

Title	アデノウイルスベクターワクチンによる粘膜免疫誘導のメカニズム解明
Author(s)	邊見, 昌久
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69521
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 (邊見 昌久)	
論文題名	アデノウイルスベクターワクチンによる粘膜免疫誘導のメカニズム解明
論文内容の要旨	
<p>近年、世界中で猛威を振るっている新興・再興感染症の多くは粘膜を初発感染部位としている。生体防御を担う免疫系は、粘膜面を介した病原体の侵入を防ぐ粘膜免疫系と体内に侵入した病原体を排除する全身免疫系の二つに大別されることから、感染症対策には全身免疫だけでなく粘膜免疫も誘導可能なワクチンが理想とされている。しかしながら、従来の注射型ワクチンでは全身免疫を誘導可能であるものの、効果的な粘膜免疫は誘導できないことが問題となっており、強力な感染能を有する病原体に対するワクチンは実用化されていないのが現状である。遺伝子治療研究において広く利用されているアデノウイルスベクター (Adv) は、病原体の抗原遺伝子を搭載することで遺伝子ワクチンとして応用可能である。Advワクチンは搭載抗原特異的な抗体を誘導するだけでなく、抗原特異的な細胞傷害性T細胞 (CTL) の誘導能も優れており、現在種々の病原体に対する臨床研究が進められている。そして驚くべきことに、Advワクチンをマウスおよびサルの大腿四頭筋内に注射投与することで、全身系のみならず腸管粘膜面にも感染症予防に効果的なレベルの抗原特異的なCTLを誘導可能であることが報告されている。以上のことからAdvワクチンは、粘膜免疫系および全身免疫系による二段構えの感染防御を実現可能な次世代型のワクチン基盤となることが期待される。しかしながら、Advワクチンによる獲得免疫誘導メカニズムには不明な点が多い。</p> <p>獲得免疫応答の誘導には自然免疫の活性化が必須である。過去に当研究室では、Advが自然免疫関連サイトカインの一つであるI型インターフェロン (IFN) 産生を誘導すること、さらにI型IFNが全身系ではなく腸管粘膜面での抗原特異的なCTLの誘導に重要であることを報告している。このことから、Advにより惹起されるI型IFNシグナルが腸管粘膜免疫を選択的に制御していると考えられるが、そのメカニズムは不明であった。そこで、I型IFNシグナルによる腸管粘膜CTL誘導のメカニズムを細胞・分子レベルで解明することで、より優れたAdvワクチンや新規アジュバントの開発に繋げることができるのではないかと考え、本論文ではI型IFN受容体欠損 (<i>Ifnar2^{-/-}</i>) マウスを用いることでそのメカニズムの解明を目指した。</p> <p>まず、I型IFNシグナルによる直接的な腸管粘膜CTL誘導の制御の可能性について検討を行ったところ、I型IFNシグナルは所属リンパ節における抗原特異的なCTLのプライミングや腸管粘膜面への遊走能獲得に重要ではないことが確認された。このことより、I型IFNシグナルが別の経路を介して間接的に腸管粘膜CTLの誘導を制御している可能性が考えられたため、CTL誘導において重要なヘルパーT細胞に着目して検討を行った。まず、ヘルパーT細胞の各種分化誘導サイトカインについて所属リンパ節における遺伝子発現を解析した結果、17型ヘルパーT細胞 (Th17) の分化誘導サイトカインの遺伝子発現がI型IFNシグナル依存的に上昇していることが明らかとなった。さらに、この結果と関連して、Adv筋肉内投与後の所属リンパ節においてI型IFNシグナルを介して抗原特異的なTh17が誘導されていることが明らかとなった。これまでの研究により、Th17は多様な免疫現象に関与していることが明らかとなってきたが、Th17がCTLの活性化や増殖を促進することや腸管粘膜面への高い遊走能を有することも報告されている。したがって、I型IFNシグナルにより所属リンパ節で誘導されたTh17が腸管粘膜面へと遊走し、腸管粘膜CTLの誘導を制御している可能性が考えられた。これを検討するため、まず、腸管粘膜面における抗原特異的なTh17の誘導を調べたところ、<i>Ifnar2^{-/-}</i>マウスの腸管粘膜面では抗原特異的なTh17誘導の減弱が認められた。このことから、I型IFNシグナルにより腸管粘膜面へと抗原特異的なTh17が誘導されていることが明らかとなった。次に、腸管粘膜CTL誘導におけるTh17の重要性を明らかにするため、Th17分化誘導サイトカインの一つであるインターロイキン-6 (IL-6) を中和抗体により阻害することで、Adv筋肉内投与後のTh17分化を阻害する実験を行った。