

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08192

研究課題名（和文）ユニバーサルインフルエンザワクチンの実用化に向けたヒト交差防御抗体の性状解析

研究課題名（英文）Characterizing human cross-protective antibodies for a universal influenza vaccine

研究代表者

安達 悠（Adachi, Yu）

国立感染症研究所・治療薬・ワクチン開発研究センター・主任研究官

研究者番号：40749016

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）：本研究では、抗原変異インフルエンザウイルスにも有効なユニバーサルワクチン開発に向け、ヒト交差防御抗体の性状解明を目的として研究を進めた。その結果、ヒト交差防御抗体であるLAH31は、ヘマグルチニン抗原の膜融合型構造においてのみ形成される抗原エピトープを認識するというユニークな結合性が明らかとなった。さらに、LAH31の交差結合には抗体軽鎖遺伝子における変異挿入が重要であることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗原変異インフルエンザウイルスにも有効な交差防御抗体の誘導を目的としたユニバーサルインフルエンザワクチンの社会的妖精は高い一方、いまだその実用化は達成されていない。本研究では、臨床応用が進められている新規ワクチンの主な誘導ターゲットであるヒト交差防御抗体の結合様式および交差結合性の獲得機序を明らかとしたことで、今後の新規ワクチンのヒト応用および実用化へと繋がると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to clarify the properties of human cross-protective antibodies for developing a universal vaccine that is effective against antigenically mutated influenza viruses. As a result, we found that the human cross-protective antibody, named LAH31, recognizes to an epitope formed only in the membrane fusion structure of the hemagglutinin antigen. Furthermore, we found that mutation insertion in the antibody light chain gene of LAH31 is important for acquiring broad cross-reactivity.

研究分野：免疫学

キーワード：交差防御抗体 インフルエンザウイルス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ワクチン接種により誘導される防御抗体は、ウイルス感染に有効な対抗手段であるが、インフルエンザウイルスは抗原変異によって防御抗体の監視から容易に回避してしまう。近年、抗原変異ウイルス株にも有効な“交差防御抗体”という新しいタイプの抗体が同定された。さらに分子構造学的解析から、ウイルス表面抗原ヘマグルチニン(HA)に、変異が起こりづらい“共通エピトープ”が見出された。

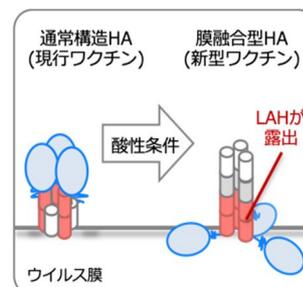
現在、このウイルスのアキレス腱とも呼べる共通エピトープに対する交差防御抗体の誘導を目的としたユニバーサルワクチン開発が世界で精力的に進められている。しかしながら、それらワクチンの実用化は未だに達成されていない。

一方、我々もウイルス感染マウスモデルによって得られた知見から新規ユニバーサルワクチンシードの開発に至った(図1)。“膜融合型 HA ワクチン”と名付けたこのワクチンシードは、現行ワクチン抗原を酸性処理することで比較的簡便に作製でき、接種したマウスに交差防御能を付与することが明らかとなった。

マウスへの膜融合型 HA ワクチン接種では、HA 抗原ステム領域の LAH (Long Alpha Helix) と呼ばれるエピトープ(抗原の抗体部位)に結合する抗体が主に誘導されていた。

さらに、ヒト PBMC を移入したヒト化マウスに膜融合型 HA ワクチンを接種することによって LAH 抗体を誘導可能であることが示された(引用文献)。

これらの結果から、膜融合型 HA ワクチンは日本発のユニバーサルワクチンとなることが期待されるが、ヒトにおける LAH 抗体レパトアの性状については未だ未解明な点が多い。



2. 研究の目的

本研究では、ヒト LAH 抗体の内でも優れた交差結合性を発揮する抗体クローンは、1) どのような結合様式で抗原を認識し、2) どのように交差結合性を獲得しているのか? という問いに答えることで、新規ワクチンのターゲットである LAH 抗体の性状を明らかとすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 交差結合性の優れたヒト LAH 抗体の選別

以前の研究(引用文献)においてヒト末梢血中のメモリーB細胞から単離した LAH モノクローナル抗体をスクリーニングし、交差結合性に優れたクローンを選別する。選別した抗体クローンの抗原結合様式を結晶構造解析により明らかとする。

