

## 粘膜の形質細胞様樹状細胞の活性化に基づいたワクチンアジュバントの開発

|       |  |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: jpn<br>出版者:<br>公開日: 2010-11-17<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 伊保, 澄子, 前山, 順一, 松木, 孝澄<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10098/2804">http://hdl.handle.net/10098/2804</a>                                    |

# 粘膜の形質細胞様樹状細胞の活性化に基づいたワクチンアジュバントの開発

|     |   |
|-----|---|
| 著者  | 伊保 澄子, 前山 順一, 松木 孝澄   |
| URL | <a href="http://hdl.handle.net/10098/2773">http://hdl.handle.net/10098/2773</a> |

## 粘膜の形質細胞様樹状細胞の活性化に基づいた ワクチンアジュバントの開発

研究代表者：伊保 澄子（医学部、助教）

電話：0776-61-8671、メールアドレス：ihosumik@u-fukui.ac.jp

共同研究者：前山 順一（感染症研究所、主任研究官）、松木 孝澄（医学部、教授）

|                |   |
|----------------|---|
| <b>概 要</b>     | 世界規模で発生している新興・再興感染症の感染予防及び発症・重症化の阻止には、粘膜面と全身に防御免疫を誘導し得るワクチン接種が有効と考えられる。そのためには抗原と抗原応答を増強するアジュバントの経粘膜投与が必要である。そのアジュバントを開発するため、形質細胞様樹状細胞を活性化する CpG DNA (特許 3976742 号、以下 G91) の有用性を検討した。G91 をジフテリアトキソイド抗原と共にマウスへ経鼻投与したところ、毒素中和活性が誘導された。G91 投与マウスでは、非投与マウスに比べて、粘膜サンプルに抗原特異的な分泌型 IgA が多く検出され、Th1 免疫を示す IgG2a/IgG2c の血中抗体価と脾臓の IFN- $\gamma$ 産生能も高いことが示された。また、IgE 抗体は検出されず、主要臓器に大きな変化は認められなかった。G91 の粘膜アジュバントとしての有用性が示唆される。 |
| <b>関連キーワード</b> | 粘膜ワクチン、アジュバント、形質細胞様樹状細胞、CpG DNA、新興・再興感染症  |

### 研究の背景

世界規模で新興・再興感染症が発生している。その対策にワクチン接種は重要である。しかし従来の注射法では、分泌型 IgA 抗体の誘導が望めないため、感染の初期バリアとなる粘膜面での防御は期待できない。これに対し粘膜投与法は、交差性の高い分泌型 IgA 抗体の誘導により粘膜面での感染防御が期待でき、かつ全身性の免疫応答も得られるので感染症の発症・重症化の阻止に有効と考えられる。経粘膜的に防御免疫を誘導するには抗原にアジュバントを組み合わせて投与する必要があるが、本邦では実用化された粘膜アジュバントはない。安全な粘膜アジュバントの開発が喫緊課題であると思われる。

粘膜と全身に防御免疫を効率よく誘導するには、粘膜に存在する樹状細胞や抗原提示細胞の活性化

が重要である。最近、粘膜には、微生物由来の核酸を認識して大量の IFN- $\alpha$  を産生し、Th1 免疫を誘導することのできる形質細胞様樹状細胞 (以下 pDC) が存在することが明らかになった。粘膜 pDC の役割は完全には解明されていないが、定常状態では機能が抑制され、微生物が侵入するとその核酸成分を認識して IFN- $\alpha$  を産生し、Th1 免疫を誘導して感染拡大の防止に働くことが推定される。一方で pDC は、記憶 Th2 細胞を活性化する能力も備えている。また IFN- $\alpha$  にはメモリー CD8<sup>+</sup>T 細胞の増殖を維持する作用があるので、pDC の活性化は防御免疫の誘導に寄与できよう。粘膜 pDC を如何に活性化するかが、粘膜と全身に防御免疫を誘導する粘膜ワクチンの開発ポイントであると思われる。

### 研究の目的

本研究の目的は、粘膜 pDC を活性化させるアジュバントを用いて、粘膜を含む全身に防御免疫を誘導し得る、新しいタイプの粘膜ワクチンを開発することである。

pDC は TLR9 を発現しており、そのリガンドである CpG DNA は pDC に IFN- $\alpha$  の産生を誘導する。研究代表者は、ヒトとマウスのいずれにおいても pDC を活性化することのできる CpG DNA を開発してきた。そのなかのひとつである G91 は、10 鎖のパリンドローム様塩基配列からなる CpG DNA の 5 末端にグアニンカルテットを有する、BCG ゲノム疑似オ

リゴ DNA である。G91 は既存 CpG DNA の中で最強の IFN- $\alpha$  誘導活性を示す。代表的粘膜組織である口蓋扁桃から分離した細胞に G91 を加えて培養すると、pDC の活性化を介して Th1 免疫が増強する。しかも IgE は産生されない。これらのデータから研究者らは、G91 をアレルギーフリーの粘膜アジュバントとして実用化することを計画した。本年度は、マウスを用いて、経鼻投与 G91 が粘膜免疫を増強し、かつ全身性の Th1 免疫を誘導することを明らかにする。

## 研究の成果

ジフテリアトキソイド(以下 DT、5Lf/マウス)を G91 (0-50  $\mu$ g/マウス) と共にあるいは単独で、C57BL/6 及び BALB/c マウスに経鼻投与し、2、3、4 週目に追加免疫、5 週目に採血、6 週目に鼻洗浄液、肺洗浄液、糞、脾臓、肺・気道及び鼻咽頭関連リンパ組織(以下 NALT)等周辺組織、嗅球を含む脳・神経系組織を採取した。

G91 が DT と共に投与されたマウスでは、血中に毒素中和活性が検出された(図 1)。DT 特異的 IgG についてサブクラスの抗体価を測定したところ、G91 は Th1 免疫の指標となる IgG2a 抗体と IgG2c 抗体を誘導することが示された(図 2)。一方、Th2 免疫を示す IgG1 は、対照アジュバントの rCTB(リコンビナントコレラトキシン B)に比べて低い傾向にあった。脾臓細胞を DT で再刺激したときの IFN- $\gamma$  (Th1 サイトカイン)の産生も、IgG 抗体サブクラスの動態と一致して、G91 投与マウスで高いことが示された。IgE 抗体価は検出レベル以下であった。

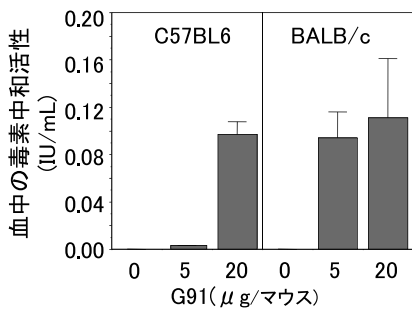


図 1. G91 を DT と共に経鼻投与すると毒素中和活性が誘導される。

粘膜の抗 DT-IgA 抗体は、鼻洗浄液、肺洗浄液、糞のいずれにおいても、G91 投与マウスで多く検出された(図 3)。

主要臓器の肺、心、腎、腸の組織に大きな変化は認められなかった。気道及び NALT 等周辺組織、脳・神経系組織については解析中である。

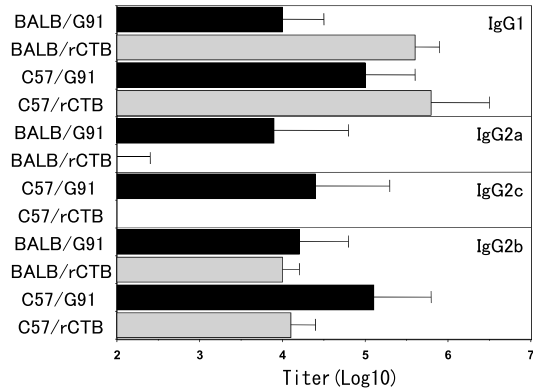


図 2. G91 を DT と共に経鼻投与すると、DT 特異的な IgG2a/IgG2c 抗体が誘導される。

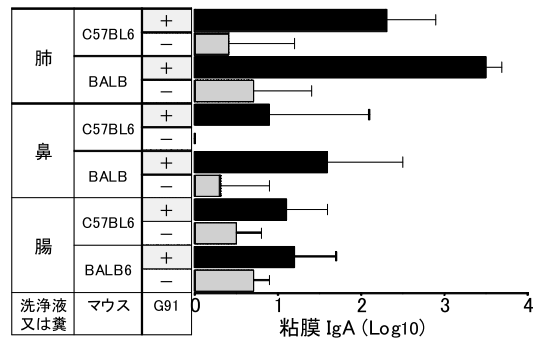


図 3. G91 を DT と共に経鼻投与すると、粘膜に DT 特異的な IgA 抗体が多く産生される。

本年度の検討により、G91 が微生物抗原と共に経鼻投与されたマウスでは、感染の初期防御を担う粘膜 IgA の産生が増強し、感染症の発症や重症化の阻止に有効な Th1 免疫も誘導されることが示された。G91 を取り入れた粘膜ワクチンの開発可能性が示唆される。今後、G91 の作用に対する pDC の関与を明らかにし、G91 の粘膜アジュバントとしての有用性を確立する予定である。

## 特記事項・発表論文など

### 「特記事項」

本研究は、成人肺結核に対する経鼻投与ワクチンの開発を具体的目標としている(日本 BCG 研究所山本三郎博士らとの共同研究)。平成 21 年度研究成果発表会ではその進捗状況についても報告した。

### 「本研究に関わる発表論文・学会発表」

- Iho, S., Osawa, Y., Takatsuka, H., Maeyama, JI., Kitagawa, H., Matsuki, T., Yamamoto, S. Unique characteristics of palindromic CpG-oligodeoxynucleotide. *In* BCG vaccine and adjuvant (in press).
- Hosono, N., Iho, S., Kishi, S., Urasaki, Y., Yoshida, A., Kurooka, H., Yokota, Y., Ueda, T. Glutathione S-transferase M1 inhibits

dexamethasone-induced apoptosis in association with the suppression of Bim through dual mechanisms in a lymphoblastic leukemia cell line. *Cancer Sci.* 2010; 101(3): 767-773.

- Maeyama, JI., Iho, S., Komiyama, T., Takahashi, M., Matsuki, T., Yamamoto, S. Newly-identified phospho-diester CpG-DNA has mucosal adjuvant activity by intranasal administration with diphtheria toxoid. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, Aug. 22-27, 2010, Kobe (Control No. 2010-A-1306-ICI).