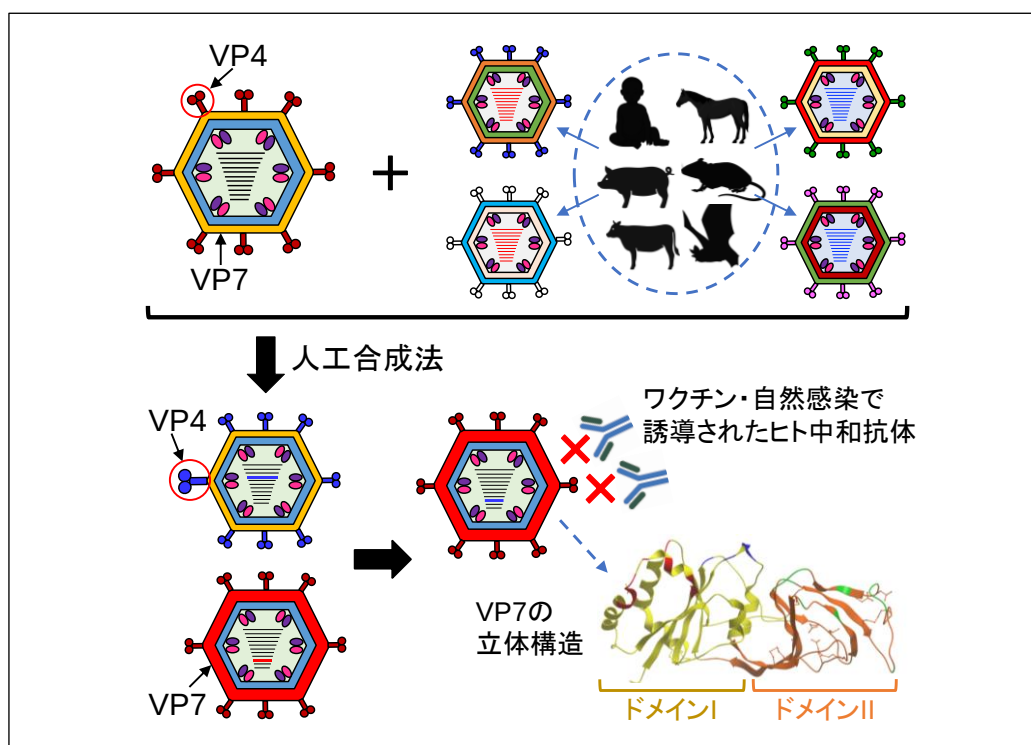


ワクチンや自然感染で生じた抗体から逃れやすいロタウイルスの遺伝子型を特定

微生物病研究所／先端モダリティ・DDS 研究センター

教授 小林剛



目次

1. 研究成果のポイント
2. 概要
3. 研究の背景
4. 研究の内容
5. 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)
6. 特記事項
7. 参考 URL

1. 研究成果のポイント

- ・ロタウイルスの一部の遺伝子型(特に VP7 遺伝子型)がワクチンや自然感染による抗体に抵抗性を示すことが判明した。
- ・これらの抵抗型はコウモリやブタなど動物由来であり、将来的にヒトへの感染拡大を引き起こす可能性が懸念される。
- ・ワクチンの効果を高めるには、VP7 タンパク質のドメイン I を標的にした新たなワクチン設計が有望である。

2. 概要

大阪大学 微生物病研究所の小林 剛 教授(大阪大学ワクチン開発拠点 先端モダリティ・ドラッグデリバリーシステム研究センター兼務)を中心とした、米国バンダービルト大学、タイ国チェンマイ大学、大阪大学日本・タイ感染症共同研究センター、日本大学等から成るチームは、ロタウイルスの外殻タンパク質 VP4 および VP7 の遺伝子型が、ワクチンや自然感染によって産生された抗体に対してどれほど影響を及ぼすかを調査しました。ヒトロタウイルス「Odelia 株」を基盤とし、VP4 または VP7 遺伝子を他の臨床分離株や動物由来株に置換した再集合ウイルス(モノリアソータント)を網羅的に作製しました。その結果、VP7 の遺伝子型が抗体による中和感受性に大きく影響することが明らかになりました。特に G2 型、コウモリ由来の G3、G11、G12、G25、G33 型は、ワクチン接種や自然感染による抗体に対する感受性が低く、今後の流行を引き起こす可能性があります。さらに、VP7 タンパク質のドメイン I 領域が中和感受性の決定因子であることが示され、新たなワクチン設計に有益な知見が得られました。

