

3. 隠れたインフルエンザヘマグルチニンエピトープに対する 交差防御抗体

安達 悠¹⁾, 登内 奎介^{1,2)}, 高橋 宜 聖¹⁾

1) 国立感染症研究所 免疫部

2) 早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学専攻

防御抗体はインフルエンザウイルスに対して最も有効な対抗手段であり、その誘導のためインフルエンザワクチンは接種される。近年、“交差防御抗体”と呼ばれる抗原変異ウイルスに対しても広域な感染防御効果を発揮するタイプの抗体が見出され、その抗体の抗原認識や防御メカニズムに関する詳細な解析が進められてきた。その結果、交差防御抗体のエピトープは、ウイルス抗原の“隠れた”部位に存在しており、これが現行ワクチン剤形で交差防御抗体を賦活化できない一因であることが明らかとなってきた。一方で、隠れたエピトープを認識する交差防御抗体は、種々の防御メカニズムを介して感染防御能を発揮することも判明している。本稿では、どのようにウイルスが有効なエピトープを隠しているのか、いかにして隠れたエピトープを認識する抗体が感染防御に寄与するのかについて概説したい。また最後に、隠れたエピトープをターゲットとしたユニバーサルワクチン剤形に関する最新の報告を紹介する。

はじめに

インフルエンザの病原であるインフルエンザウイルスは、オルトミクソウイルス科に属するエンベロープを持つ一本鎖 RNA ウイルスであり、4つの型 (A・B・C・D型) に分類される。このうちヒトの間で繰り返し流行的な広がりを見せるのはA・B型であり、20世紀以降に世界的大流行 (1918年; スペインかぜ, 1957年; アジアかぜ, 1968年; 香港かぜ, 2009年; H1N1 パンデミック) を引き起こしたウイルスは全てA型である¹⁾。これはA型ウイルスが人獣共通感染症病原体であり、家畜や家禽での遺伝子再集合による抗原性を大きく変異させた新型ウイルスが出現したためだと考えられている。また、インフルエン

ザウイルスはRNAウイルス特有の複製時の高エラー頻度により、ワクチン接種や感染により獲得した防御抗体の免疫圧を逃れて抗原変異株を生じる。

このウイルス抗原変異への対抗策として近年、抗原変異しづらい保存されたエピトープを認識することで広域な感染防御効果を示す“交差防御抗体”が大きく脚光を浴びている^{2,3)}。交差防御抗体の歴史は意外にも古く、1993年、奥野らがウイルス感染したマウスからハイブリドーマを作製してC179と呼ばれるモノクローナル抗体を単離したのが始まりである⁴⁾。最初の発見から十数年後、ヒトモノクローナル抗体作成技術の進歩によりヒト由来の交差防御抗体が次々と単離された。これら交差防御抗体は従来のワクチンでは賦活化できないため、それらの効率的な誘導を目的としたユニバーサルワクチンの研究開発が世界的に進められている⁵⁾。

連絡先

〒162-8640

東京都新宿区戸山1丁目23番1号

国立感染症研究所 免疫部

TEL: 03-5285-1111

FAX: 03-5285-1156

E-mail: yuadachi@niid.go.jp

1. ヘマグルチニン構造

A型インフルエンザウイルス粒子表面には、ヘマグルチニン (Hemagglutinin: HA) とノイラミニダーゼ (Neuraminidase: NA) の糖タンパク質がスパイク状に埋め込まれ、防御抗体の主要なターゲットとなっている。近年、NAを認識する交差防御抗体も新たに単離されているが⁶⁾、本稿では交

