

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07868

研究課題名(和文) RSV感染症克服のための経年的RSV臨床分離株に対する中和抗体の質的検討

研究課題名(英文) Qualitative study of neutralizing antibodies to clinical isolates of RSV over time 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) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Respiratory Syncytial ウイルス(RSV)感染症には多くの人が使用できるワクチンや抗体などの有用な予防薬はありません。近年、科学の発展によりRSVの構造がよく解明されたおかげで、新たな予防薬が開発され、全世界で使用されるようになりました。この研究ではRSV感染症の小児から得られたウイルスや健康成人の血清を用いて、予防薬が効き難いウイルスの変異について調べました。その結果、ある特定の抗体に効き難くなるウイルスの変異が日本でも広がっていることが分かりました。また、RSV感染症の発症や重症化の予防に係わっている抗体の中でも特に重要な因子があることが分かりました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ウイルス含む微生物に対して有効な薬剤が開発されると、薬剤が効かない微生物が新たに現れたり、広く蔓延することがあります。RSVも同様です。今回の結果が、すぐに現在利用可能なRSVへの予防薬には当てはまりませんが、RSVウイルスの継続的なモニタリングが重要であることを示しています。継続的なモニタリングにより、RSVへの予防薬を有効に用いることが出来ます。

研究成果の概要(英文)：Respiratory Syncytial Virus (RSV) infections do not have useful prophylactics such as vaccines or antibodies available to most people. In recent years, advances in science have led to a better understanding of the structure of RSV, which has led to the development of new prophylactic drugs and their use worldwide. In this study, viruses from children with RSV infection and sera from healthy adults were examined for viral mutations that make prophylactics ineffective. The results showed that viral mutations that make certain antibodies less effective are widespread in Japan. We also found that some factors are particularly important among the antibodies involved in the prevention of the onset and severity of RSV infection.

研究分野：小児科学

キーワード：RSV F蛋白 中和エピトープ 中和抗体 塩基配列 アミノ酸配列

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。2010年における全世界での1歳未満の急性下気道炎による死亡の1/3を占め、感染症による死亡原因としてはマラリアに次いで2位に位置し、開発途上国を中心に約25万人がRSV感染症により命を落としている。早産、慢性肺疾患、先天性心疾患、免疫不全を有する児において重症化リスクが高く、正期産児であっても母からの移行抗体の存在する出生後早期から感染し、生後1歳までに50%以上が、2歳までにほぼ100%がRSVに初感染する。2歳までのRSV感染児のうち1-2%が入院し、その内、明らかなリスクのない児であっても4-15%が集中治療を要する。従って、これらの疾病負担からWHOも含め全世界が克服すべき感染症の1つとしている。感染症克服の最終目標はワクチン開発である。1960年代にRSVワクチンの臨床試験失敗を起点とし、その後、基礎研究、臨床研究が重ねられてきた。

近年、構造生物学の発展によりRSVのF蛋白には構造的に不安定な prefusion タイプ(pre-F)と安定した postfusion タイプ(post-F)があることが報告された。ヒト由来の血清をpre-Fで吸着処理すると、RSVへの中和活性が90%以上減少するが、post-Fで吸着処理すると30%程度にとどまり、RSVの自然感染により誘導される抗体のほとんどがpre-Fに対する抗体であることが示されている。現在、F蛋白に存在するおもな中和エピトープとして6か所(I、II、III、IV、V、 \emptyset (zero))のsiteが知られ、各エピトープの中和活性は $I < II < IV < III < V < \emptyset$ の順である。V、 \emptyset はpre-Fにのみ存在し、その他はpre-F、post-Fに存在する。

site IIは、現在全世界で広く使用されている抗RSVヒト化単クローナル抗体(mAb)であるpalivizumabの抗原認識部位である。一方、site \emptyset に対する抗体の中和活性は抗site II抗体より10-100倍高くヒト血清中のRSVへの中和活性の中核を成すことが明らかとなりnirsevimabが開発された。こうした中で、pre-F蛋白、site \emptyset を主な標的とした単クローン抗体、ワクチン開発がすすめられ、さらに、site IVを標的としたclerovimab、そしてsite Vを標的としたsuptavumabの臨床試験も進行中である。いずれも臨床効果の高い抗RSV単クローン抗体である。

