

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K07054

研究課題名(和文) 母子免疫によるHTLV-1感染予防ワクチンの検討

研究課題名(英文) Investigation of a vaccine to prevent HTLV-1 infection by mother-to-child immunization

研究代表者

相内 章 (Ainai, Akira)

国立感染症研究所・感染病理部・室長

研究者番号：10572133

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：HTLV-1の新たな感染を阻止する手段として、ワクチン接種が考えられる。HTLV-1感染はEnvタンパク質に対する抗体により中和されることから、Envタンパク質を抗原とするワクチン接種により感染防御効果が得られると期待できる。バキュロウイルス発現系による組換えEnvタンパク質(rEnv)を抗原とし、メスのBALB/cマウスにアジュバントと共に3週間隔で2回皮下接種し、さらにrEnvのみの追加ワクチン接種を行ったのちに交配を行った。出産・誕生後に母及び仔マウスから経時的に得た血清中のIgG抗体価を測定したところ、仔マウス血清は母マウス血清と比べてrEnv特異的抗体価が高いことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HTLV-1は、成人T細胞白血病(Adult T-cell leukemia: ATL)等のHTLV-1関連疾患を引き起こす。ATLの発症は1年あたりキャリア1000-3000人に1人の割合で起こり、生涯発症率は約4-5%と考えられている。マウスにおいて、バキュロウイルス発現系による組換えEnvタンパク質(rEnv)を用いたワクチン接種により、仔マウスにおいて移行抗体が認められたことから、感染防御効果が期待できる。本成果は、HTLV-1感染症を制御するワクチンの可能性を明らかにしたと考える。

研究成果の概要(英文)：Vaccination is a possible strategy for preventing new HTLV-1 infections, as HTLV-1 infection is neutralized by antibodies against the Env protein, and vaccination with the Env protein as antigen is expected to have a protective effect against infection. Female BALB/c mice were vaccinated with recombinant Env protein (rEnv) as antigen by a baculovirus expression system, subcutaneously with adjuvant twice at 3-week intervals, followed by an additional vaccination with rEnv only, and then mated. IgG antibody titers in sera obtained over time from the mother and pups after birth and birth revealed that the pups' sera had higher rEnv-specific antibody titers than the mother's sera.

研究分野：ワクチン学

キーワード：HTLV-1 ワクチン 母子免疫

## 1. 研究開始当初の背景

HTLV-1 は、HTLV-1 関連疾患として成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (Adult T-cell leukemia: ATL)、HTLV-1 関連脊髄症および HTLV-1 ぶどう膜炎を引き起こすことが知られている。これら HTLV-1 関連疾患は、HTLV-1 感染者 (キャリア) の一部でのみ発症が認められる。2008~10 年度に実施された全国的な HTLV-1 キャリア及び関連疾患の実態調査から、現在国内のキャリア数は約 108 万人と推定され、ATL の発症は 1 年あたりキャリア 1000~3000 人に 1 人の割合で起こり、生涯発症率は約 4~5% と考えられている。

HTLV-1 の主な感染経路は、授乳を介した母子感染 (垂直感染)、性感感染 (水平感染) および輸血に起因する感染の 3 つである。ATL の発症には 40 年以上の潜伏期間を要することから、垂直感染者において発症リスクが高い (平均発症年齢、約 60 歳)。ATL を発症すると異常リンパ球の急激な増加により免疫機能が低下し日和見感染症に罹りやすくなると同時に、様々な臓器への浸潤により致死的となり 2 年以内にほとんどが死亡する。国内の HTLV-1 キャリアは九州・沖縄地方を主とする南西日本に集中しており、授乳制御により新たな感染をある程度抑えることができたが、近年東京ならびに大阪での感染者が増加する傾向にあることから、授乳制御のみで HTLV-1 感染症をコントロールすることは不可能であると考えられる。

以上から、HTLV-1 キャリアにおける発症予防ならびに新たな感染を阻止するための手段として、ワクチン接種が重要であると考えられる。HTLV-1 の感染はウイルス表面の糖タンパク質である Env タンパク質に対する抗体により中和されることから、Env タンパク質を抗原とするワクチン接種により感染防御効果が得られることが期待できる。また、HTLV-1 の感染経路が授乳を介した垂直感染が主であることを鑑みると、授乳の過程で感染を抑えることが HTLV-1 感染症の制御に重要である。

## 2. 研究の目的

上述の背景から、本研究課題では、マウスを用いた HTLV-1 Env タンパク質を抗原としたワクチン接種により誘導される仔への移行抗体による感染防御効果を明らかとすることを目標とし、実際の病態に則したワクチン評価に適したマウスモデルの構築にチャレンジすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