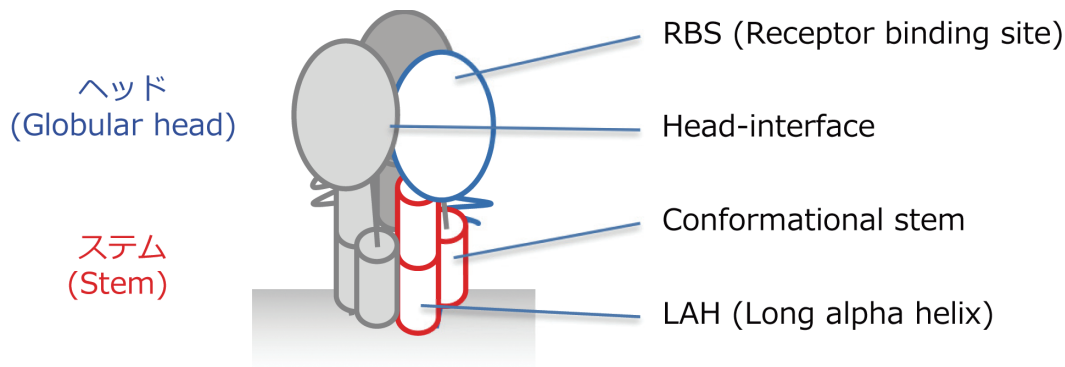


図1 ヘマグルチニン (Hemagglutinin; HA) 構造と, 4つの cross-group エピトープ

差防御抗体の特徴やその防御メカニズム, ユニバーサルワクチン開発において特に進展が見られる HA に焦点を当て概説したい。

HA は 18 種類 (H1 ~ H18) のサブタイプが現在確認されており, 遺伝子相同性から group 1 (H1, H2, H5, H6, H8, H9, H11, H12, H13, H16, H17, H18) と group 2 (H3, H4, H7, H10, H14, H15) に大別される^{7,8)}. さらに同一サブタイプ内においても複数のクレードに分かれており, 極めて多様性に富んでいる. HA はホモ三量体を形成し, 構造的・機能的にヘッド (globular head region) とステム (stem region) と呼ばれる 2 つの領域に分けられる (図 1). ウイルスはヘッド上部に位置するレセプター結合部位 (Receptor binding site; RBS) を介して宿主細胞表面上のシアル酸を認識し, エンドサイトーシスにより取り込まれることで細胞内へと侵入する. 細胞へ侵入したウイルスは, ウイルス膜をエンドソーム膜と膜融合させることで RNA を放出するが, この膜融合を成立させる重要な構造がステムに含まれている.

2. 交差防御抗体のエピトープ

ワクチン接種によって誘導される抗体の大部分はヘッドのエピトープを認識する抗体である⁹⁾. このヘッドのエピトープは, RBS を取り囲むようにヘッド上部から側面にかけて存在し, 複数の領域に分類されている (H1 サブタイプでは Sa, Sb, Ca1, Ca2, Cb と呼ばれ, H3 サブタイプでは Site A-E と呼ばれる)^{3, 10)}. これらエピトープを認識するヘッド抗体は, RBS を遮蔽することでウイルス接着を阻害して優れた中和活性を示す一方, ヘッドは抗原変異の頻度が高いため, 多くのヘッド抗体は特定の株に対してのみ有効な“株特異的”な抗体となってしまう.

一方で, ウイルス感染に重要な構造ではアミノ酸変異が入るとウイルス複製自身に影響するため, 異なるサブタイプ間で抗原性が保存されている場合が多く, 交差防御抗体のエピトープを形成している. これまで group 1 と group 2

両方のサブタイプの HA に広域に結合する交差防御抗体 (Cross-group 抗体) がヒトから単離されており, それらの抗体エピトープ (Cross-group エピトープ) は 4 つ同定されている (図 1). 初めに同定された cross-group エピトープは, ステム立体構造により形成された Conformational stem エピトープ¹¹⁻¹³⁾で, マウス由来抗体 C179 も同様の結合様式を示すことが後になり判明した. また, ステムには 60 残基程度の比較的長い α ヘリックス構造 (Long alpha helix; LAH エピトープ) が存在し, このエピトープに結合するマウス抗体が H3 サブタイプ内の限られた交差性を示すことが報告されていた¹⁴⁾. 最近, 我々は, ヒト LAH 抗体の中に cross-group 抗体が存在することを発見している¹⁵⁾. 一方, 抗原変異の頻度が高いヘッドにも cross-group エピトープが 2 つ同定されている. ひとつはウイルス接着に働く RBS に位置し, 抗体は CDR3 ループ (抗体可変領域にある抗原結合部位の一部) を RBS ポケットに挿入するように認識していることが明らかとなっている^{16,17)}. これら 3 つの cross-group エピトープは, ウイルス感染・複製に重要な構造に位置するため group 間で良く保存されていると考えられる. また今年になり 2 つの研究グループから同時に新しいヘッド cross-group エピトープが報告された^{18,19)}. そのエピトープは三量体を形成する HA ヘッドの境界面の閉塞した領域に位置し, この Head-interface と呼ばれるエピトープは何らかの要因で抗体の免疫圧がかからず, 結果として保存されてきたと推測されている. このようにウイルス抗原変異に有効な複数の交差防御抗体が同定されているが, いずれも現行のワクチン接種では誘導されづらい.

