



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Heterosubtypic antiviral activity of IgA antibodies against influenza A virus hemagglutinins [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	村松, 美笑子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11286号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56201
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mieko_Muramatsu_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：村松 美笑子

審査委員	主査	教授	高	田	礼	人
	副査	教授	鈴	木	定	彦
	副査	教授	澤		洋	文
	副査	准教授	迫	田	義	博

学位論文題名

Heterosubtypic antiviral activity of IgA antibodies against influenza A virus hemagglutinins
(A 型インフルエンザウイルスヘマグルチニン特異 IgA 抗体の
亜型間交差抗ウイルス活性)

A 型インフルエンザウイルスはエンベロープ表面に存在する二種類の糖蛋白質 Hemagglutinin (HA) および Neuraminidase (NA) の抗原性によって亜型に分類される。本ウイルスの自然宿主である野生水禽からこれまでに分離されたウイルスの HA は H1-H16、NA は N1-N9 の亜型に分けられている。A 型インフルエンザウイルスに対する中和抗体の殆どは HA 亜型特異的であり、同一の HA 亜型のウイルスにのみ中和活性を示す。一方、不活化ウイルスを鼻腔内に投与し粘膜免疫を誘導したマウスでは、異なる複数の亜型のウイルスに対する交差感染防御が成立することが報告されている。この亜型間交差感染防御は B 細胞依存性であり、経鼻免疫で誘導される IgA が関与していると考えられている。本研究では、HA 亜型間交差感染防御免疫における IgA 抗体の役割を解明するために、HA 特異的 IgA および IgG 抗体の交差反応性および抗ウイルス活性を比較解析した。

第一章では、不活化ウイルス（H1、H3、H5、H7、H9 および H13 亜型）を鼻腔内または皮下に接種したマウスの血清、気管肺胞洗浄液および鼻腔洗浄液中の IgA および IgG 抗体の特異性を解析した。異なる亜型の HA への交差結合性を enzyme-linked immunosorbent assay で調べた結果、免疫経路および抗体のアイソタイプに関わらず複数の亜型の HA に交差反応する抗体が誘導されることが明らかとなった。交差反応が認められた HA 亜型は、HA のアミノ酸配列に基づいた系統樹上で免疫原と近縁な亜型に多い傾向が認められた。IgA は経鼻接種群でのみ高い産生が認められた。しかし、これらの抗体はウイルス中和試験（ウイルスの細胞侵入を阻害する抗体を検出する）において、免疫原とは異なる HA 亜型のウイルスに対する交差活性を示さなかった。そこで本研究では、感染細胞からウイルス粒子が放出される過程を抗体が阻害する可能性に着目した。予めウイルスに感染させた MDCK 細胞を抗体存在下で培養しプラック形成を調べた結果、交差結合性 IgA 存在下での

み顕著にブラック形成が阻害されることが明らかとなった。以上の結果から、交差結合活性を有するが通常の中和活性を持たない IgA が亜型間交差感染防御免疫に関与する可能性が示唆された。

第二章では、HA 分子上の同じエピトープを認識する IgA および IgG モノクローナル抗体を用いて抗ウイルス活性を比較した。モノクローナル抗体 S139/1 (IgG) は、H3 ウイルスを免疫原として作出した HA 特異的中和抗体であるが、H1、H2 および H13 亜型のウイルスに対して交差中和活性を示す。S139/1 (IgG) 抗体産生ハイブリドーマを IgA 産生細胞に分化させ得られた多量体 IgA を用いて、H3 ウイルスおよび交差中和活性が認められた異なる亜型のウイルスに対する抗ウイルス活性を IgG と比較した。抗体の結合試験、赤血球凝集抑制試験および中和試験において、免疫原である H3 ウイルスに対してはアイソタイプによる差は認められなかったが、他の亜型のウイルスに対しては IgA が IgG よりも高い活性を示した。さらに、予めウイルスに感染させた MDCK 細胞を IgA 存在下で培養したところ、上清中に放出されるウイルス粒子量は、用いた全てのウイルスにおいて顕著に減少した。一方、IgG 存在下では、H3 ウイルスに対してもウイルス粒子放出阻害効果は IgA と比較して有意に少なく、異なる亜型のウイルスに対してはほとんど認められなかった。透過型電子顕微鏡観察の結果、IgA 存在下では細胞から出芽したウイルス粒子が凝集し、細胞膜表面に留められている様子が確認された。

本研究の結果より、HA 特異的交差反応性 IgA は IgG よりも高い抗インフルエンザウイルス活性を有していることが示された。特に、ウイルス粒子の放出阻害活性は IgA 抗体で顕著に認められ、HA 亜型間交差感染防御免疫に寄与しているものと考えられた。抗ウイルス活性における IgA の優位性は、IgA の多量体構造による avidity の増強および標的分子を架橋する能力によるものと考えられた。本研究によって、HA 特異的 IgA 抗体によるインフルエンザウイルス感染抑制の新規メカニズムが示された。さらに、ウイルス中和試験では評価され得なかった抗体も HA 亜型間交差感染防御免疫に寄与している可能性を提唱し、A 型インフルエンザウイルスの予防・治療法開発のための新たな知見を与えた。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者村松美笑子氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。