

(1) ワクチンは体内にどれだけ留まるのか、またワクチンはどのくらいで効くのか

ワクチン自身の血液濃度について調べられている研究は見つかりませんでした。ペプチドワクチンについては、代謝を受ける前に抗原提示細胞などに取り込まれることが重要なようです。ペプチドワクチンに免疫応答を起こすリポペプチドやアルブミンに結合するペプチドを結合させることでワクチンとしての機能を向上させている例があります。

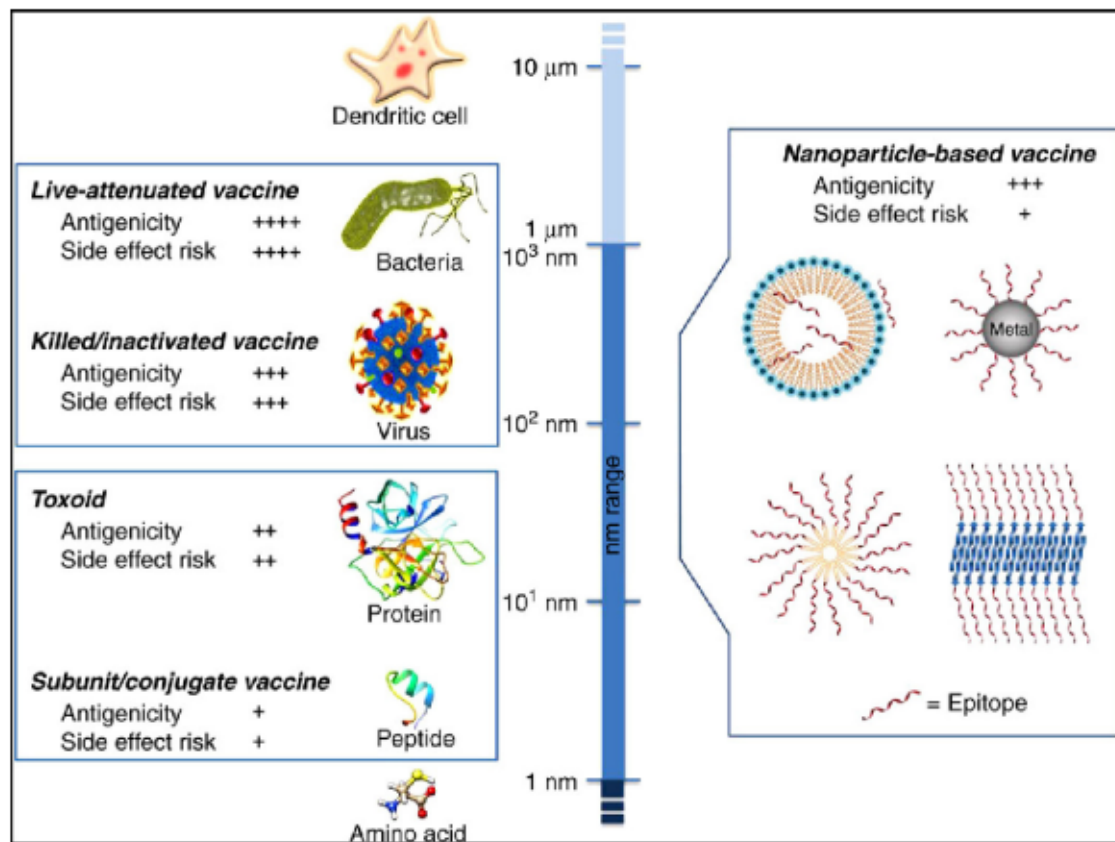
Cancer Immunol Res, 2018, 6, 1025–1038.

ワクチンが機能するのにかかる時間は、ワクチンの種類にもよりますが、中和能を持った B 細胞の成熟まで通常 1 ヶ月程度かかるといわれています。

Clin. Infect. Dis., 2018, 67, 375–377.

(2) ペプチドワクチンに用いられるナノ粒子はどんなものか。

ナノ粒子内に抗原を閉じ込めて運搬することができるものや、エピトープを多数表面に露出させたナノミセルやナノファイバーが存在します。副作用をペプチドと同程度に抑えつつ、多数の抗原提示によってより効率的に免疫を獲得できると述べられています。



Micro and Nanotechnology in Vaccine Development, eds. M. Skwarczynski and I. Toth, William Andrew Publishing, 2017, pp. 149–170.

(3) 結合しても中和できない、という抗体はどういうときにそうなるのか。

ウイルスタンパク質に抗体が結合するだけで、機能を阻害しない場合、中和抗体の産生量が十分でないなどの理由が考えられます。

また、*in vitro* 試験で中和できないワクチンでも、*in vivo* 試験で感染症予防を行うことができる場合があります。 *in vitro* 試験の妥当性については議論がなされており、明確な答えは出ていません。

PLoS One, 2012, 7, e37242.

(4) インフルエンザウイルスワクチンは HA のどこに効いているのか。

インフルエンザウイルスワクチンのエピトープ解析をしている文献がありました。今回発表した LAH が含まれるエピトープは、27 の同定されたエピトープのうち 2 つのみに含まれていました。(右図赤枠内)

Exp. Ther. Med., 2018, 16, 2001–2007.