3. Cross-group エピトープの隠され方

抗原に存在する各エピトープは B 細胞によって平等に認識されるわけではなく, 抗原性に優劣が生じる. B 細胞に認識されやすく, いわゆる抗原性に優れたものを“免疫優性 (Immune-dominant)”, 劣るものを“免疫劣性 (Immune-

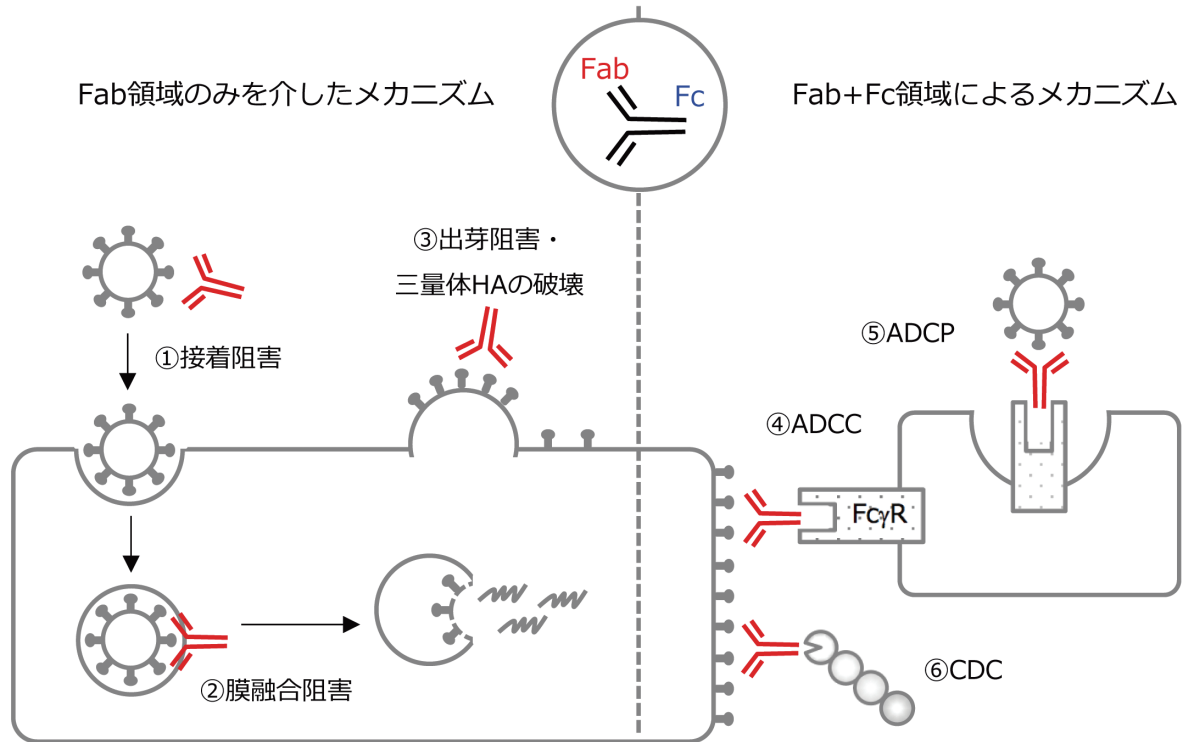


図2 ウイルスの感染・複製プロセスと、HA抗体による防御メカニズム

subdominant)”と呼ぶ。Cross-group エピトープが存在するにも関わらずワクチンで抗体が誘導されない，すなわち免疫劣性となる大きな要因として，これらのエピトープが“免疫学的に隠れたエピトープ”である点が挙げられる。そこで抗体産生を司るB細胞免疫を踏まえつつ，エピトープの2通りの隠され方について紹介したい。

抗原刺激後の胚中心（と呼ばれる微小環境）では，抗体遺伝子へのランダムな変異と選択というダーウィンの進化論に基づき，抗体の抗原への親和性が進化する²⁰⁾。胚中心B細胞は，抗体遺伝子へのランダムな体細胞突然変異の導入により抗体レパトアを多様化した後，限られた量の抗原への競合により，抗原への結合能力に優れた抗体を発現する一部のB細胞だけが選別される。このように，胚中心ではB細胞表面に発現させた膜型抗体（B細胞レセプター；B cell receptor; BCR）の抗原エピトープに対する結合能力がレパトアの生存と淘汰を左右する要素である。一般的に高親和性B細胞は優先的に多くの抗原を取り込むことが可能となり，取り込んだ抗原量に比例したT細胞ヘルプシグナルを受け取ることで抗体産生細胞等へ分化する²¹⁾。B細胞は，細胞膜に結合して自由度の限られた複数のBCRで抗原エピトープを認識・相互作用するため，B細胞による抗原の結合能力は，フリーの抗体分子に比べて立体障害・アクセシビリティの影響を受けやすい。すなわち，隠れてアクセスの悪いエピトープは，露出したアクセスの