3. 研究の背景

ロタウイルスは、5 歳未満の子どもに重篤な胃腸炎を引き起こす主要な原因の一つであり、毎年約 13 万人の幼児が世界で命を落としています。ワクチン(Rotarix、RotaTeq)の導入により感染率は低下しましたが、ワクチン効果には地域差があり、感染の再拡大や変異株による流行が懸念されています。ロタウイルス表面の VP4 および VP7 は免疫の主要標的であり、これらの遺伝的多様性が中和抗体の効果を左右します。しかし、どの遺伝子型が中和抗体から逃れるのか、またその違いを生み出す領域がどこなのかは十分解明されていませんでした。本研究では、その課題に応えるべく、広範な遺伝子型を対象にした逆遺伝学的手法を用いて、より正確な中和感受性の実態を明らかにしました。

4. 研究の内容

本研究は、ヒトロタウイルス Odelia 株を基盤とした逆遺伝学的手法により、VP4 または VP7 遺伝子を別の株から組み込んだ再集合ウイルス(モノリアソータント)を 30 種類作製し、その中和感受性を評価しました。VP4 モノリアソータントでは明確な中和抵抗性は認められませんでした。VP7 モノリアソータントでは顕著な差が見られました。特に G2 型、コウモリ由来 G3、G11、G12、G25、G33 型は、ヒトの血清およびワクチン由来抗体に対する中和感受性が著しく低く、免疫回避の可能性が示されました。

