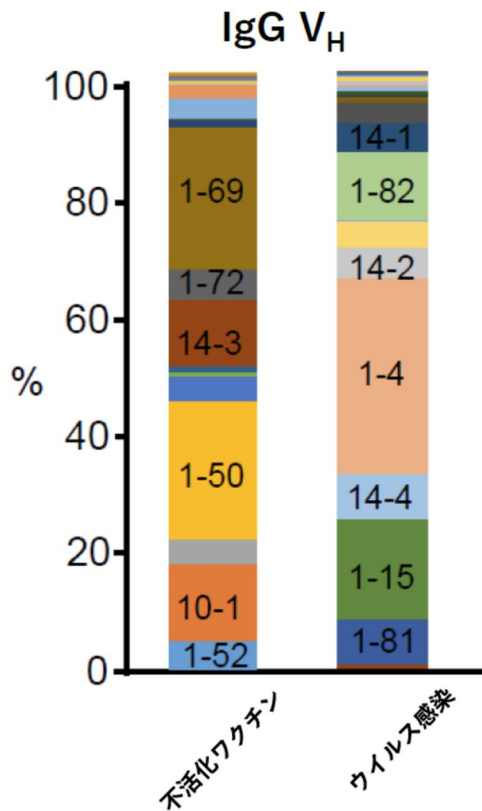


図2. インフルエンザウイルス抗原特異的B細胞におけるIgG遺伝子の解析

不活化ワクチン接種あるいはウイルス感染マウスよりウイルス抗原特異的B細胞を分離し、IgG遺伝子の配列解析を行った。決定したIgG遺伝子の配列をIMGTデータベースに照会することでBCRレパトア解析を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kubo Masato, Miyauchi Kosuke	4. 巻 41
2. 論文標題 Breadth of Antibody Responses during Influenza Virus Infection and Vaccination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Trends in Immunology	6. 最初と最後の頁 394 ~ 405
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.it.2020.03.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kosuke Miyauchi, Yu Adachi, Keisuke Tonouchi, Taiki Yajima, Yasuyo Harada, Hidehiro Fukuyama, Senka Deno, Yoichiro Iwakura, Akihiko Yoshimura, Hideki Hasegawa, Katsuyuki Yugi, Shin-ichiro Fujii, Osamu Ohara, Yoshimasa Takahashi, Masato Kubo	4. 巻 -
2. 論文標題 Influenza virus infection expands the breadth of antibody responses through IL-4 signal in B cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------