

令和元年5月29日現在

機関番号：24402

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19543

研究課題名(和文) 樹状細胞改変粘膜免疫誘導型次世代ワクチンの開発研究

研究課題名(英文) Development study of next generation mucosal vaccine by dendritic cell modification

研究代表者

植松 智 (Uematsu, Satoshi)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：50379088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：CpG-ODNとカードランをアジュバントとして用いた筋中免疫は、抗原特異的全身性応答(例えば、IgGおよびTh1産生)を誘導するだけでなく、便中に抗原特異的SIgAを誘導した。経口で抗原投与すると、3ヶ月以上高レベルの抗原特異的糞便IgAを誘導した。さらに、抗原特異的Th1およびTh17応答も、追加免疫後に腸で誘導された。ブースト効果は、肺および膣においても誘導された。マウスに肺炎球菌抗原PspAをこの免疫法によってワクチン接種し、PspAを気道へ投与すると、肺炎球菌の組織侵入を顕著に抑制できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病原体特異的全身性免疫と粘膜免疫を誘導することができる次世代ワクチンの開発が切望されている。このブライムブースト法は、強力に長期間の抗原特異的粘膜免疫および全身免疫を誘導することができ、革新的な注射用粘膜ハイブリッドワクチン技術である。今後、基剤の変更により、人で使用できる形態になると考えられる。このワクチン法でワクチンをつけておけば、流行が起こる都度、抗原のみを粘膜面に添加することによって、強力な抗原特異的な粘膜免疫応答を惹起でき、感染そのものを予防することが可能となると考える。全く新しい感染症予防法が確立されつつあると考える。

研究成果の概要(英文)：Intramuscular immunization with CpG-ODN and curdlan as adjuvants induced not only antigen(Ag)-specific systemic responses (eg, IgG and Th1 production), but also Ag-specific SIgA in feces. Oral challenge induced high levels of Ag-specific fecal IgA for over 3 months. In addition, Ag-specific Th1 and Th17 responses were also induced in the gut following boost. The boost effect was also induced in the lung and vagina. When mice were vaccinated with the pneumococcal antigen PspA by this immunization method and PspA was administered to the respiratory tract, it was possible to significantly suppress pneumococcal tissue invasion.

研究分野：免疫学

キーワード：IgA 粘膜免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

感染症において、ワクチン接種は最も効果のある予防法の一つである。現在、多くのワクチンは、皮下接種が中心であり、病原体特異的な IgG や Th1 応答といった全身性の免疫応答の誘導を介して重症化予防に大きく貢献している。しかしながら、多くの病原体は粘膜面から感染するので、病原体の侵入防御には粘膜面における病原体特異的な分泌型 IgA の誘導が重要となるが、皮下接種ワクチンでは分泌型 IgA の誘導は見られない。そのため、経鼻ワクチンなどが開発されているが、気道での IgA が誘導されるものの、皮下接種に比べて全身性の免疫応答の誘導がしばしば弱いことが問題となる。病原体特異的な全身性の強力な病原体特異的な IgG と Th1 応答をしっかりと誘導しつつ、感染門戸の粘膜面で高力価の病原体特異的な分泌型 IgA (SIgA) を誘導できる「粘膜ワクチン」の開発が期待されている。申請者は、腸管粘膜固有層において IgA を誘導する責任樹状細胞 (DC) を同定した (Uematsu S. et al, *J. Immunol*, 2011.)。その DC におけるレチノイン酸合成酵素 Raldh2 の発現が IgA 誘導に必須である知見を得た。スクリーニングの結果、1,3-グルカンが conventional DC (cDC) において Raldh2 を誘導することを見出した。DC の活性化のために CpG DNA を、粘膜型に変換 (Raldh2 を発現) するために 1,3-グルカンをうい、抗原と不完全フロイントアジュバント (IFA) と共に筋注すると、抗原特異的な IgG (血中) と SIgA (糞中) を誘導できるのを見出した。

2. 研究の目的

本研究課題では、全身免疫に加えて粘膜免疫を付加できる次世代粘膜ワクチンの開発のために当該免疫法の実用化に向けた萌芽的研究を推進する。動物モデルで評価系の確立を行い当該免疫法で誘導される免疫応答の解析、刺入部で IgA を誘導する DC サブセットの同定、消化管感染防御効果の検討、呼吸器感染防御効果の検討、IgA 誘導 DC の同定と機能解析、霊長類モデルでワクチン効果評価系の確立を行い、抗原特異的な IgA の誘導と呼吸器感染症に対する中和効果を検討する。