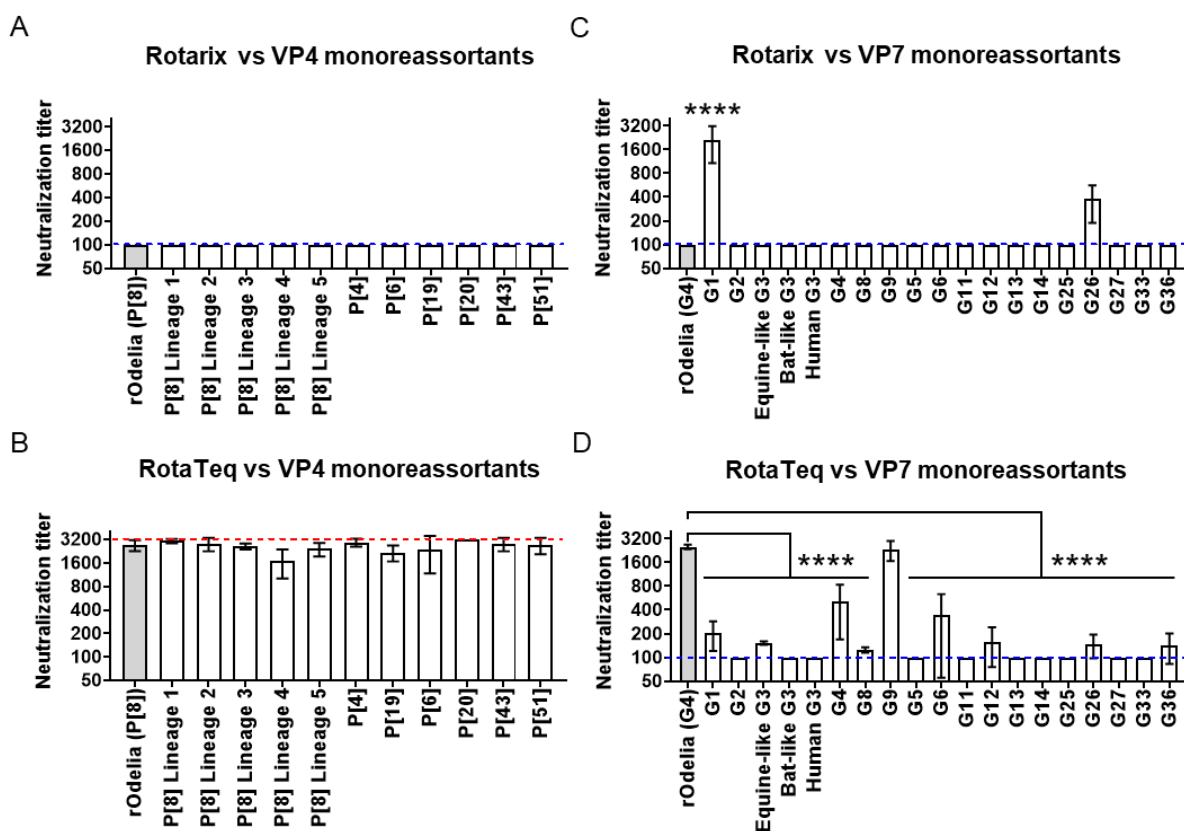


図1 ロタリックスまたはロタテック免疫ウサギ血清に対するウイルスの感受性

(A、B)VP4 モノリアソータントウイルスと Rotarix または RotaTeq 免疫ウサギ血清を用いた中和試験。(C、D)VP7 モノリアソータントウイルスと Rotarix または RotaTeq 免疫ウサギ血清を用いた中和試験。中和力価は、感染細胞を 50%減少させる血清希釈度として表した。青い点線は検出下限(1:100)、赤い点線は検出上限(1:3,200)を示す。中和力価 < 1:100 または > 1:3,200 は検出限界線にプロットされている。親株である組換え Odelia (rOdelia) 株と比較した統計的有意性は、Dunnett の多重比較検定による一元配置分散分析を用いて解析した。P 値 < 0.05 は統計的に有意とみなし、図に示した。****P 値 < 0.0001。

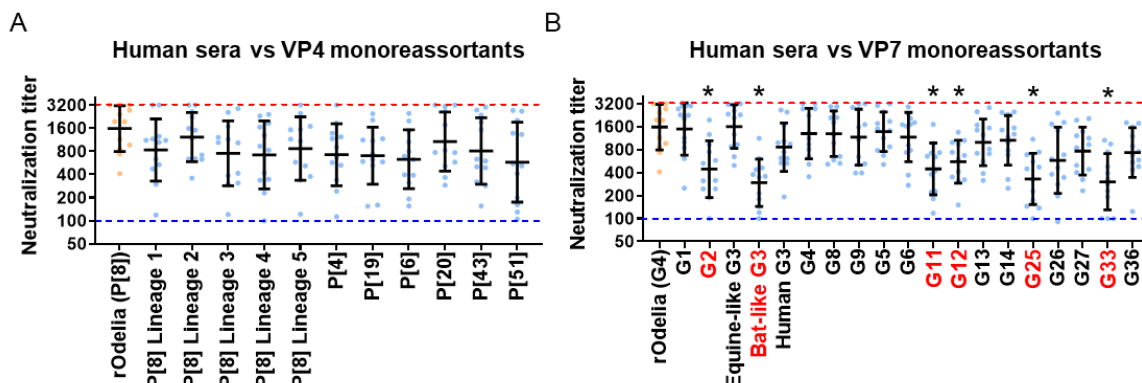


図2 ロタウイルスに感染したヒトの血清に対するウイルスの感受性

(A、B)VP4(A)または VP7(B)モノリアソータントウイルスとヒト血清を用いた中和試験。中和力価は、感染細胞の 50%減少をもたらす血清希釈度として表される。青い点線は検出下限(1:100)を、赤い点線は検出上限(1:3,200)を示す。中和力価<1:100 または>1:3,200 は検出限界線の上にプロットされている。各円は 1 人(n = 12)の血清を示す。*で示される中和の実質的な低下は、以下の基準によって定義された:(i) フリードマン検定による $P < 0.0001$ (rOdelia 株と比較)、(ii)幾何平均力価の $1.5 \log_2$ 倍以上の変化(rOdelia 株と比較)。

さらに、VP7 遺伝子型のうち高感受性の G1 型と低感受性の G33 型のドメイン構造を入れ替えたキメラウイルスを作製した結果、ドメイン I が中和抗体感受性に大きく関与していることが判明しました。しかし、ドメイン I の単一エピートプのみを置換した場合には感受性に変化は見られず、中和抗体感受性の制御には複数のエピートプが関与していると考えられます。

表1 中和抗体に対する VP7 遺伝子型の感受性

Classification	Genotype
Susceptible to Rotarix or RotaTeq*	G1, Equine-like G3, G4, G8, G9, G6, G12, G26, G36
Highly resistant to human sera**	G2, Bat-like G3, G11, G12, G25, G33
None of the above	Human G3, G5, G13, G14, G27

