

令和 5 年 4 月 24 日現在

機関番号：37114

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16256

研究課題名（和文）菌体構成成分をターゲットとする常在真菌感染症の新たな免疫学的予防法の開発

研究課題名（英文）Development of new immunological prophylaxis against indigenous fungal infections by targeting bacterial constituents

研究代表者

田崎 園子（Tasaki, Sonoko）

福岡歯科大学・口腔歯学部・講師

研究者番号：50824174

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトの常在真菌であり重篤な真菌感染症を起こすCandida albicans（*C. albicans*）の構成成分より宿主免疫応答を惹起する抗原候補タンパク質の分析をすすめ、抗原候補タンパク質をアジュバントと共に病態モデルマウスに投与、その病態の抑制効果について検討しました。また、病態モデルマウス血清よりサイトカイン解析を実施しました。これに加えて、抗原候補タンパク質のMHC class II結合親和性の確認により、親和性の高いエピトープとなりうるペプチド配列を予測し、*C. albicans* に対する免疫応答の抗原候補ペプチドの絞り込みを実施しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

*C. albicans* は健常なヒトの皮膚や粘膜など様々な場所に常在するメジャーな真菌ですが、高齢者や免疫低下者では重篤な日和見感染症を起こす真菌でもあります。*C. albicans* による感染症の治療は現在抗真菌薬による薬物療法が主体ですが抗真菌薬は抗菌薬と比較して非常に数が少なく、また薬剤耐性菌の問題もあるため効果的な治療成果を上げる事が難しい現状にあります。新たな薬剤の開発は非常に費用がかかるため、真菌感染症の免疫制御機構の解析およびワクチンなどの新たな治療・予防法の検討を行うことは医療福祉の将来的に役に立つと考えられます。

研究成果の概要（英文）：Candida albicans (*C. albicans*) is a common fungus in humans that causes serious fungal infections. We analyzed candidate antigenic proteins that elicit host immune responses from *C. albicans* components, administered the candidate antigenic proteins with adjuvants to pathological mouse models, and examined their inhibitory effects on the pathogenesis. In addition, cytokine analysis was conducted on the sera of pathological model mice. In addition, by confirming the MHC class II binding affinity of the candidate antigen proteins, we predicted the peptide sequence that could be the epitope with high affinity and narrowed down the candidate antigen peptides for the immune response against *C. albicans*.

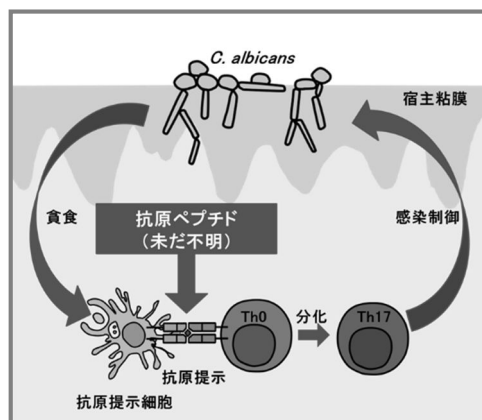
研究分野：医歯薬学/真菌感染症

キーワード：Candida albicans Th17 ワクチン

### 1. 研究開始当初の背景

*Candida albicans* (*C. albicans*) は健常なヒトに常在する代表的な常在真菌ですが高齢化や免疫能低下者などの易感染性宿主に対しては皮膚や粘膜などに難治性の日和見感染症を引き起こします。これに対し、IL-17 産生を特徴とする Th17 細胞が欠損すると *C. albicans* による口腔カンジダ症が重篤化することから<sup>1)</sup>、Th17 細胞が *C. albicans* に対する免疫制御機構に関与していることは知られていますが、Th17 細胞が *C. albicans* のどのような抗原を認識して産生誘導されるかについては詳しく解析した報告はこれまでありませんでした。

現在、*C. albicans* をはじめとした真菌感染症の治療法は抗真菌薬による薬物治療が主体ですが、一般的に真菌は難治性であり、抗真菌薬の数も抗菌薬ほど多くはなく、薬剤耐性菌の問題もありますが、新たな抗真菌薬の開発には莫大な費用を伴うため、新薬の開発は望みにくい現状にありました。