(2) 交差結合性の獲得に重要な抗体変異の同定

得られた構造データから、交差結合性の獲得に重要と考えられる抗体の点突然変異(Somatic hypermutation; SHM)を変異前に戻した置換体を作製し、交差結合性への影響を検証する。

4. 研究成果

(1) 交差結合性の優れたヒト LAH 抗体の選別

A型インフルエンザ HA 抗原は多様性に富むが大きく group1 と group2 に分けられ、この group を交差して結合する抗体の存在頻度は低い。そこでまず初めに、ヒトで流行を繰り返す group1 の H1 株と group2 の H3 株に対して交差結合性の優れたヒト LAH 抗体クローンの選別を行った。その結果、H1/H3 に対して優れた交差結合性を発揮するヒト LAH 抗体クローン LAH31 を見出した(図1)。

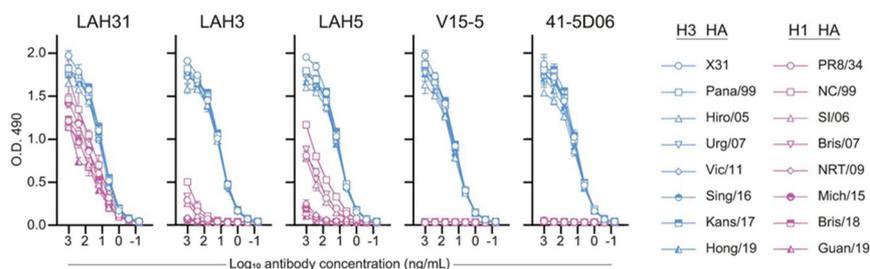


図1 H1/H3 株由来 HA 抗原に対するヒト LAH 抗体の結合性

この LAH31 の A 型インフルエンザウイルス H3N2 (X31 株) と H1N1 (A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019) の致死性感染に対する感染防御効果をマウスモデルにおいて検証した結果、両者のウイルス感染に対して、PBS コントロール群と比較して優れた感染防御効果が確認された (図 2)。

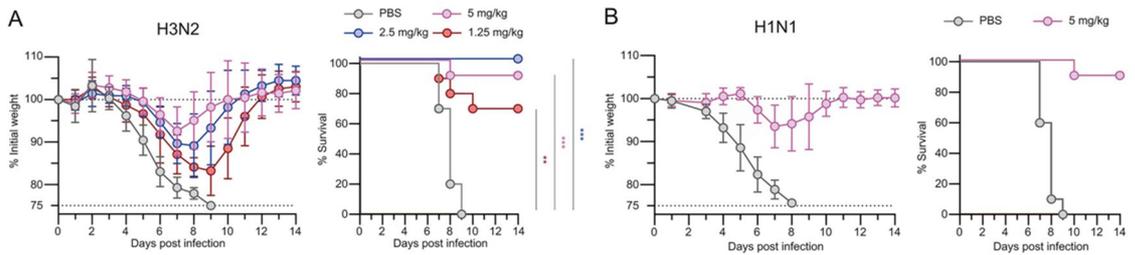


図 2 LAH31 による感染防御効果。(A) H3N2 (X31 株) (B) H1N1 (A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019)

そこで LAH31 の HA 抗原結合領域を明らかとするために、HA 抗原 LAH 領域のオーバーラッピングペプチドに対する結合性を確認した結果、100-114 ペプチドにのみ結合性を発揮した (図 3 A)。HA 抗原は感染過程において膜融合構造 (post-fusion 構造) へとその構造を劇的に変化させることが知られているが、この LAH 領域 (100-114) は、膜融合以前の HA 抗原構造 (pre-fusion 構造) では内部に隠されているが、膜融合構造になることで露出する部位であった (図 3 B)。さらに詳細な結合性を確かめるために結晶構造解析を行った結果、LAH31 のエピトープは pre-fusion HA 構造には存在せず、結合不可能であることが明らかとなった (図 3 C)。