*ロタリックスまたはロタテック免疫血清に対する中和価>1:100

**ヒト血清に対する感受性は rOdelia 株より有意に低い($P < 0.0001$ [フリードマン検定]、幾何平均力価の $1.5 \log_2$ 倍以上の変化)

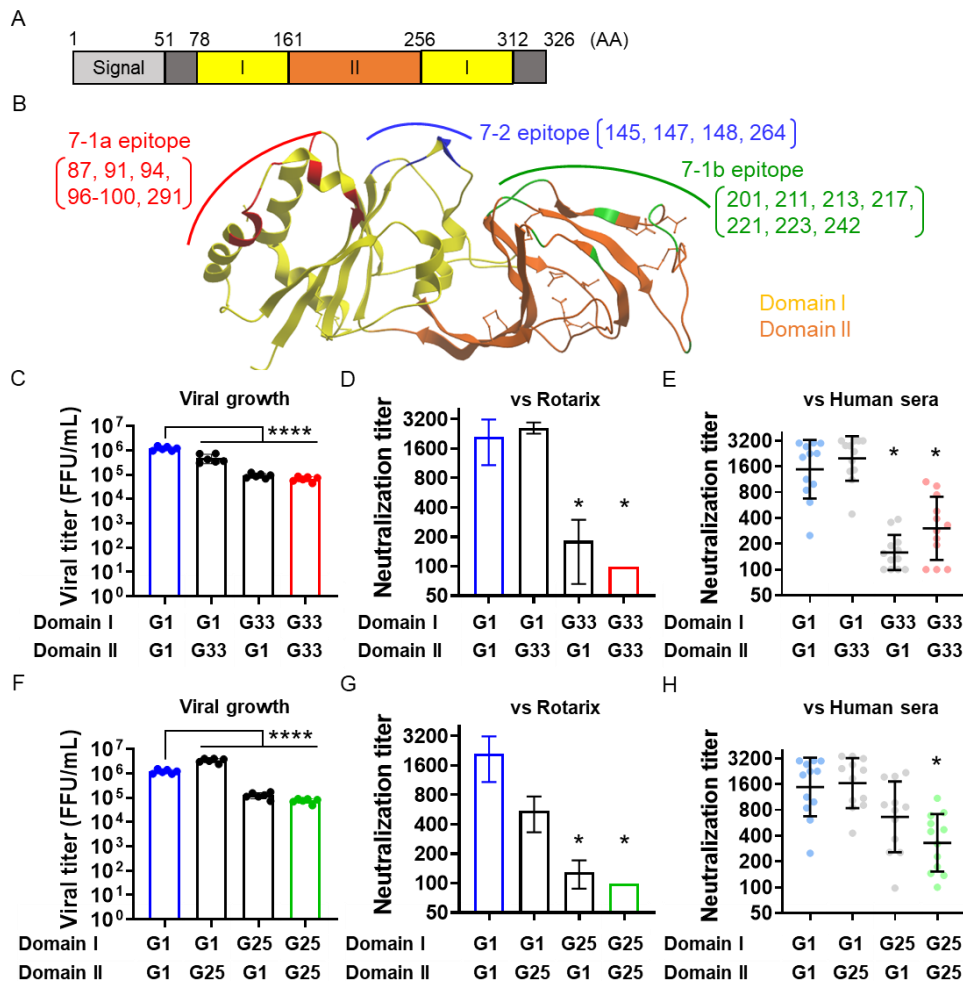


図3 VP7 のドメイン I は中和感受性の決定因子である

(A)VP7 タンパク質のドメイン構成を示す図。アミノ酸残基数を上に表示。(B)VP7 タンパク質の構造。リボン図は Protein Data Bank(PDB)のアクセッション番号 3FMG に基づいている。ドメイン I とドメイン II はそれぞれ黄色とオレンジ色で示されている。7-1a、7-1b、7-2 エピトープ内の重要なアミノ酸残基はそれぞれ赤、緑、青で強調表示されている。(C)G1-G33 キメラウイルスの増殖。MA104 細胞に 0.001 の MOI でウイルスを感染させ、感染後 72 時間で回収した。統計的有意性は、Dunnett の多重比較検定による一元配置分散分析を用いて解析した。P 値 < 0.05 を統計的に有意とみなした。****P 値 < 0.0001。(D)ロタリックス免疫血清による中和に対する G1-G33 キメラウイルスの感受性。統計的有意性は、Dunnett の多重比較検定による一元配置分散分析を用いて解析した。P 値 < 0.05 を統計的に有意とみなし、図に示した。*P 値 < 0.05。(E)ヒト血清による G1-G33 キメラウイルスの中和感受性。各円は 1 人(n= 12)の血清を示す。で示される中和の実質的な低下は、以下の基準で定義された：(i)フリードマン検定による P<0.0001(G1 モノリアソータントと比較)、(ii)幾何平均力価の 1.5 log₂ 倍以上の変化(G1 モノリアソータントと比較)。(F)G1-G25 キメラウイルスの増殖。(G)ロタリックス免疫血清による中和に対する G1-G25 キメラウイルスの感受性。(H)ヒト血清による中和に対する G1-G25 キメラウイルスの感受性。

