

5-3-51 口腔感染症に対する安全性の高い免疫療法の開発

＜研究概要＞

病原因子の機能ドメインや主要エピトープを利用したコンポーネントワクチンは安全性が高い。また、抗血清や精製抗体を利用して病原因子を中和する受動免疫は安全性が高く、とくに口腔への投与は危険性が極めて低いとされている。重要な歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* の定着に関与する 40-kDa 外膜タンパク質、130-kDa 赤血球凝集因子、200-kDa 膜関連タンパク質の遺伝子をクローニングし、その病原因子のエピトープ部位、機能部位を特定してきた。次いで、これら病原因子活性を中和できる安全な受動免疫抗体として組換え単鎖 Fv 抗体、ヒト型抗体の開発を行ってきた。Transchromo-mouse ハイブリドーマで得られたヒト型抗体は共凝集活性、ヘミン結合活性を阻害し、また、好中球の貪食作用を活性化した。組換え 40-kDa 外膜タンパク質のポリマーは赤血球凝集活性をもち、組換えタンパク質に対する抗体が赤血球凝集活性を阻害したことから、新しい赤血球凝集因子であること、ヘミン結合タンパク質であることを明らかにした。さらに phage display epitope mapping 法で特定された合成ペプチドを用いた competition assay により、赤血球凝集活性の阻害が証明された。また、200-kDa 膜関連タンパク質は、HagA であることが判明し、作製に成功した組換え 200-kDa タンパク質抗原を量産できる遺伝子クローンは、歯周病ワクチン材料の生産を可能にした。*P. gingivalis* 130-kDa 赤血球凝集因子に加えて、う蝕病原菌 *S. mutans* の病原因子である glucosyltransferase 活性を抑制できる組換え抗体 ScFv を *Bacillus brevis* 宿主を応用して大量生産することに成功した。さらに、中和抗体の量産に有用な鶏卵黄抗体 IgY の作成に着手し、赤血球凝集活性、上皮細胞定着能を抑制できる抗体の作成に成功した。

＜得られた知見＞

P. gingivalis HagA ワクチンの量産に有用な遺伝子クローンの開発に成功し、実際にリコンビナント抗原に対する抗体が受動免疫療法の開発に有用であることを証明できたことから、また 40kDa 外膜タンパク質が赤血球凝集因子であることから、これらの遺伝子クローン、遺伝子産物は歯周病の免疫療法の開発に貢献できる。安全で実用化が可能な受動免疫抗体として、歯周病原菌 *P.gingivalis* の 40-kDa 外膜タンパク質、200-kDa 膜関連タンパク質 HagA、130-kDa 赤血球凝集因子の機能を中和し、その定着を抑止できる組換え単鎖 Fv 抗体、ヒト型抗体の開発、量産の道を開いた。また、安全性が高く、食品として摂取が可能で、かつ量産が可能な鶏卵黄抗体 IgY の作成に成功している。これらのことから、受動免疫療法に有用で安全性の高い組換え単鎖 Fv 抗体、ヒト型抗体、IgY の開発が飛躍的に進展したといえる。