HTLV-1 は、感染細胞と非感染標的細胞が細胞接着した際に、感染細胞から非感染細胞に感染する (感染細胞から感染性ウイルス粒子は放出されない)。生後間も無いマウスへ HTLV-1 陽性細胞を移入すると、感染に伴いウイルスゲノムが染色体上に組み込まれた状態 (プロウイルス) となるが、その後活動的なウイルス複製が起きないことが知られている。このため、マウスは HTLV-1 関連疾患の発症や病態の評価のモデルとしては適してはいないと考えられている。しかしながら、感染自体は成立する (ウイルスゲノムが染色体上に組み込まれたプロウイルス状態になる) という事実に着目し、HTLV-1 Env タンパク質を抗原としたワクチン接種により誘導される仔への移行抗体による感染防御効果を評価可能であると考えた。Env を抗原としたワクチン接種を施した母マウスから生まれた仔マウスは移行抗体が陽性、逆にワクチン未接種の母マウスから生まれた仔マウスは移行抗体が陰性となる。これら仔マウスに HTLV-1 陽性細胞 (本研究では MT-2 細胞を使用する) を移入すると、移行抗体陽性の仔マウスでは HTLV-1 ウイルスゲノムのプロウイルス化は認められず、陰性の仔マウスではプロウイルス化が認められると想定される。この事実から、感染防御効果を評価可能な生後 4 週齢の仔マウスにおいて十分な抗体応答を得るため、母子免疫による移行抗体の評価を行った。

## 4. 研究成果

HTLV-1 の新たな感染を阻止する手段として、ワクチン接種が考えられる。HTLV-1 感染は Env タンパク質に対する抗体により中和されることから、Env タンパク質を抗原とするワクチン接種により感染防御効果が得られると期待できる。バキュロウイルス発現系による rEnv を抗原とし、メスの BALB/c マウスにアジュバントと共に 3 週間隔で 2 回皮下接種し、さらに rEnv のみの追加ワクチン接種を行ったのちに交配を行った。出産・誕生後に母及び仔マウスから経時的に得た血清中の IgG 抗体価を測定したところ、仔マウス血清は母マウス血清と比べて rEnv 特異的抗体価が高いことを明らかにした。本成果は、HTLV-1 感染症を制御しうるワクチンの可能性を明らかにしたと考える。

また、感染防御効果を評価するにあたり、HTLV-1 感染細胞である MT-2 細胞を仔マウスに移入する必要がある。所属先で保管されている MT-2 細胞を用いて、仔マウスへの感染を試みたが、脾臓ならびに腸間膜リンパ節でのプロウイルスを検出することができなかった。MT-2 細胞のゲノムにはいくつかプロウイルスが存在しているが、一番感染効率の高いクローンが欠落していることが原因であることが明らかとなった。このため、感染効率の高い MT-2 細胞を入手し、仔マウスへの移入による感染を実施したところ、感染 1 ヶ月後の脾臓ならびに腸間膜リンパ節においてプロウイルス化を認めた。

さらに、プロウイルスの定量においては、対象とする各臓器から高濃度のゲノム DNA (gDNA) を調製する必要がある。これは、そもそもヒトにおいてもコピー数が多くないため、マウスでの感染実験ではコピー数が激減してしまうため、定量 PCR で検出する際に、テンプレートとしての gDNA 量を多くする必要があるためである。当初スピнкаラムを用いたキットで gDNA の調製を行っていたが、処理できる組織量が少なく、溶出液量が定められており gDNA の濃度が低くなるのが課題であった。そこで、gDNA の調製法を改めて検討し、改善することができた。

以上の成果を踏まえて、今後、ワクチン接種後の完全防御効果を改めて検討する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 相内 章、齋藤訓平、鈴木忠樹、長谷川秀樹
2. 発表標題 組換えHTLV-1 Envタンパク質のマウスにおける抗体誘導能の検討
3. 学会等名 第23回日本ワクチン学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 相内 章、齋藤訓平、鈴木忠樹、長谷川秀樹
2. 発表標題 組換えHTLV-1 Envタンパク質の免疫で誘導された移行抗体の評価
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ainai A, Saito K, Suzuki T, Hasegawa H
2. 発表標題 The immunogenicity of recombinant HTLV-1 envelope protein purified from a baculoviral expression system in mice
3. 学会等名 13th Vaccine Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤訓平、相内 章、鈴木忠樹、西山千春、長谷川秀樹
2. 発表標題 バキュロウイルス発現系による組換えHTLV-1 Envタンパク質はワクチン抗原として特異的抗体応答を誘導する
3. 学会等名 第7回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Ainai , Kumpei Saito , Tadaki Suzuki , Hideki Hasegawa
2. 発表標題 Immunogenicity of recombinant HTLV-1 Env protein purified from a baculoviral expression system as a vaccine antigen in mice
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔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