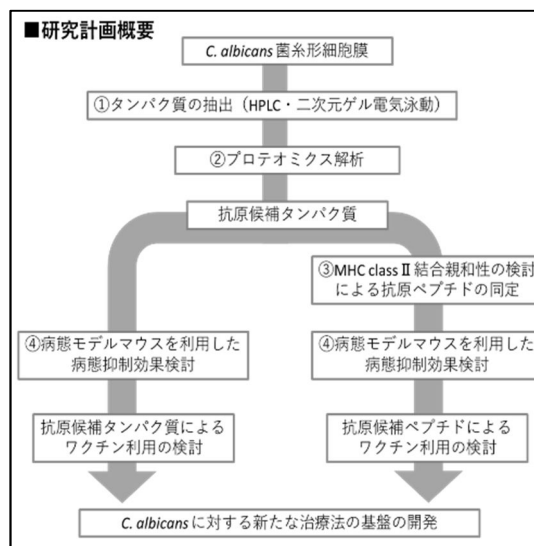


### 2. 研究の目的

本研究の目的は、Th17 細胞による防御免疫を誘導する *C. albicans* の T 細胞抗原ペプチドの探索とその抗原ペプチドもしくは抗原タンパク質を利用した病態制御機構の解明による抗真菌薬に代わる新たな治療法の基盤の確立です。*C. albicans* の免疫制御機構を解析し、菌体構成成分からの免疫の中樞を動かす抗原を単離することは、既存の治療法に代わる抗原を利用した新しい治療法・予防法の基盤の確立につながります。

### 3. 研究の方法

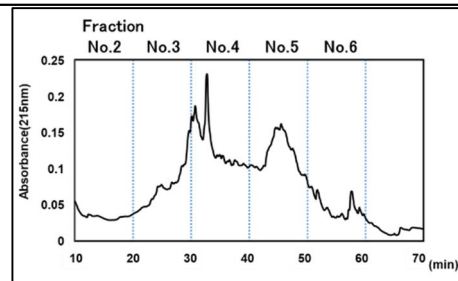
申請者は右の概略図の流れで研究計画を立てました。申請者はこれまでに「研究活動スタート支援(H30-R1)」の支援によって Th17 細胞を強く誘導する *C. albicans* の抗原候補として二形成真菌である *C. albicans* の菌糸形細胞膜のタンパク質に病態抑制効果がある抗原候補タンパク質が含まれる可能性が高いことを絞り込んでおり、今回の研究ではその解析をさらに進める形となった。研究は大きく 4 つの段階から成り立ち、タンパク質の抽出 (HPLC・2次元ゲル電気泳動)、プロテオミクス解析、MHC class II 結合親和性の検討による抗原ペプチドの絞り込み、病態モデルマウスを利用した抗原候補タンパク質もしくは抗原候補ペプチドによる病態抑制効果の検討、という研究の流れを経て、Th17 細胞による *C. albicans* の病態制御機構の解析と治療・予防への応用を計画しました。



### 4. 研究成果

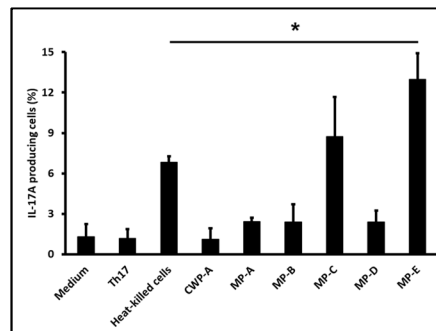
#### タンパク質の抽出

申請者は、HPLC (右図) および 2 次元ゲル電気泳動を用いて *C. albicans* 菌糸形細胞膜タンパク質を更に細分化しました。その分画された *C. albicans* タンパク質はマウス抹消リンパ節より分離した T 細胞および、骨髄由来樹状細胞と *in vitro* で共培養し、候補タンパク質の Th17 細胞への分化誘導能をフローサイトメーターを用いて評価しました。



### プロテオミクス解析

申請者は、抽出されてきたタンパク質をプロテオミクス解析し、候補タンパク質の絞り込みをおこないました。抗原の可能性が高い *C. albicans* 構成タンパク質の絞り込みがある程度進んだ段階で、大腸菌発現系を用いて抗原候補タンパク質の抽出をおこない、抽出された抗原候補タンパク質と、*C. albicans* 菌体全体との Th17 細胞誘導能を比較して抗原候補タンパク質の絞り込みおよび統計的な比較を実施しました（右図）。



### MHC class 結合親和性の検討

絞り込まれた *C. albicans* 抗原候補タンパク質のペプチド配列を解析し、抗原となる可能性の高い抗原候補ペプチドの絞り込みを実施しました。

### 病態モデルマウスによる病態抑制効果検討

口腔カンジダ症の病態モデルマウスに対し、アジュバントと共に *C. albicans* 抗原候補タンパク質を投与し、その病態抑制効果をスコア値で比較したほか、病態モデルマウス血清よりサイトカイン解析を実施し、病態の解析を進めました。

