

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月20日現在

機関番号：82603

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2010～2012

課題番号：22689031

研究課題名（和文） 自然リンパ球による肺炎球菌認識機構の解明

研究課題名（英文） The mechanisms of recognition of *Streptococcus pneumoniae* by innate lymphocytes

研究代表者

金城 雄樹 (KINJO YUKI)

国立感染症研究所・生物活性物質部・室長

研究者番号：20570831

研究成果の概要（和文）：

日本人の死因の第3位は肺炎である。本研究では、肺炎をおこす重要な原因菌である肺炎球菌に対する感染防御機構の解明を目指して解析を行い、NKT細胞というリンパ球が肺炎球菌感染後速やかに細菌の糖脂質抗原を認識することを見出した。また、NKT細胞による糖脂質抗原の認識は菌の排除に重要であることが分かった。ヒトNKT細胞もマウス同様に肺炎球菌糖脂質に反応することから、NKT細胞による糖脂質の認識は肺炎球菌感染防御に重要な役割を担うと考えられる。

研究成果の概要（英文）：

Pneumonia is the third leading cause of death in Japan. The aim of this research project is to elucidate the mechanisms of host defense against *Streptococcus pneumoniae*, the leading causative agent of pneumonia. We have found that a lymphocyte called NKT cell detects bacterial glycolipid antigen rapidly after *S. pneumoniae* infection. Our data show that the recognition of glycolipid antigen by NKT cell is important for bacterial clearance. Furthermore, human NKT cells also respond to *S. pneumoniae* glycolipid similar to mouse NKT cells. These data indicate that the recognition of bacterial glycolipid antigen by NKT cells plays an important role in the host defense against *S. pneumoniae* infection.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,100,000	0	5,100,000
2011年度	5,000,000	0	5,000,000
2012年度	5,000,000	0	5,000,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	0	15,100,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード： 感染症・内科・免疫学・細菌・脂質

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因の第3位は肺炎である。肺炎球菌は、市中肺炎及びインフルエンザ感染後の二次性細菌性肺炎の起炎菌として最も頻度が高い細菌の一つであることから、肺炎球菌に対する新しいワクチンや治療法の開発が求められている。

私達は最近、自然リンパ球（自然免疫に関与するリンパ球）のNKT細胞が細菌の糖脂質を認識するという新しい細菌認識機構を見つけた（Nature 2005、Nat Immunol 2006）。

2. 研究の目的

本研究では、自然リンパ球のNKT細胞が認識する肺炎球菌由来の抗原を同定し、自然リンパ球による肺炎球菌認識機構を解明する。

3. 研究の方法

(1) 肺炎球菌糖脂質によるNKT細胞刺激解析

肺炎球菌より精製した糖脂質がNKT細胞の抗原であるかどうか調べるため、マウスのNKT細胞と培養し、サイトカイン産生を調べた。また、肺炎球菌糖脂質を樹状細胞に取り込ませたのち、マウスに接種し、生体内でNKT細胞を刺激するかどうか解析を行った。また、ヒトのNKT細胞株を用いて、肺炎球菌糖脂質によるNKT細胞刺激能を解析した。

(2) 肺炎球菌糖脂質の構造解析

肺炎球菌より精製した糖脂質の構造を質

量分析、NMRなどにて解析した。また、脂肪酸の結合部位を同定するため、脂肪酸の種類及び結合部位の異なる数種類の化合物を合成し、NKT細胞の刺激活性を調べた。

(3) X線結晶構造解析

肺炎球菌糖脂質と抗原提示分子CD1dの結合様式を分子レベルで解明するために、X線結晶構造解析を行った。また、NKT細胞のT細胞受容体による肺炎球菌糖脂質抗原の認識機構を分子レベルで解析するために、CD1d/肺炎球菌糖脂質/T細胞受容体の3量体のX線結晶構造解析を行った。

(4) 肺炎球菌排除に及ぼすNKT細胞による糖脂質認識阻害の影響

NKT細胞による糖脂質認識が肺炎球菌の排除に及ぼす影響を解析するため、マウスに阻害抗体またはコントロール抗体を投与し、肺炎球菌感染3日後の肺内菌数を測定した。

4. 研究成果

(1) NKT細胞が認識する肺炎球菌糖脂質抗原の同定

マウスを用いた実験により、肺炎球菌糖脂質がNKT細胞のT細胞受容体を直接刺激することを証明した。また、ヒトの末梢血単核細胞より樹立したNKT細胞株を用いて、ヒトNKT細胞もマウスと同様に肺炎球菌糖脂質に反応することを示した。

(2) 肺炎球菌糖脂質の構造の特徴と抗原性の関係の解明

肺炎球菌糖脂質の構造解析の結果、主要な脂肪酸はパルミチン酸及び哺乳類では検出することが稀なバクセン酸であることが分かった。数種類の合成化合物を用いた解析の結果、NKT 細胞が認識する肺炎球菌糖脂質抗原は、*sn-1* にパルミチン酸、*sn-2* にバクセン酸が結合した構造であることを明らかにした。