良いエピトープと比較して相対的に結合能力が低下し，結果として免疫劣性になってレパトアは淘汰されてしまう。

図1で示したように，ウイルス粒子上HAのステムは，ウイルス膜近傍に位置しておりヘッドに覆われるように存在する。この位置関係から立体障害により，ステムエピトープに対するBCRのアクセシビリティはヘッド上部エピトープと比較して低くなる。これは膜型抗体であるBCRより自由度の高い抗体分子でも確認されており，ヘッド抗体はウイルス粒子上HAと組換えHAタンパクの両者に対し同等の結合性を示す一方，ステム抗体のウイルス粒子上HAに対する結合性は顕著に低下する^{15,22)}。もうひとつのエピトープの隠され方は，HA構造自身に起因する。RBSエピトープはヘッド上部にあるが，極めて小さなポケット状の領域に奥まっており，また露出した（変異頻度の高い）エピトープに囲まれているため免疫劣性になる。また，Head-interface エピトープは，三量体HAのヘッド境界面の非常に閉塞した部位に位置しており通常，エピトープは露出していない。しかし，HAはその三量体構造の弛緩と緊張（構造が緩んだり締まったりする変化）を繰り返すため²³⁾，エピトープが一時的に露出し抗体が結合可能となる。このウイルスのエンベロップ糖タンパクが呼吸するように連続して抗原構造を変化させる現象は“Breathing”と呼ばれ，HIV（Human immunodeficiency virus；ヒト免疫不全ウイルス）やデングウイルスなどでも報告されている^{24,25)}。

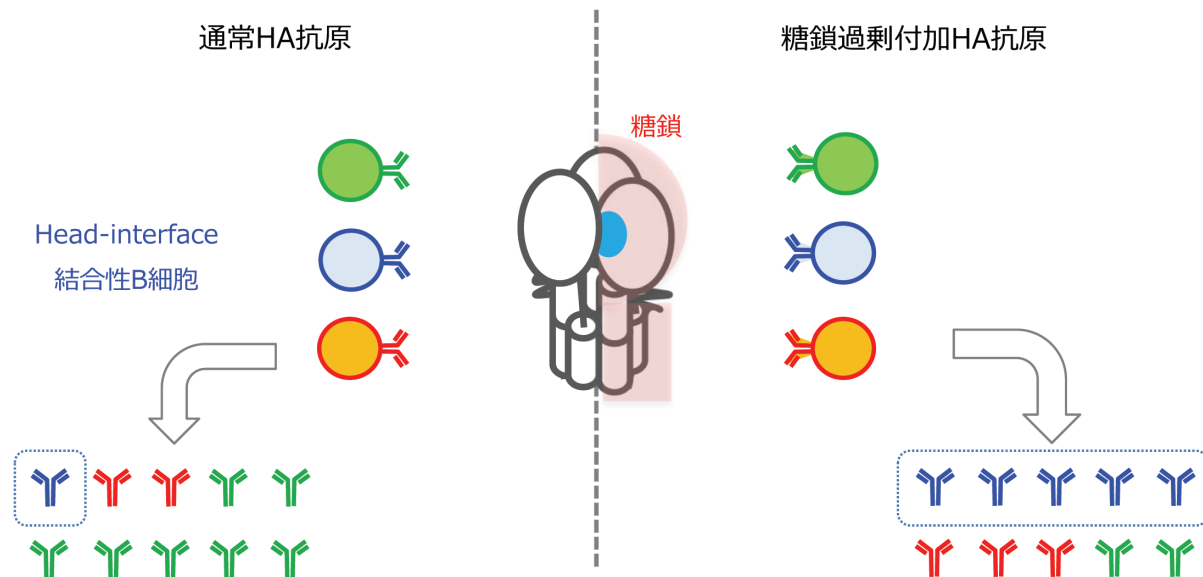


図3 Head-interface エピトープをターゲットとした糖鎖過剰付加 HA 抗原

このようになぜ cross-group エピトープが免疫劣性であるかを説明する構造的な情報は、新規ワクチン剤形のデザインに活かされている。

4. 抗体による防御メカニズム

HA 抗体は、ウイルス感染・複製プロセスの種々の段階を阻害することが可能である。図2に、ウイルス感染・複製プロセスと HA 抗体による防御メカニズムをまとめたので参照されたい。これらメカニズムは、(1) Fab 領域のみを介したものと、(2) Fab に加えて Fc 領域 (抗体定常領域: 抗体の根本の部分) を必要とするものに大別でき、cross-group エピトープの特異性に触れつつ紹介したい。

Fab 領域を介したメカニズムには、①ウイルス接着阻害^{16,17)}、②エンドソーム膜との膜融合阻害^{26,27)}、③感染細胞からのウイルス出芽阻害・三量体 HA 構造の破壊^{19,28)}がある。RBS 抗体はその名の通り、宿主細胞のシアル酸を認識する RBS に結合し遮蔽することでウイルス接着を阻害する。Conformational stem 抗体は、ステムの立体構造を認識し結合することでエンドソーム膜への膜融合をスタートさせる HA 構造変化を阻害する。一方、Head-interface 抗体は、感染細胞上の三量体 HA に結合して立体構造を崩壊させることでウイルスの細胞間伝播の阻害をすることが示唆されている¹⁹⁾。これらの防御メカニズムは、Fab 領域のエピトープ認識様式に起因するものであり、抗体単独で発揮される。

