

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：21601  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2018～2020  
課題番号：18K07794  
研究課題名(和文) RSV感染症克服のための出生時母児血によるRSV各中和エピトープ抗体価の質的検討

研究課題名(英文) Qualitative study of Neutralizing and Epitope-specific Antibodies against RSV in Pairs of Maternal Blood and Cord Blood to Overcome 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) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：目的：Respiratory Syncytial ウイルス(RSV)への高い血清中和抗体価を持つ母から出生した児はRSV感染症の重症化から免れる。出生時の母児ペア血清検体を用いRSVに対する中和抗体、中和エピトープ(site0、site2a)特異抗体を測定した。  
結論：正期産でも、抗RSV抗体価が低力価の母体があり、児の感染防御に十分ではない可能性がある。高い中和活性には、site2aよりsite0に対する特異抗体の関与が示唆された。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

Respiratory Syncytial ウイルス(RSV)は乳幼児の急性呼吸不全の病因の1つであり、その疾病負担からWHOも含め全世界が克服すべく感染症の1つとしている。従って、ワクチンを含めた予防薬、治療薬は本研究の開発が切望されている。本研究の結果により、最終命題である「RSV感染症克服」を目指した、ワクチン開発、単クローン抗体開発の方向性が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Objective: Infants born to mothers with high serum neutralizing antibody titers to the Respiratory Syncytial virus (RSV) are spared from aggravation of RSV infection. Neutralizing antibodies and neutralizing epitopes (site0, site2a) -specific antibodies against RSV were measured using mother-infant pair serum samples at birth.  
Conclusion: Even in term delivery, some mothers have low anti-RSV antibody titers, which may not be sufficient to protect infants from infection. It was suggested that the specific antibody against site0 rather than site2a was involved in the high neutralizing activity.

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 受動免疫 中和抗体 特異抗体 エピトープ

## 1. 研究開始当初の背景

Respiratory Syncytial Virus (RSV)は乳幼児の下気道炎の重要な病因であり、全世界的な感染症による死亡原因としてマラリアに次いで第2位に位置し、発展途上国を中心に約25万人もの児がRSV感染症により命を落としている。特に生後一か月未満の新生児期の下気道炎による死亡の約半数がRSV感染症による(Lancet 380:2095, 2012)。本邦を含む先進国においても、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(Am. J. Respir. Crit. Care. Med. 161: 1501, 2000)。しかしながら、有効な治療薬、予防薬はなく、WHOも含め全世界が克服すべく感染症の1つとしている(Vaccine 34:190-7, 2016)。さらに、小児の喘息発症に重症RSV感染症の関与が示唆されている(Am. J. Respir. Crit. Care. Med. 171:137, 2005)。RSV感染症はウイルス増殖のピークに遅れて症状が出現、増悪する、炎症を主体とした広義の免疫病である。従って抗ウイルス薬の治療効果は期待できず、本感染症の克服には単クローン抗体による受動免疫、さらに感染症克服の最終目量であるワクチンの開発が不可欠である。現在、RSVに対するワクチンは存在せず、ヒト化単クローン抗体Palivizumab (Synagis®)のみが本感染症のハイリスク児の重症化抑制を目的に60か国以上の国々で使用されている(Pediatrics, 102: 531-537, 1998)。しかし、非常に薬価が高く、RSV感染症はすべての子どもへ重大な疾病負担にもかかわらず、投与対象が限定的である。

RSVのウイルス粒子の外套(エンベロープ)には中和活性に関連するG蛋白、F蛋白、SH蛋白のスパイク蛋白がある。これら3つの蛋白のうちF蛋白のみが細胞への感染に不可欠であり、さらにF蛋白はエピトープ部分の塩基配列がよく保存されており、中和エピトープとして適している。これまでF蛋白において4か所のエピトープ(サイトI、II、IV、(zero))が報告されている。サイトIに対する抗体の中和活性は低く、耐性変異も入りやすい。サイトIIは全世界で広く用いられているPalivizumabの抗原認識部位である。サイトIVに対する抗体の中和活性は中程度であり、ヒトメタニューモウイルス(hMPV)にも中和活性を示す。近年、4か所目としてサイト が報告された(Science 340:1113, 2013)。サイト に対するモノクローナル抗体の中和活性はPalivizumabの10-100倍であり、RSV、hMPVが属するニューモウイルス属に対して中和活性を示す抗体もある(Fukushima J Med Sci. 2017 Sep 1. doi: 10.5387/fms.2017-09)。したがってサイト を標的としたワクチン開発、単クローン抗体の臨床応用が期待されている。

