

免疫プロトコルによるデングウイルス ED3 の免疫原性変化

黒田研究室

学籍番号: 17251064

堀 秀俊

[背景・目的]

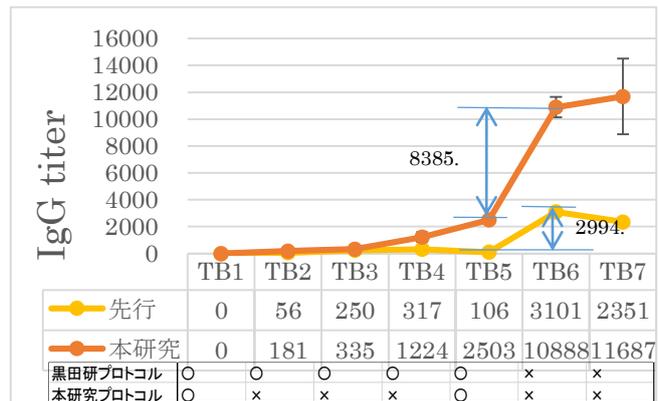
新型コロナウイルスの流行により、感染症に対する安全で効果の高いワクチン開発の重要性が再確認されている。ワクチンの効果を高める研究の中に免疫プロトコルの最適化があり、抗原投与回数を増やすことによって IgG 抗体産生量が減少するという先行研究^[1]も存在する。これらの知見から、抗原投与回数を減らすことで、抗体価が上昇するという仮説を立てた。このようなプロトコルの変更による本実験のモデルタンパク質 (3 型デングウイルス由来エンベロープタンパク質第 3 ドメイン (D3ED3)) に対する免疫応答強度や、長期免疫記憶に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、研究を行った。

[手法]

D3ED3 の野生型 (以下、D3wt) を用い、DLS (動的光散乱) 測定や CD (円偏光二色性) 測定によって物性を確かめた。その後免疫応答をみるためにこれを Jcl:ICR マウスに 30 μg/回投与した。週 1 回の間隔で合計 5 回投与を行う当研究室従来のプロトコルを 0, 35 日目の 2 回に変更し、マウス尾静脈より得られる血清中の抗 D3wt IgG の抗体価を ELISA 法を用いてモニタリングした。また、2 回の投与による長期免疫記憶を確認するため、3 回目の投与 (126 日目) を行い、脾臓より抽出したメモリー T 細胞の割合を、フローサイトメトリー法を用いて算出した。

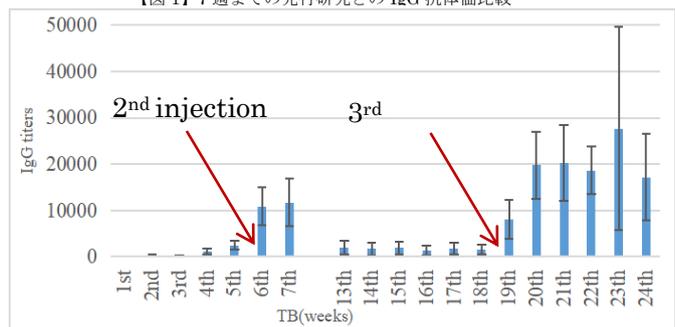
[結果・考察]

マウスを用いた免疫実験の結果を図 1 に示す。従来のプロトコルと比較して、2 回目の抗原投与後、大きく抗体価が上昇していることがわかる (図 1)。その IgG 上昇量が 8385.1、先行研究の対応する週の上昇量が 2994.6 と、本研究のほうが約 2.8 倍も効果が高いことが示された。



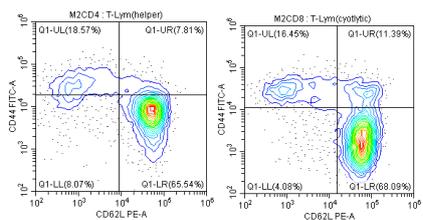
【図 1】 7 週までの先行研究との IgG 抗体価比較

また、126 日目に行った D3wt 投与においても大きな抗体価の上昇が確認できたことから、2 回のインジェクションでも長期免疫記憶には効果があることが確認された (図 2)。これらのことから、D3ED3 のようなタンパク質においても、投与回数を減らすことで抗体価は上がることが確認された。



【図 2】 長期的な IgG titer の変遷

最後に、フローサイトメトリーの結果を図 3 に示す。セントラルメモリーとなる CD44, 62L の両方を発現している T 細胞の割合は、ヘルパー T 細胞 (CD4⁺) では 7.81%、キラー T 細胞 (CD8⁺) では 11.39%であった。従来プロトコルのセントラルメモリー T 細胞の割合は、ヘルパー T 細胞で 4.65%、キラー T 細胞で 2.89%であったため、投与回数の減少は免疫記憶を増強することにも効果があることが示された。[1] J G Hu, *et al.*, (1990) *chem pharm bull*, 38



【図 3】 フローサイトメトリー結果