Fc 領域を介した防御メカニズムには、少なくとも④抗体依存的細胞障害活性 (Antibody dependent cellular cytotoxicity; ADCC)²⁹⁾、⑤抗体依存的細胞貪食 (Antibody dependent cellular phagocytosis; ADCP)³⁰⁾、⑥補体依存的細胞障害活性 (Complement dependent cytotoxicity; CDC)³¹⁾

がある。これらメカニズムでは、標的に結合した抗体 Fc 領域を認識した免疫細胞・生体分子により始動するため、エピトープ特異性は無いと考えられていた。しかし興味深いことに、④ ADCC と⑤ ADCP の Fc γ レセプター (IgG 抗体 Fc 領域に対するレセプター) 依存的メカニズムではエピトープ特異性が示唆されている。in vitro では、ステム抗体はヘッド抗体と比べてより強い活性を惹起させる傾向にあり、さらにステム内のエピトープの位置関係 (ウイルス膜よりか否か) によっても活性が変化する^{18,32)}。これらメカニズムは in vivo でもステム抗体の感染防御に寄与する一方²⁹⁾、ヘッド抗体ではエピトープにより異なる寄与度が報告されている^{19,33)}。そのため、それぞれの cross-group 抗体による感染防御に Fc γ レセプター依存性メカニズムがどれほど貢献しているのか詳細な比較検証が必要であると考えられる。また、エピトープ特異性だけでなく、IgG 抗体サブクラス (ヒトでは IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 の4つ) と Fc γ レセプターとの親和性は異なるため、感染防御効果の発揮を左右する重要な要素である³⁴⁾。このように防御メカニズムの詳細やエピトープ特異性が判明してきており、今後ターゲットとするエピトープに最適化したワクチン戦略の構築に活かされていくと考えられる。

5. ユニバーサルワクチン剤形への応用

隠れた cross-group エピトープをターゲットとしたワクチン抗原デザインはこれまででも進められ、その基本戦略は立体障害の原因であるヘッドを人為的に除去し conformational stem エピトープへのアクセシビリティ向上を図るものであった (ヘッドレス HA と呼ばれる)^{35,36)}。今年 (2019 年) になり、隠れたエピトープをターゲット