3. 研究の方法

本申請課題では、cDC において Raldh2 を誘導する天然物のスクリーニングの結果得られた 1,3-グルカンを新規粘膜アジュバントとして用いて、注射型の免疫によって腸管に抗原特異的な IgA を誘導する次世代粘膜ワクチンの開発を行うことを目的としている。抗原として卵白アルブミン (OVA)、CpG DNA そして 1,3-グルカンを不完全フロイントアジュバントとともに、マウスの皮下に注射してやることによって、血中の抗原特異的な IgG だけでなく、糞便中に抗原特異的な sIgA を誘導出来る。誘導後、各臓器における抗原特異的な免疫応答を解析する。さらにワクチン刺入部において、IgA を誘導する抗原提示細胞サブセットを同定する。このワクチン接種法によって、消化管感染、呼吸器感染防御機構の解析を行う。さらに人への応用に向けた解析を進める。

4. 研究成果

当該免疫により、抗原特異的な血中 IgG と一過性の抗原特異的な糞中 IgA が誘導される。IgA 消退後、抗原だけを経口投与すること (ブースト) により、3ヶ月以上高力価の抗原特異的な糞中 IgA を維持できる。さらにブーストによって腸管粘膜において強力な抗原特異的な Th1 及び Th17 応答も付加することができた。ワクチン刺入部では、CpG DNA によって cDC が活性化され、さらに 1,3-グルカンの作用によって Raldh2 を誘導し粘膜樹状細胞へと変化し、IgA 誘導能を獲得することが分かった。このワクチン接種法によって、コレラ毒素による下痢症及び、肺炎球菌に対して顕著に感染の成立を抑制できることが明らかになった。

IFA は、人へのアジュバント仕様が認められていない。現在、エマルジョン、及びリポソーム

△に基剤を変更し、人への応用実験を進めている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 13 件)

1. Ikeda-Matsuo Y, Miyata H, Mizoguchi T, Ohama E, Naito Y, Uematsu S, Akira S, Sasaki Y, Tanabe M. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a critical factor in dopaminergic neurodegeneration in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2018 Nov 10;124:81-92. doi: 10.1016/j.nbd.2018.11.004. [Epub ahead of print]
2. Lee EY, Zhang X, Miyamoto J, Kimura I, Taknaka T, Furusawa K, Jomori T, Fujimoto K, Uematsu S, Miki T. Gut carbohydrate inhibits GIP secretion via a microbiota/SCFA/FFAR3 pathway. *J Endocrinol*. 2018 Dec 1;239(3):267-276. doi: 10.1530/JOE-18-0241.
3. Flores-Langarica A, Cook C, Müller Luda K, Persson EK, Marshall JL, Beristain-Covarrubias N, Yam-Puc JC, Dahlgren M, Persson JJ, Uematsu S, Akira S, Henderson IR, Lindbom BJ, Agace W, Cunningham AF. Intestinal CD103⁺CD11b⁺ cDC2 Conventional Dendritic Cells Are Required for Primary CD4⁺ T and B Cell Responses to Soluble Flagellin. *Front Immunol*. 2018 Oct 17;9:2409. doi: 10.3389/fimmu.2018.02409. eCollection 2018.
4. Yamamoto T, Endo Y, Onodera A, Hirahara K, Asou HK, Nakajima T, Kanno T, Ouchi Y, Uematsu S, Nishimasu H, Nureki O, Tumes DJ, Shimojo N, Nakayama T. DUSP10 constrains innate IL-33-mediated cytokine production in ST2^{hi} memory-type pathogenic Th2 cells. *Nat Commun*. 2018 Oct 12;9(1):4231. doi: 10.1038/s41467-018-06468-8.
5. Usui Y, Kimura Y, Satoh T, Takemura N, Ouchi Y, Ohmiya H, Kobayashi K, Suzuki H, Koyama S, Hagiwara S, Tanaka H, Imoto S, Eberl G, Asami Y, Fujimoto K, Uematsu S. Effects of long-term intake of a yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 2038 and *Streptococcus thermophilus* 1131 on mice. *Int Immunol*. 2018 Jun 26;30(7):319-331. doi: 10.1093/intimm/dxy035.
6. Ouchi Y, Patil A, Tamura Y, Nishimasu H, Negishi A, Paul SK, Takemura N, Satoh T, Kimura Y, Kurachi M, Nureki O, Nakai K, Kiyono H, Uematsu S. Generation of tumor antigen-specific murine CD8⁺ T cells with enhanced anti-tumor activity via highly efficient CRISPR/Cas9 genome editing. *Int Immunol*. 2018 Apr 3;30(4):141-154. doi: 10.1093/intimm/dxy006.
7. Komine O, Yamashita H, Fujimori-Tonou N, Koike M, Jin S, Moriwaki Y, Endo F, Watanabe S, Uematsu S, Akira S, Uchiyama Y, Takahashi R, Misawa H, Yamanaka K. Innate immune adaptor TRIF deficiency accelerates disease progression of ALS mice with accumulation of aberrantly activated astrocytes. *Cell Death Differ*. 2018 Mar 22. doi: 10.1038/s41418-018-0098-3.
8. Takemura N, Kurashima Y, Mori Y, Okada K, Ogino T, Osawa H, Matsuno H, Aayam L, Kaneto S, Park EJ, Sato S, Matsunaga K, Tamura Y, Ouchi Y, Kumagai Y, Kobayashi D, Suzuki Y, Yoshioka Y, Nishimura J, Mori M, Ishii KJ, Rothenberg ME, Kiyono H, Akira S, Uematsu S. Eosinophil depletion suppresses radiation-induced small intestinal fibrosis. *Sci Transl Med*. 2018 Feb 21;10(429). pii: eaan0333. doi: 10.1126/scitranslmed.aan0333.

