

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19591266

研究課題名(和文)人工ヒト型抗ロタウイルス中和抗体を利用した、感染防御・治療法の開発

研究課題名(英文) Research and development of therapeutic antibodies against human rotavirus infection.

研究代表者

守口 匡子(MORIGUCHI KYOKO)

藤田保健衛生大学・医学部・講師

研究者番号：60298528

研究代表者の専門分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児感染症学

1. 研究計画の概要

(1)多種の HRV 株を中和可能な、高力価で広い交叉反応性を示す抗体を、AIMS4 等複数のヒト型ファージ抗体ライブラリーから単離する。あるいは、単離された抗体に変異を導入して、高力価化を計る。

(2)ヒトの抗 HRV 中和抗体が認識するエピトープを同定する。

(3)マウスのモデル実験系を用い、単離された抗体による受動免疫効果を検討する。

(4)乳酸菌による、安定的なヒト型抗体の持続的発現系を樹立する。

2. 研究の進捗状況

(1)AIMS4 ライブラリーより、3 タイプ 12 クロウンの中和抗体を単離した。それらのうち、交叉反応性中和抗体は 2 タイプ 11 クロウンであった。続いて、上記ライブラリー以外の 2 つのライブラリーを用いてスクリーニングを試みたが、十分な中和活性を有する抗体は単離されなかった。また、変異導入による高力価化は見られなかった(低力価化した)。

(2)代表的な 3 クロウン 1-2H、2-3E、および 2-11G に関して、更に詳細な解析を行った結果、1-2H と 2-3E がそれぞれ P[4] と P[8]、P[6] と P[8] の交叉反応性中和抗体、2-11G が G1 特異的中和抗体であることが判明した。

(3)1-2H、2-3E、および 2-11G が認識する中和エピトープの同定を行った結果、それぞれ VP4 (VP8 領域) の第 170 アミノ酸、VP4 (VP8 領域) の第 203 アミノ酸、VP7 の第 149 アミノ酸であることが判明し、これまでに報告のあるマウス抗 HRV 中和抗体のものとなっていた。従って、これら 3 つのエピトープはヒト抗体

特異的なものとして、HRV ワクチンデザイン等の観点から重要と考えられる。

(4)上記 3 クロウンの受動免疫効果を、健常マウスのモデル実験系を用いて解析した結果、HRV による下痢発症が、抗体投与群で顕著に抑制され、予防や治療に応用できることが示唆された。

(5)HRV 感染の場合である腸管におけるヒト型抗体の持続的発現を目指し、乳酸菌によるヒト型抗体発現系の開発を試みた。試みた 3 クロウン 1-2H、2-3E、および、2-11G のうち、1-2H でのみ抗体分子の発現とそれらによる中和活性が確認できたが、残り 2 クロウンは、発現した抗体の著しい分子分解が生じており、十分な中和活性を確認することはできなかった。

3. 現在までの達成度

③やや遅れている。

(理由)

現在までに単離された抗 HRV 中和抗体は、3 タイプ 12 クロウンのみであり、その後 2 つのライブラリーを用い、各々 2 度スクリーニングを行ったが、十分な中和活性を有する新たな抗体は単離されなかった。受動免疫効果については、単離された中和抗体の代表的な 3 クロウンの下痢発症抑制効果が、健常マウスのモデル実験系で確認された。更に、抗体の単離・解析の過程で得られた突然変異体は、中和活性が失活しており、変異導入による高力価化には成功していない。乳酸菌による抗体発現系の開発も、その安定性は抗体のアミノ酸配列に左右されることが大きく、課題が残る。

4. 今後の研究の推進方策

共同研究者が保有するヒト型ファージ抗体ライブラリーからは、現在までに単離された抗体以上に、広い交叉反応性や高い中和活性を有する抗体を単離するのは、非常に困難と判明しつつある。今後は、抗体分子の分解が生じないプロテアーゼ遺伝子ノックアウト株を樹立する等、乳酸菌を用いた人工ヒト型抗体の安定的な発現系の開発を継続すると同時に、免疫不全(SCID)マウスのモデル実験系を用い、抗HRV中和抗体による受動免疫効果の確認を行いたい。加えて、同じく冬季に流行するウイルス性胃腸炎の病原として同定された、ノロウイルスに対する中和抗体の単離も視野に入れ、研究の推進を図りたい。

5. 代表的な研究成果

該当するもの無し。