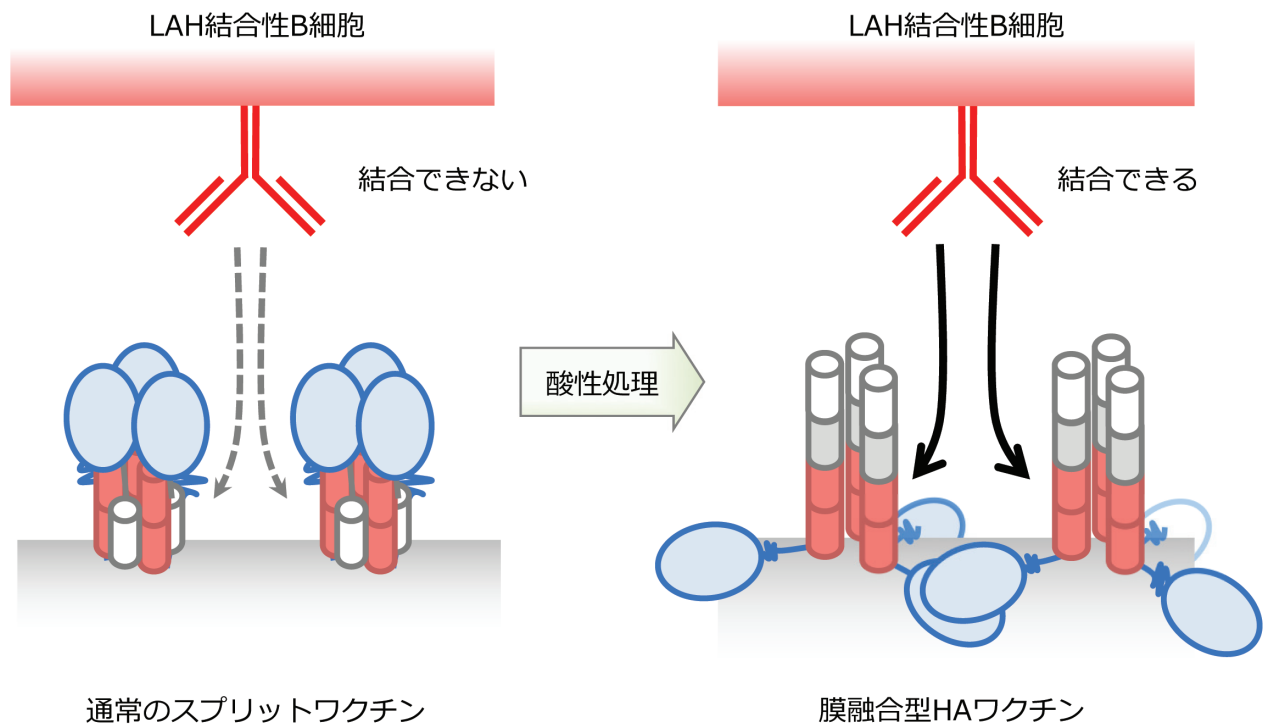


図4 LAH エピトープをターゲットとした膜融合型 HA ワクチン

とした新しいワクチン抗原に関する論文が報告されたので紹介したい。

最初の論文では、隠れたエピトープが免疫劣性になるというデメリットを逆にとり、off-target エピトープを隠すため人為的に糖鎖を過剰付加させた HA 抗原をデザインする戦略がとられた³⁷⁾。糖鎖によるエピトープの遮蔽は通常でも確認されており、HIV のエンベロープ糖タンパク質では交差抗体の誘導抑制に働くため問題とされている³⁸⁾。一方、この糖鎖過剰付加 HA では、免疫優性の off-target (で変異頻度の高い) エピトープは糖鎖で遮蔽され、免疫劣性であった Head-interface エピトープが相対的に免疫優性へと変化した(図3)。この抗原をマウスに免疫したところ、ヒトで単離された抗体のような cross-group 交差性は示さなかったものの、Head-interface エピトープに対する抗体誘導に成功しており、更なる展開が期待される。

我々のグループも、免疫学的データから着想を得て別のワクチン抗原をデザインした。ウイルス感染では、皮下ワクチン接種と比べて交差性抗体量が増加する³⁹⁾。また、ウイルス感染させたマウスの肺組織では、ステム結合性 B 細胞が優先的に選択されることを筆者らは見出ししていた⁴⁰⁾。そこで、このウイルス複製が生じる肺組織でのユニークな B 細胞応答を詳細に解析するため、シングル B 細胞培養システム⁴¹⁾を用いた網羅的なエピトープ解析を行い、ターゲットの1つが LAH エピトープであることを特定した¹⁵⁾。LAH エピトープは通常の HA 三量体構造では隠れて存在

しているが、膜融合時にエンドソーム内の酸性条件 (<pH 5.5) を引き金とし、ヘッドが開裂して、LAH が露出した“膜融合型 HA”へ構造変化する(図4)⁴²⁾。そこで現行ワクチン抗原を酸性処理して作製した膜融合型 HA ワクチンをマウスに免疫した結果、LAH エピトープに対する抗体誘導に成功した。このワクチン剤形は従来のワクチン製造に比較的簡単な工程を加えることで作製可能であることが大きなメリットであり、実用化に向けた今後の進展に期待したい。

おわりに

ヒト交差防御抗体の分離から約 10 年、B 細胞のシングルセル培養技術や抗体再構築技術、構造解析技術の目覚ましい進歩により、交差防御抗体の特徴やそのエピトープに関する知見が蓄積されてきた。これらの知見はウイルスが免疫から隠し続けてきた急所ともいえる cross-group エピトープをターゲットとした新規ワクチン剤形のデザインに活かされ、動物モデルにおいて一定の効果を上げている。しかし、ヒト交差防御抗体には自己反応性が存在することや²²⁾、誘導された交差防御抗体の持続性が通常の抗体と比較して短い可能性を示唆する臨床データが報告されている⁴³⁾。また過去経験した抗原の記憶がその後の B 細胞レパトア選択に影響を与えることが示唆されていることなどから⁴⁴⁾、動物モデルとヒトでは交差防御抗体応答が大きく異なる可能性は否定できない。加えて交差防御抗体の中

には、Fc領域依存的に防御を行うものが存在するため、防御メカニズムに適した抗体誘導を視野に入れ、アジュバントデザインなどの分野も広く包括した研究開発体制が求められるだろう。ウイルス学と免疫学が融合した感染免疫学のさらなる推進が、猛威を振るい続けているインフルエンザウイルスの制圧に貢献することを期待したい。