### 引用文献

1) Conti HR, Shen F, Nayyar N, Stocum E, Sun JN, Lindemann MJ, Ho AW, Hai JH, Yu JJ, Jung JW, Filler SG, Masso-Welch P, Edgerton M, Gaffen SL. Th17 cells and IL-17 receptor signaling are essential for mucosal host defense against oral candidiasis. *J Exp Med.* 2009 Feb 16;206(2):299-311. doi: 10.1084/jem.20081463.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 田崎 園子, 原 麻莉, 小島 寛	4. 巻 56
2. 論文標題 障害者歯科におけるインシデントへの影響要因の分析	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本歯科医療管理学会誌	6. 最初と最後の頁 190-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagao Jun-ichi, Kishikawa Sari, Tanaka Honami, Toyonaga Kenji, Narita Yuka, Negoro-Yasumatsu Kanae, Tasaki Sonoko, Arita-Morioka Ken-ichi, Nakayama Jiro, Tanaka Yoshihiko	4. 巻 40
2. 論文標題 Pathobiont-responsive Th17 cells in gut-mouth axis provoke inflammatory oral disease and are modulated by intestinal microbiome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 111314 - 111314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.111314	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kenji Toyonaga, Emi Kaji, Jun-ichi Nagao, Sonoko Tasaki, Sari Kishikawa, Kanae Negoro-Yasumatsu, Yoshihiko Tanaka
2. 発表標題 Analysis of immune responses in a murine oral candidiasis model
3. 学会等名 第51回 日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Emi Kaji, Kenji Toyonaga, Sonoko Tasaki, Jun-ichi Nagao, Sari Kishikawa, Mizuko Ikeda, Yoshihiko Tanaka
2. 発表標題 Investigation of Th17-cell mediated immune response against the pathogenic fungus Candida albicans
3. 学会等名 第51回 日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加地英美, 豊永憲司, 田崎園子, 永尾潤一, 岸川咲史, 田中芳彦
2. 発表標題 Exploration of antigens from the pathogenic fungus <i>Candida albicans</i> that regulate the pathogenesis of oral candidiasis
3. 学会等名 第63回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永尾潤一, 岸川咲史, 豊永憲司, 加地英美, 根来香奈江, 田崎園子, 田中芳彦
2. 発表標題 Investigation of immunological systems regulating the pathogenesis of periodontitis
3. 学会等名 第63回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 豊永憲司, 永尾潤一, 水上昂, 田崎園子, 岸川咲史, 加地英美, 根来香奈江, 田中芳彦
2. 発表標題 Analysis of immune responses to <i>Candida albicans</i> in a murine oral infection model
3. 学会等名 第63回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永尾潤一, 岸川咲史, 豊永憲司, 根来(安松)香奈江, 田崎園子, 田中芳彦
2. 発表標題 Investigation of immune regulatoly mechanism controlling the development of periodontitis
3. 学会等名 Japanese association for oral biology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田崎園子,原麻莉,尾崎茜,前濱和佳奈,今村彩香,中山朋子,小島寛.
2. 発表標題 病院新築に伴い自閉スペクトラム症者に提供した視覚的情報とその効果について
3. 学会等名 日本障害者歯科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 根来 (安松) 香奈江, 永尾 潤一, 有田 (森岡) 健一, 成田 由香, 田崎 園子, 城戸 寛史, 田中 芳彦
2. 発表標題 細菌感染による母体のIL-17Aが仔の脳神経発達メカニズムに与える影響について
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永尾 潤一, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一, 根来 (安松) 香奈江, 田崎 園子, 田中 芳彦
2. 発表標題 歯周病原細菌の抗原性に着目した歯周病の病態形成機構の解明
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 成田 由香, 永尾 潤一, 有田 (森岡) 健一, 田崎 園子, 根来 (安松) 香奈江, 田中 芳彦
2. 発表標題 歯周病の病態形成に関するT細胞抗原の探索
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有田 (森岡) 健一, 永尾 潤一, 成田 由香, 根来 (安松) 香奈江, 田崎 園子, 田中 芳彦
2. 発表標題 バイオフィルムに着目したう蝕予防法の開発に向けた新しいアプローチ
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田崎 園子, 有田 (森岡) 健一, 永尾 潤一, 成田 由香, 根来 (安松) 香奈江, 小島 寛, 田中 芳彦
2. 発表標題 Th17細胞を介した免疫応答による口腔カンジダ症の病態制御機構の解明
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------