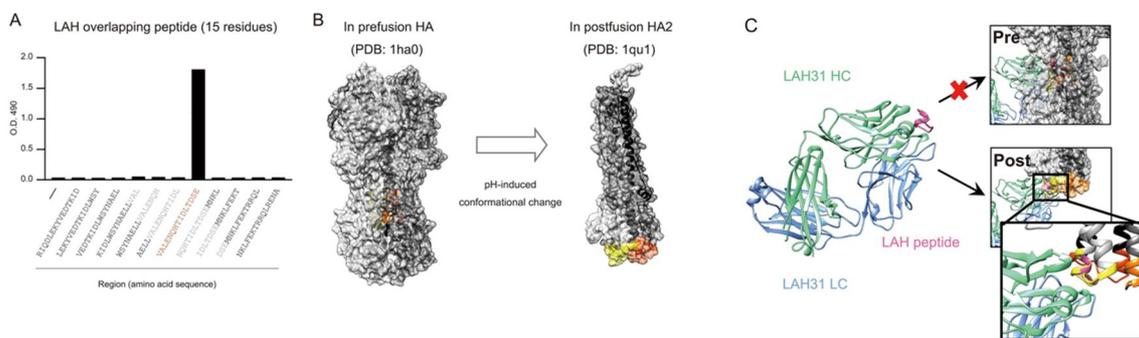


図 3 LAH オーバーラッピングペプチドによる LAH31 結合部位の検証。(A) オーバーラッピングペプチド結合性。(B) 膜融合以前の HA 抗原構造 (pre-fusion 構造) と膜融合構造 (post-fusion 構造) における結合部位。(C) 結晶構造解析による LAH31 の抗原結合様式

以上から、優れた交差結合性を発揮するヒト抗体 LAH31 は、ウイルス感染過程にのみ形成される抗原領域を認識するというユニークな結合様式を示すことが明らかとなった。

(2) 交差結合性の獲得に重要な抗体変異の同定

次に LAH31 がどのように交差結合性を獲得しているかの解明を目指した。

そこでまず初めに A 型インフルエンザ 18 種に対する結合性を検証した結果、LAH31 は全ての group2 HA と、H8/9/11/12/13/16 を除く group1 HA に強い結合性を示した (図 4)。このように LAH31 はこれまでヒトにおいて感染が確認されている HA サブタイプ (H1/2/3/5/6/7/9/10) のほぼ全てに結合性を示すことが明らかとなった。

また、group1 における結合性の可否は、HA 抗原のアミノ配列 (105, 106, 110) に偏りが見られ、これらの違いが LAH31 の結合を決定付けていることが示唆された。

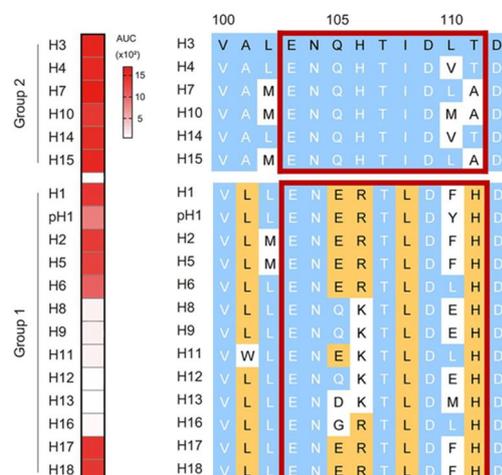
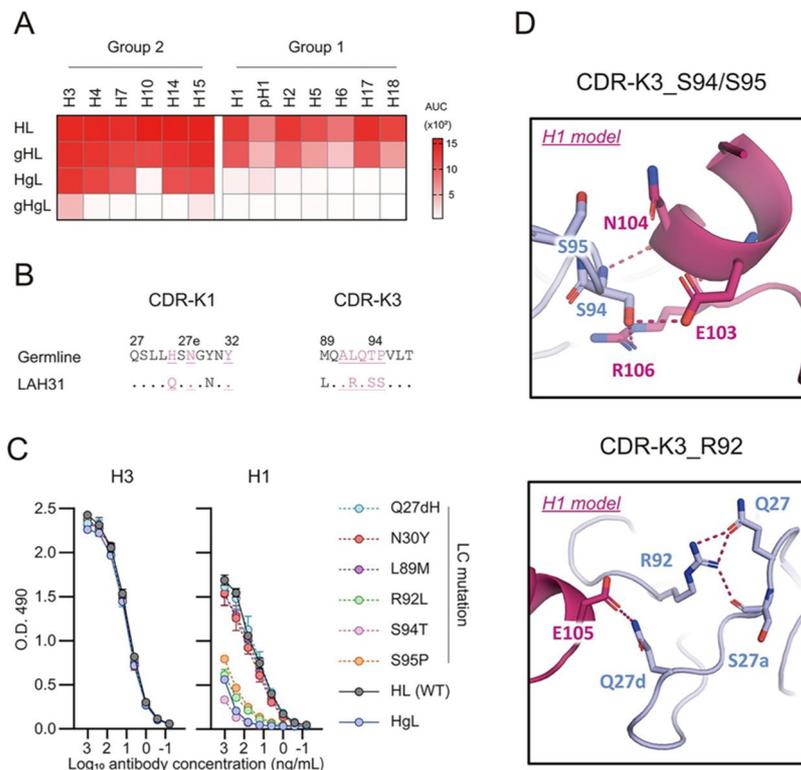