生ワクチンのようなウイルスの複数のエピトープを提示するワクチンでは、複数のエピトープに対する様々な抗体が作られ、その中でも抗原と強く相互作用する数種類のエピトープのみが保存されます。保存されるエピトープが変異しやすい部分である場合は、すべての型のウイルス予防を行うことができません。インフルエンザや HIV ではこのような現象が起きていると考えられます。

(5) HIV の V3 ドメインミミックのペプチドはなぜ環化しているのか。

ウイルスの V3 ペプチド自身も同じ位置にジスルフィド結合を持っているため、その部分を再現したそうです。

ACS Chem. Biol., 2017, 12, 1566.

(6) HIV の 3 成分ペプチドでエピトープを 3 倍にした理由

既存の中和抗体 10-1074 は、モノマーの V3 ペプチドよりも、ダイマーやトリマーにより強く結合するという ELISA 解析の結果があり、V3 ペプチドをトリマーにすることでウイルスの V3 をより再現できるのではないかという仮説から合成を行ったそうです。

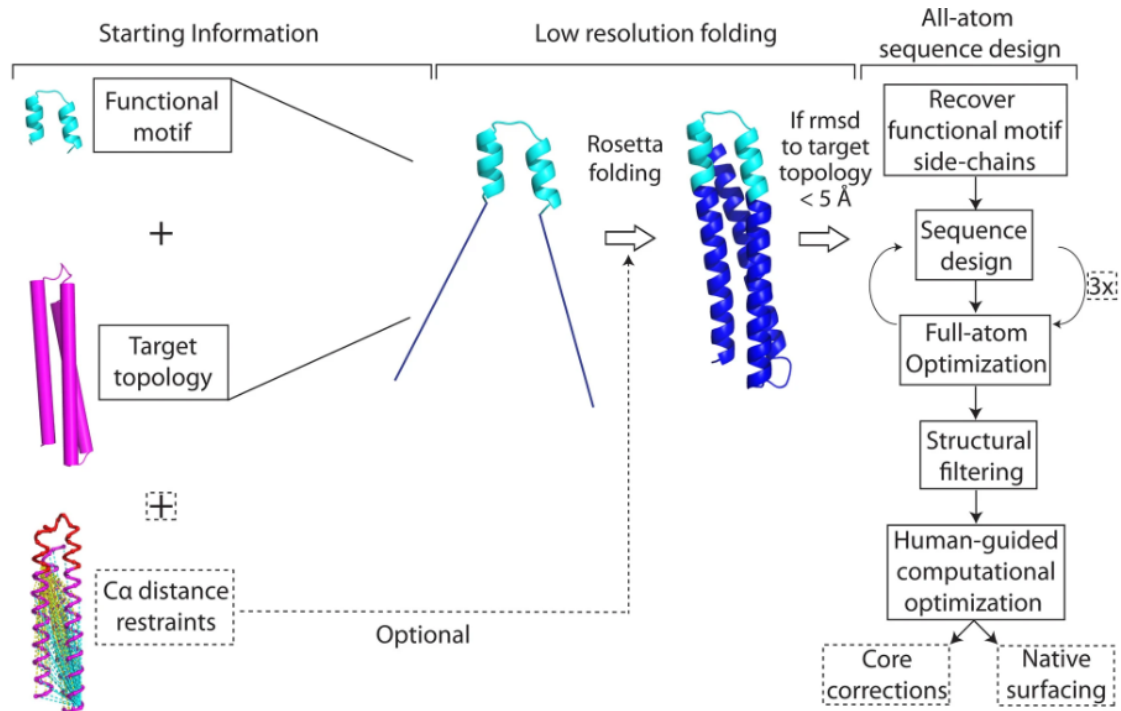
ACS Cent Sci, 2018, 4, 582.

Groups and peptides no.	Sequence of peptides	Position
Group 1: (9) ^a		
Peptide 1	LVLWGIHHP	191aa-199aa
Peptide 2	LFPQNI	307aa-312aa
Peptide 3	LATGLRN	331aa-337aa
Peptide 4	RGLFGAAGFIEGGW	344aa-358aa
Peptide 5	GWYGYHH	364aa-370aa
Peptide 6	STQNAID	384aa-390aa
Peptide 7	YNAELLVL	438aa-445aa
Peptide 8	ENERTLD	447aa-453aa
Peptide 9	WSYIVE	93aa-98aa
Group 2: (7) ^b		
Peptide 10	DTLCIGYHANNSTDT	17aa-32aa
Peptide 11	MNYWTLVPEPGD	244aa-255aa
Peptide 12	ATGNLVVPR	261aa-269aa
Peptide 13	GYAADLKSTQNAIDEI	377aa-392aa
Peptide 14	EIGNGCF	476aa-482aa
Peptide 15	FYHKCDNT	484aa-491aa
Peptide 16	SVKNGTYD	495aa-502aa
Group 3: (11) ^c		
Peptide 17	KAILVLLYTFE	2aa-13aa
Peptide 18	SVNLEDK	46aa-53aa
Peptide 19	KLRGVAPLHLGK	60aa-71aa
Peptide 20	ESLSTASS	85aa-92aa
Peptide 21	TSSSDNGT	99aa-106aa
Peptide 22	PNHDSNKGVTA	141aa-151aa
Peptide 23	PHAGAKSFYKNLI	154aa-166aa
Peptide 24	KLKSYINDKGKEV	177aa-190aa
Peptide 25	GSSRSYKFKPE	219aa-230aa
Peptide 26	RYAFAMERNAGSG	269aa-281aa
Peptide 27	VVSLGAISF	544aa-552aa