しかし、RSVは2つのサブタイプ、各々10種を超える遺伝子型が存在し流行に関与しているため、数シーズンで評価されたワクチン、抗体医薬品がRSV感染症に広く効果を示すかが課題である。

2. 研究の目的

経年変化するRSVの臨床分離株への中和活性と中和エピトープの遺伝子配列の変化を明らかにし、中和エピトープの質的評価をする。

3. 研究の方法

1) RSV臨床分離株の中和活性の評価

健康成人92人の血清中の各中和エピトープ(site \emptyset 、I、II、III、IV、V、および \emptyset)へのエピトープ特異抗体(ESA、Epitope Specific Antibody)を新たに確立した競合ELISA法を用いて測定した。さらに、培養細胞のHEp-2細胞を用い、国際標準血清を用いた中和試験により各血清中の中和抗体量(IU/ml)を算出した。得られた各ESA量を説明変数、RSV中和抗体量を目的変数として重回帰分析を行い、各ESAの様々なRSV株への中和抗体価に対する効果量(標準化偏回帰係数)を推定した。

2) RSV臨床分離株の遺伝子配列の変化の検討

2008-2023年にRSV感染症の児の臨床検体から分離されたRSV-A 147株とRSV-B 83株について、シーケンシングにより塩基配列の決定し、アミノ酸配の解析によりF蛋白アミノ酸変異株の同定をした。なお、それぞれのエピトープの解析した塩基配列の範囲はsite (254-277)、site (55-61, 146-194, 287-300)、site \emptyset (62-69, 196-212)である。

4. 研究成果

- 1) site 特異mAb低感受性RSV(L172Q/S173L変異株)の NT_{50} (50%中和抗体価)はsite 特異mAb感受性RSVの NT_{50} よりも有意に低かった($p < 0.001$)。また、site へのESA量はsite 特異mAb感受性RSVの NT_{50} と有意な関連を認めたが(効果量0.23、 $p = 0.049$)、site 特異mAb低感受性RSVの NT_{50} とは有意な関連が認められなかった(効果量-0.03、 $p = 0.816$)。RSV-A流行株の NT_{50} に対するESA量の効果量は、単変量解析ではsite が最も大きく0.54であり、site 0.53、site \emptyset 0.47、site 0.44、site 0.40と続き(すべて $p < 0.001$)。さらに多変量モデルでは、site ($p = 0.027$)とsite \emptyset ($p = 0.014$) ESA

量が有意な関連を認めた。

- 2) RSV-A と RSV-B のアミノ酸変異は site でそれぞれ 3 株、1 株、site でそれぞれ 10 株、76 株、site 0 でそれぞれ 0 株、35 株で認められた。RSV-B は 2016 年頃から suptavumab (site V 特異的モノクローナル抗体) 耐性変異株に置き換わっていた。Nirsevimab (site 0 特異的モノクローナル抗体) 耐性変異株は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mashiyama Fumi, Hashimoto Koichi, Norito Sakurako, Okabe Hisao, Sato Akiko, Kume Yohei, Maeda Ryo, Sato Maki, Sato Masatoki, Kyojuka Hyo, Fujimori Keiya, Nishigori Hidekazu, Shinoki Kosei, Yasumura Seiji, Sakuma Hiroko, Hosoya Mitsuaki	4. 巻 14
2. 論文標題 Neutralizing and Epitope-Specific Antibodies against Respiratory Syncytial Virus in Maternal and Cord Blood Paired Samples	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 2702 ~ 2702
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/v14122702	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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
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	郷 勇人 (Go Hayato) (30443857)	福島県立医科大学・医学部・講師 (21601)	
研究分担者	佐藤 晶論 (Sato Masatoki) (60423795)	福島県立医科大学・医学部・准教授 (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
---------	---------