RSVに対して高い中和抗体価を持つ母から生まれた児はRSV感染症の重症化から免れ(J. Med. Virol 7: 263-271, 1981)。乳幼児においても移行抗体としてRSVに対して高い抗体価の中和抗体を持つ児はRSV感染症が重症化しないことが知られており(J. Pediatr. 98:708, 1981)。この事実が今日のハイリスク児における抗RSVモノクローナル抗体投与の治療法に繋がった。また、母児間の移行抗体については、生ウイルスを用いたRSVへの中和抗体価、そして4つある中和エピトープの1つのサイトIIに対するPalivizumab様抗体価により検討されてきた(J Infect Dis 210:1582, 2014)。しかし、最も中和活性が高いとされるサイト を含む4種のエピトープに対する、新生児期の検体を用いたRSVへの中和抗体の質的評価はなされていない。

一方、「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」が、日本全国15か所の大学を中心に実施されている。エコチル調査は、妊婦10万人の参加登録のもと胎児期から出生後13年間にわたる出生コホート研究である(BMC Public Health 14: 25, 2014)。エコチル調査は母親が妊娠中に参加登録し以下の協力(生体試料の提供、質問紙への記入)により実施される。妊娠初期、中後期の詳細な生活全般に関する質問票、妊娠初期、中後期の生体試料(採血、採尿)提供、出産時の臍帯血、母体血の提供、主治医による周産期情報質問票、出生後、半年ごとに質問票(児の生活環境、児の身体・精神発育状況、児の罹患状況)。また、参加施設が独自のアイデア、独自の予算で実施する追加調査が認められている。さらに、エコチル調査で得られたデータ、生体試料は国立環境研究所で管理されるが、余剰な生体試料に関しては残余検体として参加施設が有料で買い取り保管し、使用が認められている。

当大学はエコチル調査の実施施設の1つであり約13000人の児が出生し(Fukushima J. Med. Sci 63(2), 2017)。平成29年8月現在、出生児の97%が本調査に参加している。さらに当施設では追加調査のために約4000ペアの母児(臍帯血)血を保管している。現在まで、エコチル追加調査として「小児期感染症の病原体に対する母体と臍帯血の抗体価と周産期因子の関連性について」という研究課題で検討を進めている。

## 2. 研究の目的

「RSV感染症克服」を最終命題に出生児の各種抗体保有の質的評価と周産期因子、出生後の

RSV 罹患との関連を検討し、より効果的な RSV への中和エピトープを明らかにする。

### 3. 研究の方法

エコチル調査の追加調査として、環境省および本学の倫理委員会の承認を得て実施した。エコチル調査参加者のうち、2013 年 12 月から 2014 年 6 月までに福島県内で分娩した 412 組のペア血清検体（計 824 検体）を用い、RSV への中和抗体は中和試験にて、中和エピトープ特異抗体は ELISA 法にて測定した。研究への協力意思はオプトアウト方式により確認した。

### 4. 研究成果

検体の母体年齢は中央値 30 歳（四分位範囲 18 - 45 歳）、在胎週数は 38 週（27 週 - 41 週）であった。既報に基づき、重症化予防の中和抗体価を 32 倍以上とした場合、RSV-A で 79%、RSV-B で 94%の母が十分な抗体を保持していた。抗 RSV-A 中和抗体価は、同時測定したペア検体 95 組で一致率 70%で相関していた。ペア検体では中和エピトープ特異抗体価も相関しており、中和抗体価が高力価になると site2a に比較して site0 へ抗体が誘導されている傾向があった。以上の結果より、正期産でも、抗 RSV 抗体価が低力価の母体があり、児の感染防御に十分ではない可能性がある。そして、高い中和活性には、site2a より site0 に対する特異抗体の関与が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 増山郁、橋本浩一、久米庸平、前田亮、佐藤真紀、佐久間弘子、細矢光亮
2. 発表標題 母児ペア血清検体を用いたRSウイルスに対する中和抗体と中和エピトープ特異抗体の測定
3. 学会等名 第52回日本小児感染症学会総会・学術集会
4. 発表年 2020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
研究分担者	川崎 幸彦 (Kawasaki Yukihiro) (00305369)	福島県立医科大学・医学部・准教授  (21601)	
研究分担者	細矢 光亮 (Hosoya Mitsuaki) (80192318)	福島県立医科大学・医学部・教授  (21601)	
研究分担者	藤森 敬也 (Fujimori Keiya) (80285030)	福島県立医科大学・医学部・教授  (21601)	

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
---------	---------