^a2009 H1N1 and seasonal A1, A3 and avian influenza H5N1 and H9N2; ^b2009 H1N1 and seasonal influenza virus A1, A3; ^c2009 H1N1 and seasonal A1. mAB, monoclonal antibody; HA, HA, hemagglutinin.

(7) RSV の Filter and human manipulation の内容

残念ながら、本文、SI にはフィルタリングと人間による最適化の詳細は記されていませんでしたが、RSV F エピトープの構造をもとに最適化を行ったと記述されています。FFL の詳しい手順について下図に示します。



Nature, 2014, 507, 201.

(8) RSV F エピトープの長さ

Functional motif として学習に用いたペプチドと FFL 学習後の該当部分を下図に示します。3LHP_S が学習に用いたウイルス由来のペプチドです。

(訂正)質疑応答内でこの部分はすべて共通と述べましたが、学習によって変化している部分も存在していることがわかりますので、訂正いたします。

3LHP_S	GSISDIRKDAEVRMDKAVEAFKNKLDKFKAAVRKVPTEERIKDWLKI VRGEAEQARRAV
FFL_001	GSRSDMRKDAERRFDKFVEAAKNKFDKFKAAALRKGDIKEERRKDMKKLARKEAEQARRAV
FFL_002	GSLSDVRKDVEKRIDKALEAFKNKMDKEKAAAFRKDPPSEERRKDKKKKFEFREEREQVRKAI
FFL_003	GSMSDRRKDLEERLDKLLLEAAKNKEDKFKAAAMRKRGRQREERMKDWAKIARDEFEQFRKAV
FFL_004	GSMSDARKDLEERLDKLLLEAAKNKMDKFKAAAMRKRGRQREERKDWAKI VRDEFEQFRKAV
FFL_005	GSMSDIRKDLEERFDKLVEALKNKVDKMKAAFRKQDFHEERMKDWFKDLRKEVEQMRRAV
FFL_006	GSFSDIRKDAEDRADKAFEAAKNKFDKIKAAIRKDWSEERAKDLMKKARYEMEQARRAI
FFL_007	GSLSDIRKDAERRFDKLVEAVKNKLDKMKAAALRKEGQREERMKDLMKFMRKEVEQLRKAM
FFL_008	GSLSDLMKDLEKRFDFKFMEAIKKNKWDKVKAAFRKQEKGEERAKDMFKIFREELEQLRKAI

(9) RSV F タンパク質をワクチンとして用いることはできないか。

調べた結果、RSV F タンパク質をワクチンとして利用する研究があり、実際にウサギでウイルス予防効果が確かめられた例も存在しました。このワクチンの抗原位置は、今回の発表で紹介した Pali や Mota が結合する部位とは違う場所だと述べられています。このワクチンは、膜融合が起きる前の RSV にしか結合することができない点が課題だと述べられています。

		% Binding Monoclonal Antibody		
Antigenic Site	Monoclonal Antibody	Prefusogenic F	Prefusion F	Postfusion F
Site Ø	D25	40%	126%	0%
	hRSV106	15%	104%	0%
Site VIII	hRSV90	39%	149%	0%
Site II	Palivizumab	113%	126%	108%
Site IV	RSHZ19	104%	112%	107%
	R1.42	95%	89%	77%
Site II/IV	R4.C6	94%	85%	78%
P27	RSV.7.10	91%	0%	0%

No binding Intermediate binding Strong binding

Sci Immunol., DOI:10.1126/sciimmunol.aba6466.

Vaccine, 2019, 37, 6112–6124.

(10) SARS ウイルスのペプチドワクチンはなぜリン酸化される部位を抽出したのか。

(訂正)リン酸化される部位を抽出したのではなく、タンパク質構造解析から S タンパク質表面に露出しているペプチドをワクチンとして抽出したと書いてありました。訂正いたします。

ペプチドワクチンの初期検討では翻訳後修飾によるバリエーションを考えずに済むように、グリコシル化を受ける残基やリン酸化を受ける残基を回避してワクチンをデザインしたそうですが、短いペプチドばかりになり、抗原として不十分だったため、グリコシル化やリン酸化を受ける残基を含めたペプチドをデザインしました。そのため、結果的に翻訳後修飾を受ける部分を含むペプチドデザインになっていますが、その部分がクリティカルというわけではないようです。

Clin. Chem., 2004, 50, 1036.