



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on potential role of nonneutralizing IgA antibodies in cross-protective immunity against influenza A viruses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	奥谷, 公亮
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第14551号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81660
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kosuke_Okuya_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学） 氏名：奥谷公亮
Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Studies on potential role of nonneutralizing IgA antibodies in cross-
protective immunity against influenza A viruses
(A 型インフルエンザウイルスに対する交差感染防御における非中和
IgA 抗体の役割に関する研究)

A 型インフルエンザウイルス (IAV) は、ヘマグルチニン (HA)、ノイラミニダーゼ (NA) およびマトリックス 2 (M2) タンパク質を粒子表面にもつ。HA および NA は抗原性の違いからそれぞれ複数の亜型に分類される。一方、M2 タンパク質は、HA および NA 亜型に関わらずウイルス株間で抗原性が高く保存されている。HA は IAV の標的細胞表面への結合および細胞侵入を担っており、NA は感染細胞から IAV が放出される際に重要な機能を持っている。M2 タンパク質は、イオンチャネルとして IAV の細胞侵入に働くだけでなく、感染細胞外への出芽過程にも重要な役割を担うことが分かっている。

HA はウイルスの細胞侵入に必須であるため、中和抗体の標的である。しかし、大部分の中和抗体は HA 亜型特異的であり、複数の亜型のウイルス株に対して中和活性を示す抗 HA 抗体は限られている。一方、粘膜面に分泌される IgA 抗体は IgG 抗体よりも亜型間交差反応性が高く、IAV に対する感染防御に重要であると考えられている。しかし、複数の亜型の IAV に対して IgA 抗体が抗ウイルス作用を示す機序は未だ不明である。本学位論文では、非中和抗体に着目し、幅広い亜型のウイルスに交差反応性を示す HA および M2 特異的モノクローナル抗体を用いて、様々なウイルス株に対する抗ウイルス活性を IgG 抗体と IgA 抗体との間で比較解析した。

第一章では、HA 特異的抗体による抗ウイルス活性を調べた。複数の異なる亜型の HA に結合能を有するマウスモノクローナル抗体 5A5 の可変領域の遺伝子配列を基に、ヒト IgG および IgA 抗体発現プラスミドを用いて、同じエピトープを持つヒト-マウスキメラ IgG および IgA 抗体を作出した。IgA 抗体は多量体を形成するため、ゲル濾過クロマトグラフィーにより単量体 IgA および多量体 IgA 抗体の 2 つに分画した。各抗体存在下で、IAV A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) (PR8)、A/Adachi/2/1957 (H2N2) (Ad2)、A/Hong Kong/483/1997 (H5N1) (HK483)、A/shearwater/ South Australia/1/1972 (H6N5) (SA1)、A/duck/England/1/1956

(H11N6) (Eng1) および A/duck/Alberta/60/1976 (H12N5) (Alb60) 株を感染させた培養細胞の上清中に含まれるウイルスタンパク質およびウイルス遺伝子を定量した。その結果、IgG および単量体 IgA 抗体存在下と比較して、多量体 IgA 抗体存在下では PR8、HK483、SA1、Eng1 および Alb60 株に感染させた細胞上清中のウイルスタンパク質および遺伝子量が有意に減少する事が分かった。IgA 抗体存在下では、感染細胞表面にウイルス粒子が集積している像が電子顕微鏡でみられ、単量体 IgA 抗体と比較して多量体 IgA 抗体でより強く集積していた。さらに、ウイルス増殖の指標であるプラーク形成能に及ぼす影響を抗体間で比較したところ、多量体 IgA 抗体存在下では PR8、HK483、SA1、Eng1 および Alb60 のプラークサイズが顕著に減少した。また、作出した IgG および IgA 抗体は IAV の NA 活性を阻害しないことを確認した。以上の結果から、多量体 IgA 抗体は、非中和抗体であっても、ウイルス粒子および感染細胞表面上に存在する HA に結合し架橋することでウイルス粒子が細胞から遊離する過程を阻害する事が示唆された。

第二章では、M2 特異的抗体による抗ウイルス活性を IgG および IgA 抗体間で比較解析した。先行研究から、M2 タンパク質に結合するマウスモノクローナル抗体 rM2ss23 (IgG)は、Ad2 および A/Aichi/2/1968 (H3N2) (Aichi) に結合し、細胞侵入阻害による中和活性は示さないものの、これらのウイルスのプラークサイズを小さくさせることが分かっていた。そこで、第一章同様に rM2ss23 と同じエピトープを持つヒトマウスキメラ IgG および IgA 抗体を作出し、出芽阻害活性を比較解析した。IgA 抗体は多量体を形成するため、ゲル濾過クロマトグラフィーにより単量体 IgA、二量体 IgA、三・四量体 IgA の 3 つに分画した。プラーク形成能に及ぼす影響をこれらの抗体間で比較したところ、三・四量体 IgA 抗体存在下では、Ad2 および Aichi のプラークサイズが IgG 抗体存在下と比較して有意に縮小した。また、感染細胞の上清中に含まれるウイルスタンパク質量およびウイルス遺伝子量は、三・四量体 IgA 抗体存在下で IgG および単量体 IgA と比較して有意に減少した。各抗体存在下における感染細胞を電子顕微鏡で観察したところ、ウイルス粒子が集積している像は見られなかった。以上のことから、M2 特異的 IgA 抗体は、ウイルスの出芽過程自体を効率よく阻害することで抗ウイルス活性を示す可能性が示唆された。

本研究により、IAV に対する非中和 IgA 抗体が抗ウイルス活性を発揮するメカニズムの一端が明らかになった。本研究の結果から、粘膜免疫の誘導によって産生される、複数の亜型の IAV に対して交差反応性を有する非中和 p-IgA 抗体は、IAV の出芽過程を阻害することで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。今後、p-IgA 抗体の生体内での機能を解析することによって、亜型に制限されない感染防御免疫の誘導法の開発につながると考えられる。そのようなワクチンが実現すれば、将来出現する新型インフルエンザウイルスにも効果が期待される。