9. Nishizawa N, Ito Y, Eshima K, Ohkubo H, Kojo K, Inoue T, Raouf J, Jakobsson PJ, Uematsu S, Akira S, Narumiya S, Watanabe M, Majima M. Inhibition of microsomal prostaglandin E synthase-1 facilitates liver repair after hepatic injury in mice. *J Hepatol*. 2018 Feb 16. pii: S0168-8278(18)30126-0. doi: 10.1016/j.jhep.2018.02.009.
10. Takahashi Y, Sato S, Kurashima Y, Yamamoto T, Kurokawa S, Yuki Y, Takemura N, Uematsu S, Lai CY, Otsu M, Matsuno H, Osawa H, Mizushima T, Nishimura J, Hayashi M, Yamaguchi T, Kiyono H. A Refined Culture System for Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Intestinal Epithelial Organoids. *Stem Cell Reports*. 2018 Jan 9;10(1):314-328. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.11.004. Epub 2017 Dec 7.
11. Kurashima Y, Yamamoto D, Nelson S, Uematsu S, Ernst PB, Nakayama T, Kiyono H. Mucosal Mesenchymal Cells: Secondary Barrier and Peripheral Educator for the Gut Immune System. *Front Immunol*. 2017 Dec 13;8:1787. doi: 10.3389/fimmu.2017.01787. eCollection 2017. Review.
12. Koyanagi N, Imai T, Shindo K, Sato A, Fujii W, Ichinohe T, Takemura N, Kakuta S, Uematsu S, Kiyono H, Maruzuru Y, Arii J, Kato A, Kawaguchi Y. Herpes simplex virus-1 evasion of CD8+ T cell accumulation contributes to viral encephalitis. *J Clin Invest*. 2017 Oct 2;127(10):3784-3795. doi: 10.1172/JCI92931.
13. Eri T, Kawahata K, Kanzaki T, Imamura M, Michishita K, Akahira L, Bannai E, Yoshikawa N, Kimura Y, Satoh T, Uematsu S, Tanaka H, Yamamoto K. Intestinal microbiota link lymphopenia to murine autoimmunity via PD-1+CXCR5-/dim B-helper T cell induction. *Sci Rep*. 2017 Apr 26;7:46037. doi: 10.1038/srep46037.