利益相反

本稿に関連して開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Vemula, S. V., Sayedahmed, E. E., Sambhara, S. & Mittal, S. K. Vaccine approaches conferring cross-protection against influenza viruses. *Expert Review of Vaccines* **16**, 1141–1154 (2017).
- 2) Corti, D. *et al.* Tackling influenza with broadly neutralizing antibodies. *Curr. Opin. Virol.* **24**, 60–69 (2017).
- 3) Laursen, N. S. & Wilson, I. A. Broadly neutralizing antibodies against influenza viruses. *Antiviral Res.* **98**, 476–483 (2013).
- 4) Okuno, Y., Isegawa, Y., Sasao, F. & Ueda, S. A common neutralizing epitope conserved between the hemagglutinins of influenza A virus H1 and H2 strains. *J. Virol.* **67**, 2552–2558 (1993).
- 5) Sautto, G. A., Kirchenbaum, G. A. & Ross, T. M. Towards a universal influenza vaccine: different approaches for one goal. *Virol. J.* **15**, 1–12 (2018).
- 6) Chen, Y. *et al.* Influenza Infection in Humans Induces Broadly Article Influenza Infection in Humans Induces Broadly Cross-Reactive and Protective Neuraminidase-Reactive Antibodies. *Cell* **173**, 417–429 (2018).
- 7) Aoyama, T., Nobusawa, E. & Kato, H. Comparison of Complete Amino Acid Sequences among 13 Serotypes of Hemagglutinins and Receptor-Binding Properties of Influenza A Viruses Indirect immunofluorescence. *Virology* **182**, 475–485 (1991).
- 8) Tong, S. *et al.* New World Bats Harbor Diverse Influenza A Viruses. *PLoS Pathog.* **9**, e1003657 (2013).
- 9) Wrammert, J. *et al.* Rapid cloning of high-affinity human monoclonal antibodies against influenza virus. *Nature* **453**, 667–671 (2008).
- 10) Wiley DC, Wilson IA, S. J. Structural identification of the antibody-binding sites of Hong Kong influenza haemagglutinin and their involvement in antigenic variation. *Nature* **289**, 373–378 (1981).
- 11) Kallewaard, N. L. *et al.* Structure and Function Analysis of an Antibody Recognizing All Influenza A Subtypes. *Cell* **166**, 596–608 (2017).
- 12) Corti, D. *et al.* A neutralizing antibody selected from plasma cells that binds to group 1 and group 2 influenza A hemagglutinins. *Science* **333**, 850–856 (2011).
- 13) Dreyfus, C. *et al.* Highly Conserved Protective Epitopes on Influenza B Viruses. *Science* **337**, 1343–1349 (2012).
- 14) Wang, T. T. *et al.* Vaccination with a synthetic peptide from the influenza virus hemagglutinin provides protection against distinct viral subtypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 18979–18984 (2010).
- 15) Adachi, Y. *et al.* Exposure of an occluded hemagglutinin epitope drives selection of a class of cross-protective influenza antibodies. *Nat. Commun.* **10**, 3883 (2019).
- 16) Ohshima, N. *et al.* Naturally Occurring Antibodies in Humans Can Neutralize a Variety of Influenza Virus Strains, Including H3, H1, H2, and H5. *J. Virol.* **85**, 11048–11057 (2011).
- 17) Ekiert, D. C. *et al.* Cross-neutralization of influenza A viruses mediated by a single antibody loop. *Nature* **489**, 526–532 (2012).
- 18) Watanabe, A. *et al.* Antibodies to a Conserved Influenza Head Interface Epitope Protect by an IgG Subtype-Dependent Mechanism. *Cell* **177**, 1124–1135 (2019).
- 19) Bangaru, S. *et al.* A Site of Vulnerability on the Influenza Virus Hemagglutinin Head Domain Trimer Interface. *Cell* **177**, 1136–1152 (2019).
- 20) Victora, G. D. & Nussenzweig, M. C. Germinal Centers. *Annu. Rev. Immunol.* **30**, 429–457 (2012).
- 21) Ise, W. *et al.* T Follicular Helper Cell-Germinal Center B Cell Interaction Strength Regulates Entry into Plasma Cell or Recycling Germinal Center Cell Fate. *Immunity* **48**, 702–715 (2018).
- 22) Andrews, S. F. *et al.* Immune history profoundly affects broadly protective B cell responses to influenza. *Sci. Transl. Med.* **7**, 316ra192 (2015).
- 23) Das, D. K. *et al.* Direct Visualization of the Conformational Dynamics of Single Influenza Hemagglutinin Trimers. *Cell* **174**, 926–937 (2018).
- 24) Rey, F. A., Stiasny, K., Vaney, M., Dellarole, M. & Heinz, F. X. The bright and the dark side of human antibody responses to flaviviruses: lessons for vaccine design. *EMBO Rep.* **19**, 206–224 (2018).
- 25) Munro, J. B. & Lee, K. K. Probing Structural Variation and Dynamics in the HIV-1 Env Fusion Glycoprotein. *Curr. HIV Res.* **16**, 5–12 (2018).
- 26) Tan, G. S. *et al.* Characterization of a Broadly Neutralizing Monoclonal Antibody That Targets the Fusion Domain of Group 2 Influenza A Virus. *J. Virol.* **88**, 13580–13592 (2014).
- 27) Ekiert, D. C. *et al.* Antibody Recognition of a Highly Conserved Influenza Virus Epitope. *Science* **324**, 246–252 (2009).
- 28) Yamayoshi, S. *et al.* A Broadly Reactive Human Anti-hemagglutinin Stem Monoclonal Antibody That Inhibits Influenza A Virus Particle Release. *EBioMedicine* **17**, 182–191 (2017).
- 29) Dilillo, D. J., Tan, G. S., Palese, P. & Ravetch, J. V. Broadly neutralizing hemagglutinin stalk-specific antibodies require FcR interactions for protection against influenza virus in vivo. *Nat. Med.* **20**, 143–151 (2014).
- 30) Dunand, C. J. H. *et al.* Both Neutralizing and Non-Neutralizing Human H7N9 Confer Protection Article Both Neutralizing and Non-Neutralizing Human H7N9 Influenza Vaccine-Induced Monoclonal Antibodies Confer Protection. *Cell Host Microbe* **19**, 800–813 (2016).