図 4 LAH31 の A 型 HA に対する結合性

最後に LAH31 抗体におけるアミノ酸変異の交差結合性における影響を検証するために、重鎖・軽鎖をそれぞれ変異前 (germ-line 型) に戻した置換抗体を作製した。その結果、交差結合性の獲得には主に軽鎖への変異挿入が重要であることが示唆された (図 5 A)。

その軽鎖への変異挿入の効果を検証するために、結合に関与する軽鎖への変異をひとつずつ germ-line 型へ戻した置換体を作製し、交差結合性への影響を詳細に検証した。その結果、全ての置換体において H3 HA に対する結合性は変化が見られなかった一方、H1 HA に対しては 92/94/95 番目のアミノ酸を戻した置換体において結合性の減弱が観察された (図 5 B,C)。LAH 31 軽鎖 92/94/95 変異の H1 結合性における寄与を、構造データから H1 HA モデリングによって考察した。その結果、軽鎖 94/95 変異は直接的に、92 変異は間接的に HA 結合性に寄与していることがそれぞれ示唆された。



以上から、新規ユニバーサルワクチンシイズである膜融合型 HA ワクチンの誘導ターゲットであるヒト LAH 抗体において、優れた交差防御活性を示す抗体クローン LAH31 は、(1) HA 抗原の膜融合型構造を特異的に認識するユニークな結合性を示し、(2) 抗体軽鎖への変異挿入により交差結合性を獲得していることが明らかとなった (引用文献)。

本研究助成により得た結果は、膜融合型 HA ワクチンの臨床応用を進める上で重要な科学的知見を提供できたと考えられ、今後さらなる進捗と実用化に繋がる礎になることが期待される。

引用文献

Yu Adachi, Keisuke Tonouchi, Annon Nithichanon, et al., Exposure of an occluded hemagglutinin epitope drives selection of a class of cross-protective influenza antibodies. *Nature communications* (2019) 10(1) 3883.

Keisuke Tonouchi, Yu Adachi, Tateki Suzuki, et al., Structural basis for cross-group recognition of an influenza virus hemagglutinin antibody that targets postfusion stabilized epitope. *PLoS Pathogens*, (2023) 19(8):e1011554

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Miyuchi Kosuke, Adachi Yu, Tonouchi Keisuke, Yajima Taiki, Harada Yasuyo, Fukuyama Hidehiro, Deno Senka, Iwakura Yoichiro, Yoshimura Akihiko, Hasegawa Hideki, Yugi Katsuyuki, Fujii Shin-ichiro, Ohara Osamu, Takahashi Yoshimasa, Kubo Masato	4. 巻 12
2. 論文標題 Influenza virus infection expands the breadth of antibody responses through IL-4 signalling 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) 10.1038/s41467-021-24090-z	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 -

1. 著者名 Tsunetsugu-Yokota Yasuko, Ito Sayaka, Adachi Yu, Onodera Taishi, Kageyama Tsutomu, Takahashi Yoshimasa	4. 巻 17
2. 論文標題 Saliva as a useful tool for evaluating upper mucosal antibody response to influenza	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	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) 10.1371/journal.pone.0263419	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 -

1. 著者名 Tonouchi Keisuke, Adachi Yu, Suzuki Tateki, Kuroda Daisuke, Nishiyama Ayae, Yumoto Kohei, Takeyama Haruko, Suzuki Tadaki, Hashiguchi Takao, Takahashi Yoshimasa	4. 巻 19
2. 論文標題 Structural basis for cross-group recognition of an influenza virus hemagglutinin antibody that targets postfusion stabilized epitope	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1011554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1011554	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
---------------------------	-----------------------	----

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