〔学会発表〕(計9件)

1. **植松 智**.腸内微生物叢解析の最前線、第49回日本小児消化管機能研究会、平成31年2月16日、大阪、日本
2. **植松 智**.腸内ウイルス叢の解析について、第83回日本インターフェロンサイトカイン学会シンポジウム「共生と微生物研究の最前線」、平成30年7月26日、東京、日本
3. Uematsu S. Eosinophil depletion is a potential therapeutic strategy for radiation-induced fibrosis in small intestine, 18th WORLD CONGRESS OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY (WCP2018), Symposia: Immunology, Inflammation and Bone Metabolism. July 6, 2018, Kyoto, Japan
4. **植松 智**.強力に全身免疫と粘膜免疫を誘導する革新的な粘膜ワクチンの開発、BIO Tech2018、平成30年6月28日、東京、日本
5. **植松 智**.好酸球と筋線維芽細胞の相互作用は、放射線誘導性線維症に必須の役割を果たす、第42回日本リンパ学会総会シンポジウム、平成30年6月22日、弘前市、日本
6. Uematsu S. Role of innate immunity in acute and chronic small intestinal radiation injury, The 1st International Workshop on Radiation-induced Stem Cell Injury and Regeneration, 2017/9/20, Tianjin, China.
7. **Satoshi Uematsu**. Intestinal dendritic cell and mucosal vaccine development,第16回淡路島感染症免疫フォーラム,2017/9/8,洲本市,国内.
8. **植松 智**.腸管微生物叢解析の最前線,第24回日本遺伝子診療学会大会,2017/7/13,千葉市,国内.

9. **植松 智**. 腸管樹状細胞と粘膜ワクチンの開発, 第41回日本リンパ学会学術集会, 2017/6/2, 鹿児島市, 国内.

〔図書〕(計10件)

1. **植松 智**, 武村 直紀. 好酸球を標的とした放射線誘導性腸線維症の新規治療戦略、放射線生物研究 53(2) 63(95-103) 2018年6月
2. **植松 智**. リンパ系を多面的に解く リンパ球と免疫 腸管樹状細胞と粘膜ワクチンの開発、リンパ学 41(1) 48(25-30) 2018年6月
3. 藤本 康介, **植松 智**. 自然免疫の最前線. 内因性リガンドによる自然免疫系の活性化 腸管バリア機構と自然免疫、医学のあゆみ 265(13) 239(1198-1203) 2018年6月
4. 藤本 康介, **植松 智**. 糖尿病と動脈硬化 Update. 腸内細菌からみて、糖尿病の最新治療 9(3) 52(136-140) 2018年5月
5. 藤井 敏雄, 藤友 崇, 辻 亮平, 加藤 悠希子, 澤井 典子, 松岡 悠美, **植松 智**, 金内 理. Lactococcus lactis JCM 5805 含有食品摂取が健常な成人皮膚へ及ぼす効果、日本皮膚科学会雑誌 128(5) 459(1174-1174) 2018年5月
6. 藤本康介, **植松 智**. 「ワクチンアジュバントと粘膜ワクチンの基盤となる自然免疫細胞解析」、『医学のあゆみ』, 医歯薬出版株式会社、264(5) 143(397-402) 2018年5月
7. 藤本康介, **植松 智**. 「腸内真菌叢の解析」、『医学のあゆみ』, 医歯薬出版株式会社、264(2) 78(180-181) 2018年2月
8. 武村直紀, **植松 智**. 「放射線による腸上皮バリア破壊における自然免疫の役割」, 実験医学増刊号 生体バリア、35(7) 228(121-126)、2017年7月

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

1.
名称: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING RADIATION-INDUCED GASTROINTESTINAL SYNDROME
発明者: **植松智**、武村直紀、審良静男
権利者: 国立大学法人東京大学、国立大学法人大阪大学
種類: 特許
番号: 61/859,814
出願年: 2013年7月30日
国内外の別: アメリカ合衆国
2.
名称: 粘膜ワクチンアジュバントのスクリーニング方法
発明者: 審良静男、**植松智**
権利者: 独立行政法人 科学技術振興機構、大阪大学
種類: 特許
番号: 特願 2006-146012
出願年: 2006年5月25日
国内外の別: 国内

取得状況（計 1 件）

名称：ワクチン用アジュバント、ワクチン組成物、及び免疫誘導方法

発明者：植松智、武村直紀

権利者：国立大学法人東京大学

種類：特許

番号：特願 2015-117871

取得年：2015 年 6 月 10 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/immunology-genomics/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし