

平成 21 年 6 月 24 日現在

研究種目： 基盤研究 (C)  
 研究期間： 2007～2008  
 課題番号： 19590888  
 研究課題名 (和文)：  
 NKT 細胞のリガンドを用いた結核感染症に対する新規樹状細胞ワクチンの開発  
 研究課題名 (英文)：  
 Development of dendritic cell vaccine modified with a ligand of NKT cells against tuberculosis  
 研究代表者：須田 隆文 (SUDA TAKAFUMI)  
 浜松医科大学・医学部・助教  
 研究者番号：30291397

## 研究成果の概要：

未だ有効なワクチンがない結核菌を含む細胞内寄生菌感染症に対し、NKT 細胞のリガンドである  $\alpha$  ガラクトシルセラミドを用いて極めて強い感染防御能を誘導する樹状細胞ワクチンの開発に成功した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：樹状細胞、ワクチン、結核

## 1. 研究開始当初の背景

結核菌を含む細胞内寄生菌感染症に対しては、未だ有効なワクチンは開発されていない。樹状細胞 (DC) は生体における最も強力な抗原提示細胞であり、DC に抗原を添加した細胞ワクチンは細胞内寄生菌感染症に対して有用であることを我々は報告してきた。最近、海綿由来の  $\alpha$  ガラクトシルセラミド ( $\alpha$  GalCer) が Natural killer T (NKT) 細胞を特異的に活性化し、DC の成熟を促し、その細胞ワクチンとしての効果を高めることが明らかとなった。しかし、細胞内寄生病原体感染症において  $\alpha$  GalCer を用いた DC ワクチンの有効性は全く検討されていない。

## 2. 研究の目的

代表的な細胞内寄生菌であるリステリア菌感染症における  $\alpha$  GalCer を添加した新規 DC ワクチンを開発する。

## 3. 研究の方法

*Listeria monocytogenes* の細胞障害性 T 細胞 (CTL) エピトープであるリステリオリジン O (LLO) 91-99 を添加した BALB/c マウス骨髄由来 DC に  $\alpha$  GalCer で処理し、BALB/c マウスへ経静脈的に免疫した。2 週間をあけて 2 回の免疫 (初回免疫, 追加免疫) を行い、 $\alpha$  GalCer および LLO 添加群と非添加群 (計 5 群) において以下の項目を検討した。(1) MHC クラス I テトラマーによる CTL の定量、

(2) 脾細胞における LLO 特異的インターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生、(3) CTL アッセイによる細胞障害機能の評価、(4) 感染防御能、(5) メモリー CTL マーカー分子の発現率、(6) 血清サイトカインの定量。

#### 4. 研究成果

初回免疫時のみに  $\alpha$  GalCer を添加した群において、高い CTL 誘導能、CTL 活性、感染防御能が認められた。また同群において、memory T 細胞マーカーの高い発現率が確認された。一方、初回免疫および追加免疫ともに  $\alpha$  GalCer を添加した群では高い IFN- $\gamma$  産生がみられたが、感染防御能と central memory T 細胞のマーカーである CD62L の発現の低下が確認された。この低下は追加免疫時における IFN- $\gamma$  中和抗体の前投与により改善した。

初回免疫における  $\alpha$  GalCer の添加は、NKT 細胞を活性化し、さらに生体において抗原提示した DC を成熟化することによって抗原特異的 CTL を強く誘導しワクチン効果を増強したと考えられた。一方、初回免疫および追加免疫ともに  $\alpha$  GalCer を添加した群では、追加免疫時の大量の IFN- $\gamma$  産生が central memory CTL を減少させ、ワクチン効果を減弱させたと考えられる。 $\alpha$  GalCer は特に癌免疫療法において生体に繰り返し投与されているが、このような  $\alpha$  GalCer 連続投与および大量の IFN- $\gamma$  産生による免疫抑制効果は報告されていない。そのため、本研究は適切な  $\alpha$  GalCer 投与方法を示唆する有用な結果であると思われる。

以上より、初回免疫時のみ  $\alpha$  GalCer 処理した CTL エピトープ添加 DC ワクチンは、細胞内寄生菌感染症に対し強力な感染防御能を誘導することが明らかとなった。したがって、 $\alpha$  GalCer 処理した DC ワクチンは細胞内寄生菌感染症に対する細胞ワクチンとして有用である可能性が示された。

#### 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 Mucosal Vaccine Using Cytotoxic T Cell Epitope-Pulsed Dendritic Cell Confers Protection for Intracellular Pathogen. Ozawa Y, Suda T, et al. . *Am J Respir Cell Mol Biol* (In press), 2009. 査読有
- ② Lung dendritic cells have a potent capability to induce production of immunoglobulin A. Naito T, Suda T et al. *Am J Respir Cell Mol Biol* 38:161-167, 2008. 査読有
- ③ Intratracheal administration of third-generation lentivirus vector encoding

MPT51 from *Mycobacterium tuberculosis* induces specific CD8+ T-cell responses in the lung. Hashimoto D, Suda T et al.

*Vaccine* 26:5095-5100, 2008. 査読有

- ④ Identification of an HLA-A\*0201-restricted T-cell epitope on the MPT51 protein, a major secreted protein derived from *Mycobacterium tuberculosis*, by MPT51 overlapping peptide screening. Aoshi T, Suda T et al. *Infect Immun* 76:1565-1571, 2008. 査読有
- ⑤ Chemokine receptor-mediated delivery of mycobacterial MPT51 protein efficiently induces antigen-specific T-cell responses. Uchijima M, Nagata T et al. *Vaccine* 26:5165-5169, 2008. 査読有
- ⑥ In vivo hierarchy of individual T-cell epitope-specific helper T-cell subset against an intracellular bacterium. Nagata T et al. *Vaccine* 26:5123-5127, 2008 査読有
- ⑦ Immunization with dendritic cells loaded with alpha-galactosylceramide at priming phase, but not at boosting phase, enhances cytotoxic T lymphocyte activity against infection by intracellular bacteria. Enomoto N, Suda T et al. *FEMS Immunol Med Microbiol* 51:350-362, 2007. 査読有

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

須田 隆文 (SUDA TAKAFUMI)  
浜松医科大学・医学部・助教  
研究者番号：30291397

(2) 研究分担者

永田 年 (NAGATA TOSHI)  
浜松医科大学・医学部・教授  
研究者番号：90275024

千田 金吾 (CHIDA KINGO)  
浜松医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：40197611

(3)連携研究者  
なし