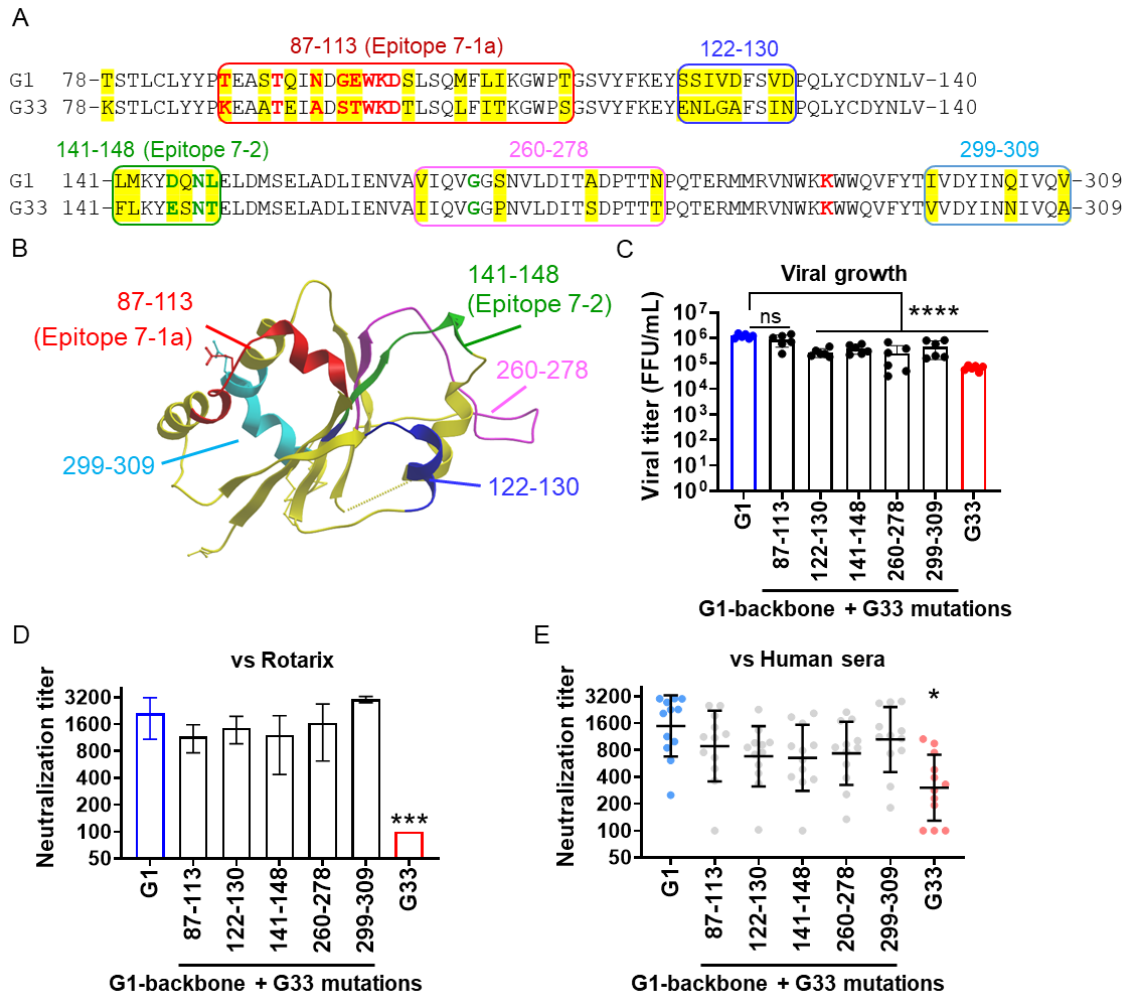


図4 VP7 のドメイン I 上の単一のエピトープを入れ替えても中和感受性は変わらない

(A) G1 および G33 遺伝子型のドメイン I のアミノ酸の違い。違いは黄色でハイライトされている。7-1a エピトープと 7-2 エピトープ内の重要な残基は、それぞれ赤と緑の太字で強調表示されている(5)。これらのアミノ酸の違いを含む領域を 5 つのセクションに分け、四角で強調し、アミノ酸残基番号を上に表示した。(B) VP7 のドメイン I の構造。5 つの領域がそれぞれ強調表示されている。(C) エピトープを交換したウイルスの増殖。MA104 細胞に 0.001 の MOI でウイルスを感染させ、感染後 72 時間で回収した。統計的有意性は、Dunnett の多重比較検定による一元配置分散分析を用いて解析した。P 値 < 0.05 を統計的に有意とみなした。****P 値 < 0.0001。(D) ロタリックス免疫血清による中和に対するエピトープを交換したウイルスの感受性。統計的有意性は、Dunnett の多重比較検定による一元配置分散分析を用いて解析した。P 値 < 0.05 を統計的に有意とみなし、図に示した。***P 値 < 0.001。(E) エピトープを交換したウイルスのヒト血清による中和に対する感受性。各円は 1 人 (n = 12) の血清を示す。で示される中和の実質的な低下は、以下の基準によって定義された: (i) フリッドマン検定による P < 0.0001 (G1 モノリアソータントと比較)、(ii) 幾何平均力価の 1.5 log₂ 倍以上の変化 (G1 モノリアソータントと比較)。

5. 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

ロタウイルスによる感染症は、依然として幼児にとって重大な健康リスクであり、特に低所得国ではワクチンの効果が限定的とされています。本研究は、ワクチンや自然感染で獲得される抗体が一部の遺伝子型に対して効かない可能性を示した点で、極めて重要です。中でもコウモリやブタ由来の遺伝子型が免疫を回避する性質を持つことが明らかとなり、将来的にヒトの集団内で流行する可能性があることが分かりました。加えて、中和抗体の作用を左右する VP7 のドメイン I が明確になったことで、今後のワクチン開発において、より効果的で広範な免疫応答を誘導する設計が可能になります。この成果は、将来の流行予防策の策定、地域別ワクチン設計、ひいては幼児の命を守るグローバルな公衆衛生政策に貢献します。