(3) X線結晶構造解析によるNKT細胞抗原受容体と糖脂質/CD1d複合体の結合様式の解析

X線結晶構造解析を行い、肺炎球菌糖脂質がどのように抗原提示分子 CD1d と結合しているか分子レベルで明らかにした。さらに、CD1d/肺炎球菌糖脂質/T細胞受容体の3量体のX線結晶構造解析結果を得ることに成功し、NKT細胞のT細胞受容体による肺炎球菌糖脂質抗原の認識機構を分子レベルで明らかにした。

(4) 肺炎球菌排除に及ぼすNKT細胞による糖脂質認識阻害の影響

抗体投与により、肺炎球菌感染早期におけるNKT細胞による糖脂質抗原の認識を阻害すると、NKT細胞のサイトカイン産生および菌の排除が阻害されることが分かった。

以上の結果より、NKT細胞は肺炎球菌感染早期に糖脂質抗原を認識し、感染防御に重要な役割を担うことが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

① Kinjo Y, Illarionov PA, Vela JL, Pei B, Girardi E, Li X, Li Y, Imamura M, Kaneko Y, Okawara A, Miyazaki Y, Gomez-Velasco A, Rogers P, Dahesh S, Uchiyama S, Khurana A, Kawahara K, Yashilkaya H, Andrew PA, Wong CH, Kawakami K, Nizet V, Besra GS, Tsuji M, Zajonc DM, Kronenberg M, Invariant natural killer T cells recognize glycolipids from pathogenic Gram-positive bacteria, *Nature Immunology*, 査読有、Vol. 12, 2011, pp. 966-74
DOI:10.1038/ni.2096

② Girardi E, Yu ED, Li Y, Tarumoto N, Pei B, Wang J, Illarionov P, Kinjo Y, Kronenberg M, Zajonc DM, Unique interplay between sugar and lipid in determining the antigenic potency of bacterial antigens for NKT Cells, *PLoS Biology*, 査読有、Vol. 9, 2011, e1001189
DOI: 10.1371/journal.pbio.1001189

③ Kinjo Y, Ueno K, *i*NKT cells in microbial immunity: recognition of microbial glycolipids, *Microbiology and Immunology*, 査読有、Vol. 55, 2011, 472-82
DOI: 10.1111/j.1348-0421.2011.00338.x

④ 金城雄樹, インバリアントナチュラルキラーT細胞による病原性のグラム陽性細菌のもつ糖脂質の認識 *ライフサイエンス新着論文レビュー*, 査読無、2011.
<http://first.lifesciencedb.jp/archives/3644#more-3644>

⑤ 金城雄樹、特集 I / NKT細胞の多様性とその機能 「NKT細胞と感染免疫」炎症と免疫、査読無、20巻、2011、3-9

⑥ 金城雄樹、 α NKT細胞による細菌糖脂質の認識および肺炎球菌感染防御における重要性、医学のあゆみ、査読無、241巻、2012、601-602

⑦ 金城雄樹、肺におけるインバリアントNKT細胞による糖脂質抗原認識と細菌感染防御。実験医学、査読無、30巻、2012、152-157

[学会発表] (計5件)

① 金城雄樹、金子幸弘、樽本憲人、大川原明子、川上和義、宮崎義継、自然リンパ球による肺炎球菌認識機構の解析、第85回日本感染症学会総会・学術講演会、2011年4月21日、東京

② Kinjo Y、Illarionov PA、Vela JL、Pei B、Li X、Kaneko Y、Miyazaki Y、Nizet V、Kawakami K、Tsuji M、Kronenberg M、NKT cells recognize glycolipids from *Streptococcus pneumoniae* and GBS、International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011)、2011年9月8日、札幌

③ Li Y、Girardi E、Yu ED、Wang J、Tarumoto N、Pei B、Painter GF、Illarionov PA、Kinjo Y、Kronenberg M、Zajonc DM、Microbial glycolipid antigen recognition by invariant Natural killer T cells、The 6th International Symposium on CD1 and NKT、2011年9月24日、シカゴ、米国

④ 金城雄樹、Meet the Expert 4「自然リンパ球による感染防御～感染免疫におけるNKT細胞の役割とワクチンへの応用の可能性～」、第86回日本感染症学会総会・学術講演会、2012年4月25日、長崎

⑤ 金城雄樹、朴貞玉、大石和徳、川上和義、肺炎球菌感染防御におけるNKT細胞の役割の解析及びNKT細胞の活性化を応用した肺炎球菌ワクチン開発、第5回感染病態研究フロンティア、2012年8月4日、東京

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/bioact-3rdlab.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金城 雄樹 (KINJO YUKI)

国立感染症研究所・生物活性物質部・
室長

研究者番号：20570831

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：