その結果、anti-IL-6抗体によりTh17分化を阻害したマウスでは、腸管粘膜面での抗原特異的なCTL誘導が減弱したことから、Th17が腸管粘膜面でのCTL誘導に重要である可能性が示された。過去に当研究室では、<i>Ifnar2^{-/-}</i>マウスにおいて腸管粘膜CTLの誘導が減弱することを確認していることから、<i>Ifnar2^{-/-}</i>マウスにTh17を移入することでその誘導が回復するのではないかと考え、Th17の移入実験を行うこととした。その結果、<i>Ifnar2^{-/-}</i>マウスにTh17を移入することで、腸管粘膜CTLの誘導が回復することが明らかとなった。以上のこ</p>	

とより、Th17が腸管粘膜面での抗原特異的なCTLの誘導に重要であることを世界で初めて明らかとした。最後に本メカニズムを応用し、Th17をターゲットとすることでAdvのワクチン効果を増強できないかと考えた。そこで、化合物XによりAdv筋肉内投与後のTh17分化を促進したところ、抗原特異的な腸管粘膜CTLの誘導を増強可能であることが示された。したがって本研究成果により、ミエロイド系細胞をターゲットとして自然免疫活性化を強く誘導する従来のアジュバントと異なり、ヘルパーT細胞をターゲットとしてその分化を促進するアジュバントによりワクチン効果を増強するという新たなコンセプトに繋がる知見を得た。以上、本研究成果がより優れたAdvワクチンや新規アジュバントの開発に繋がり、感染症予防の発展に貢献できるものと期待している。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (邊見 昌久)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教 授 水口 裕之
	副 査 教 授 八木 清仁
	副 査 教 授 岡田 直貴
論文審査の結果の要旨	
<p>感染症予防においては、病原体の侵入部位である粘膜面へ獲得免疫応答を誘導可能なワクチンの開発が急務であるが、従来の注射型ワクチンは獲得免疫応答を全身系へと誘導可能である一方で粘膜面へは誘導できない。遺伝子治療用ベクターであるアデノウイルスベクター(Adv)は、筋肉内投与により全身系だけでなく腸管粘膜面にも搭載抗原特異的な細胞傷害性T細胞(CTL)を誘導可能であることから、次世代型ワクチンへの応用が期待されている。しかしながら、その免疫応答誘導メカニズムには不明な点が多く残されていることから、本メカニズムの解明はより優れたAdvワクチンや新規アジュバントの開発に繋がると考えられる。獲得免疫応答の誘導には自然免疫の活性化が必須であり、当研究室では、自然免疫シグナルの一つであるI型インターフェロン(IFN)シグナルがAdvワクチン投与後の腸管粘膜CTL誘導に重要であることを過去に報告している。そこで本論文では、I型IFNシグナルによる腸管粘膜CTL誘導の細胞・分子レベルでのメカニズム解明を目指した。本検討により以下の結果を得た。</p>	
<ol style="list-style-type: none"> 1. I型IFNシグナルが所属リンパ節において17型ヘルパーT細胞(Th17)分化誘導サイトカインの発現を亢進させ、また炎症性樹状細胞を誘引および活性化することで、抗原特異的なTh17を誘導することを示した。 2. I型IFNシグナルにより腸管粘膜面へと抗原特異的なTh17が誘導されることを示した。 3. I型IFNシグナルを介した腸管粘膜面における抗原特異的なCTL誘導にTh17が重要であることを明らかとした。 4. Adv筋肉内投与によるTh17誘導を増強させることで、腸管粘膜CTLの誘導を促進可能であることを示した。 	
<p>以上、本論文では、筋肉内に投与されたAdvワクチンによって獲得免疫応答が腸管粘膜面へと誘導されるメカニズムの解明を行い、I型IFNシグナルにより誘導されるTh17が腸管粘膜CTLの誘導に重要であることを世界で初めて明らかとした。さらに、今回明らかとしたメカニズムを応用することで、Th17誘導の増強により腸管粘膜CTLの誘導を促進可能であるという新規アジュバントコンセプトに繋がる知見を得た。したがって本成果は、より効果的で安全なAdvワクチンの開発を前進させるだけでなく、従来の注射型ワクチンに対して新たに粘膜免疫誘導能を付与できるようなアジュバントの開発に繋がることも期待されることから、本論文は極めて意義深く、博士(薬科学)の学位論文に値するものと認める。</p>	