6. 特記事項

本研究成果は、米国科学誌「mBio」(オンライン)に2025年5月30日に掲載されました。

タイトル: “A rotavirus VP4 or VP7 monoreassortant panel identifies genotypes that are less susceptible to neutralization by systemic antibodies induced by vaccination or natural infection”

著者名: Tomohiro Kotaki, Yuta Kanai, Kristen M. Ogden, Megumi Onishi, Kattareeya Kumthip, Pattara Khamrin, Patcharaporn Boonyos, Pornkamol Phoosangwalthong, Phakapun Singchai, Tipsuda Luechakham, Shohei Minami, Zelin Chen, Katsuhisa Hirai, Ratana Tacharoenmuang, Hiroto Mizushima, Hiroshi Ushijima, Niwat Maneekarn, Takeshi Kobayashi

DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.00897-25>

本研究は、以下の支援を受けて実施されました: AMED (JP20wm0225006、JP22gm1610008、JP22wm0125010、JP23fk0108668)、科研費(21H02739、24K02285、22K07100、22H03117)、JST ムーンショット型研究開発事業(JPMJMS2025)、および大阪大学微生物病研究所(BIKEN)からの支援。

また、AMED SCARDA ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点群大阪府シナジーキャンパス(大阪大学ワクチン開発拠点)」(JP223fa627002)の支援も受けました。

7. 参考 URL

大阪大学微生物病研究所 ウイルス免疫分野 小林研究室
<https://virology.biken.osaka-u.ac.jp/>