

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11389

研究課題名(和文) 鼻咽腔関連リンパ組織(NALT)の免疫記憶機能を応用した新規粘膜ワクチンの開発

研究課題名(英文) Development of a novel mucosal vaccine applying the immune memory function of nasopharyngeal-related lymphoid tissue (NALT)

研究代表者

大堀 純一郎(OHORI, Junichiro)

鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師

研究者番号：90507162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、各種の感染やワクチン接種を受けた人の既存のメモリー細胞を再活性化させることで、各種抗原に対する分泌型IgA(SIgA)を再賦活化するワクチン開発を目的とした。実験にはマウスを用いた。H1N1不活化全粒子経鼻インフルエンザワクチン投与した後、数か月の期間においてhemagglutinin(HA)に対する唾液中HA特異的IgA抗体価、血清中HA特異的IgG抗体価が減少したことを確認した。その後アジュバントとしてPlasmid FLT3L (pFL)とCpG-ODNを経鼻投与し、唾液中および血清中のHA特異的抗体価を測定した。その結果、HAに対する抗体価が再活性化することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インフルエンザや肺炎球菌による肺炎の死者は現在でも多数に上る。これらに対するワクチンの開発は社会的に重要である。既感染者や、ワクチン接種者は、その抗原に対するメモリー細胞を持っていると考えられている。メモリー細胞を再活性化させることができれば、多数の抗原に対して抗原を用いずに免疫能を再活性化する可能性がある。本研究での抗原なしでアジュバントのみを投与するワクチンは、免疫能を再活性化する可能性がある。今後、そのメカニズムや効率的なアジュバントの開発、自己免疫疾患などの有害作用について検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：The Aim of this study was to develop a vaccine that recall specific secretory IgA (SIgA) against various antigens by reactivating existing immune memory cells of people who have been infected or vaccinated. Mice were nasally immunized with inactivated whole particles of H1N1 influenza virus. After several months, it was confirmed that salivary HA-specific IgA antibody titers and serum HA-specific IgG antibody titers decreased. After that, Plasmid FLT3L (pFL) and CpG-ODN were intranasally administered as adjuvants, and HA-specific antibody titers in saliva and serum were evaluated. As a result, it was confirmed that the HA specific antibody titer was recalled. It is necessary to clarify the mechanism of this recall phenomenon in the future.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：粘膜免疫 アジュバント インフルエンザ 肺炎球菌

1. 研究開始当初の背景

感染症の予防に最も効果的なのはワクチン接種であることは明らかな事実である。しかしながら、現在の季節性インフルエンザは毎年異なる 3 種の抗原に対する接種が必要であるし、インフルエンザに感染した際に重篤化しやすい高齢者に対しては、感染防御に重要な分泌型 IgA (SIgA) の産生はあまり期待できない。高齢者はこれまでに様々な感染症を経験しており、さらにワクチン接種も行っている。これらの感染や、ワクチン接種によって誘導された病原体特異的な抗体価は時間経過とともに次第に下がっていき抗原特異的なメモリー細胞がわずかに残るのみである。もし、これらのメモリー細胞を自然免疫系の賦活化のみで再活性化させることができれば、抗原なしでも多種の感染症にたいする特異的な分泌型 IgA 抗体価や血清 IgG 抗体価を再上昇させることが可能となり、各種感染症に対して一度のワクチン接種で対抗できる可能性がある。

2. 研究の目的

(1) 一度獲得した免疫の再賦活化についての検討

本研究では、まず一度獲得した病原体特異的な抗体反応を、CpG-ODN と pFL の 2 つのアジュバント (CpG-ODN+pFL ワクチン) のみを投与することで再賦活化させることができるかどうかを明らかにすることを目的とした。

(2) CpG-ODN と pFL の経鼻接種による NALT の T 細胞、B 細胞の反応についての検討

抗原なしでの病原体特異的な抗体価の上昇のメカニズムについて、メモリー T 細胞の活性化、およびメモリー B 細胞の活性化を検討する。CpG-ODN と pFL の経鼻投与により鼻咽腔関連リンパ組織 (NALT) の樹状細胞が活性化されることは周知の事実であるが、活性化した樹状細胞がメモリー細胞を活性化できるか否かについては明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 全粒子インフルエンザワクチンによるインフルエンザ特異的な免疫応答

マウスに不活化全粒子インフルエンザワクチンを 2 週間角で 2 回経鼻投与し、血清、鼻腔洗浄液を採取し、HA 特異的な IgG、IgA 抗体価を ELISA 法にて測定する。

(2) plasmid FLT3L (pFL) のアジュバント活性を測定する。

マウスにインフルエンザスプリットワクチンとアジュバントとして pFL を経鼻投与し、血清、鼻腔洗浄液を採取し、HA 特異的な IgG、IgA 抗体価を測定することで pFL のアジュバント活性を測定する。

(3) 全粒子インフルエンザワクチンで経鼻免疫したマウスを誘導された抗体価が、未免疫のマウスと同等となるまでマウスを継続飼育したのち、pFL と CpG-ODN を経鼻投与し、鼻腔洗浄液、血清を採取し、HA 特異的な IgG、IgA 抗体価を測定すること

で、アジュバントのみでの抗体の再活性化を測定する。

(4) マウスに pFL と CpGODN の経鼻投与し、NALT における樹状細胞の増加を測定した。

4. 研究成果

(1) 全粒子インフルエンザワクチンを経鼻投与し、血清、鼻腔洗浄液を採取し、HA 特異的を測定すると、血清 IgG 抗体価、鼻腔洗浄液中 IgA 抗体価ともに、上昇していた。このことから全粒子インフルエンザワクチンの経鼻投与にて、マウスに全身免疫と粘膜免疫を誘導することが明らかとなった。

(2) スプリットワクチンに pFL をアジュバントとすることで、血清中 IgG、鼻腔洗浄液中 IgA 抗体価が、上昇することが明らかとなり、pFL がアジュバント活性を持つことがあきらかとなった。さらに、pFL と CpG-ODN を同時にアジュバントとして投与することによりさらにアジュバント活性が高くなった。このことから pFL と CpG-ODN の同時投与のアジュバントが有効であることが明らかとなった。

(3) 免疫後のマウスの HA 特異的抗体価が下がったのちに、pFL と CpG-ODN のみを同時投与することにより、HA 特異的抗体の再活性化を測定すると、抗体価の上昇を認めた。

(4) pFL と CpGODN の経鼻投与により、NALT における樹状細胞数が上昇することが確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川島雅樹、大堀純一郎、黒野祐一、藤橋浩太郎
2. 発表標題 高齢マウスにおけるpFL+CpG-ODN 単独追加投与による抗原特異的免疫応答の再活性
3. 学会等名 第35回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	地村 友宏 (JIMURA Tomohiro) (10709596)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・医員 (17701)	
研究分担者	宮下 圭一 (MIYASHITA Keiichi) (30585063)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・助教 (17701)	
研究分担者	黒野 祐一 (KURONO Yuichi) (80153427)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	
研究分担者	井内 寛之 (IUCHI Hiroyuki) (90645285)	鹿児島大学・医歯学域医学系・助教 (17701)	