

L1211-2	デングウイルス 3 型エンベロープタンパク質ドメイン III の安定性が 免疫原性に及ぼす影響				
	氏名	田中 優愛	主査	黒田	副査

背景 組換えタンパク質ワクチンは不活化ワクチンや弱毒生ワクチンと比較して安全性が高い一方で、抗原サイズが小さいことから免疫原性が低くなりやすい。アジュバントの使用により免疫原性は向上するものの、副作用が問題となる場合がある。このような背景から、オリゴマー化や VLP (Virus-Like Particles: ウイルス様粒子) により抗原のサイズを大きくすることで免疫原性を向上させる手法などが提案されてきた。また近年、抗原そのものの安定性が免疫原性に影響を与えることが報告されている。本研究では、デングウイルス 3 型エンベロープタンパク質ドメイン III (D3ED3) をモデル抗原として、少数のアミノ酸置換を導入した 4 つの変異体、D3ED3-IA、D3ED3-VMIA、D3ED3-VMITIA、D3ED3-CACA を設計し、それらの生物物理化学的特性と免疫応答との関係を探索した。

手法・結果 DLS 測定より、I380A 変異を持つ D3ED3-IA、D3ED3-VMIA、D3ED3-VMITIA は単量体の流体力学的半径を示し、D3ED3 は二量体、D3ED3-CACA は会合体を形成していると考えられる(図 1A)。さらに CD および DSC 測定から、安定性は D3ED3 > D3ED3-IA > D3ED3-VMIA > D3ED3-VMITIA > D3ED3-CACA の順で低下し(図 1B)、この傾向は生化学的安定性とも概ね一致した(図 1C)。免疫実験の結果、D3ED3-IA を除くすべての変異体で抗体産生が誘導され、予想に反し、D3ED3-CACA が最も高い抗体価を示した。単量体群内では、安定性の高い D3ED3-IA は免疫原性を示さず、D3ED3-VMIA および D3ED3-VMITIA は免疫原性を示した(図 1D)。この結果は、不安定な抗原ほど抗原提示細胞により効率的にプロセッシングおよび提示される可能性があるという仮説を支持する。さらに D3ED3 および D3ED3-CACA をアジュバントと共に免疫した条件では、幾何平均抗体価に大きな差は見られなかった(図 1E)一方で、D3ED3-CACA は D3ED3 と比較して 10 倍以上高い中和抗体価を示した(図 1F)。

結論 本研究の結果は、構造安定性と会合状態が免疫応答に影響を与えることを示している。特に、D3ED3 における S-S 結合の除去が、より強い中和活性を誘導することを明らかにした。総じて、本研究は抗原の構造安定性や会合状態の調節がワクチン抗原設計における重要な要素である可能性を示すとともに、S-S 結合の除去がワクチン抗原設計において有効な戦略となり得ることを示唆している。

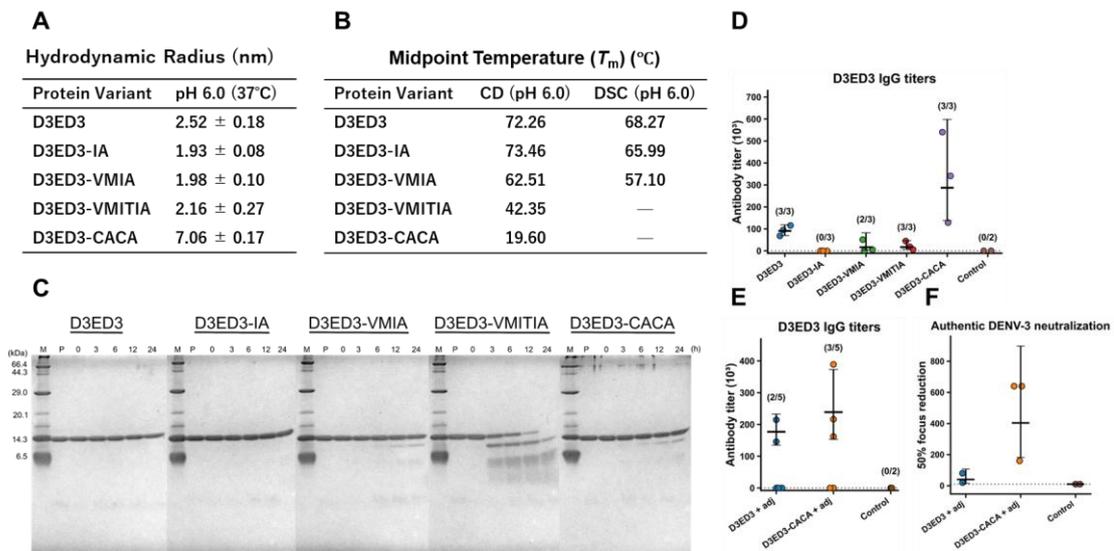


図 1. 生物物理化学特性および免疫応答の結果

(A) DLS から算出した流体力学的半径、(B) 熱変性測定より算出した融解温度、(C) トリプシンによる限定分解、(D) (E) ELISA による抗体価、(F) デングウイルス 3 型に対する中和能