- 31) Wu, Y. *et al.* A potent broad-spectrum protective human monoclonal antibody crosslinking two haemagglutinin monomers of influenza A virus. *Nat. Commun.* **6**, 7708 (2015).
- 32) Leon, P. E. *et al.* Optimal activation of Fc-mediated effector functions by influenza virus hemagglutinin antibodies requires two points of contact. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **113**, E5944–E5951 (2016).
- 33) DiLillo, D. J., Palese, P., Wilson, P. C. & Ravetch, J. V. Broadly neutralizing anti-influenza antibodies require Fc receptor engagement for in vivo protection. *J. Clin. Invest.* **126**, 605–610 (2016).
- 34) Bruhns, P. Properties of mouse and human IgG receptors and their contribution to disease models. *Blood* **119**, 5640–5649 (2012).
- 35) Yassine, H. M. *et al.* Hemagglutinin-stem nanoparticles generate heterosubtypic influenza protection. *Nat. Med.* **21**, 1065–1070 (2015).
- 36) Impagliazzo, A. *et al.* A stable trimeric influenza hemagglutinin stem as a broadly protective immunogen. *Science* **349**, 1301–1306 (2015).
- 37) Bajic, G. *et al.* Influenza Antigen Engineering Focuses Immune Responses to a Subdominant but Broadly Protective Viral Epitope. *Cell Host Microbe* **25**, 1–9 (2019).
- 38) Crispin, M., Ward, A. B. & Wilson, I. A. Structure and Immune Recognition of the HIV Glycan Shield. *Annu. Rev. Biophys.* **47**, 499–523 (2018).
- 39) Margine, I. *et al.* H3N2 Influenza Virus Infection Induces Broadly Reactive Hemagglutinin Stalk Antibodies in Humans and Mice. *J. Virol.* **87**, 4728–4737 (2013).
- 40) Adachi, Y. *et al.* Distinct germinal center selection at local sites shapes memory B cell response to viral escape. *J. Exp. Med.* **212**, 1709–1723 (2015).
- 41) Kuraoka, M. *et al.* Complex Antigens Drive Permissive Clonal Selection in Germinal Centers. *Immunity* **44**, 542–552 (2016).
- 42) Garcia, N. K., Guttman, M., Ebner, J. L. & Lee, K. K. Dynamic changes during acid-induced activation of influenza hemagglutinin. *Structure* **23**, 665–676 (2015).
- 43) Ellebedy, A. H. *et al.* Induction of broadly cross-reactive antibody responses to the influenza HA stem region following H5N1 vaccination in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 13133–13138 (2014).
- 44) Henry, C., Palm, A. E., Krammer, F. & Wilson, P. C. From Original Antigenic Sin to the Universal Influenza Virus Vaccine. *Trends Immunol.* **39**, 70–79 (2018).

Human cross-protective antibodies to occluded epitopes in influenza hemagglutinin antigen

Yu ADACHI¹⁾, Keisuke TONOUCHI^{1, 2)}, Yoshimasa TAKAHASHI¹⁾

1) Department of Immunology, National institute of infectious diseases, Japan

2) Department of Life Science and Medical Bioscience, Waseda university, Japan

Protective antibody provides the most effective defense against influenza virus, and the aim of vaccination is to induce such antibodies in our body. Recently, novel classes of antibodies with ability to provide cross-group protection against antigenically divergent viruses were identified from humans and mice. A striking feature of the cross-protective antibodies is to target occluded epitopes that are hidden from antibody access under native trimeric HA structure; therefore, conventional influenza vaccines can not elicit such classes of antibodies at sufficient amounts for conferring broad protection. Here, we review how viruses protect these epitopes from antibody surveillance, and how antibodies against such occluded epitopes contribute to protection against virus infection. Also, we introduce the strategies for novel vaccines that induce cross-protective antibody response against the occluded epitopes.