

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592557

研究課題名(和文) 母体経鼻免疫における仔マウスにおける免疫学的メモリーの研究

研究課題名(英文) Immunological memory induced by maternal intranasal immunization with PspA

研究代表者

保富 宗城 (Hotomi, Muneki)

和歌山県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90336892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：肺炎球菌表面蛋白抗原PspAを用いた母体経鼻免疫による仔マウスへの肺炎球菌に対する特異的免疫応答の記憶と、母乳栄養を介した特異的免疫応答の誘導について検討した。母体経鼻免疫母マウスより生まれた仔マウスでは、6週齢でPspAにより再度刺激を行なった結果、抗PspA特異的IgG抗体の再上昇を認めた。また、免疫母乳栄養を受けた仔マウスでは、抗PspA特異的IgG抗体は3週齢において有意に上昇した。これらの結果から、母体経鼻免疫では母乳を介して新生児マウスに免疫応答が移行し、仔マウスでの免疫学的な記憶が誘導されることが判明した。

研究成果の概要(英文)：To protect pneumococcal infections during early childhood, it is important to induce and maintain effective protective immune responses against these pathogens during early childhood. In this study, we evaluated the induction of specific immune responses in offspring by breast milk from maternal immunized mother mice with with pneumococcal surface protein A. The immunological memory of specific responses in maternal-immunized offspring with PspA were observed. The current results suggested that PspA specific immune response was memorized in offspring maternal immunized with PspA for a considerable period of time. The maternal immunization would be one of the most suitable approaches to induce effective immune protections against pneumococcal infections.

研究分野：医歯薬学

キーワード：母体免疫 肺炎球菌 メモリー

1. 研究開始当初の背景

急性中耳炎をはじめとする上気道細菌感染症は、近年の急増する起炎菌の薬剤耐性化に伴い、反復例・遷延例が増加し、臨床上的大きな問題となっている。一方、急性中耳炎の難治化には、宿主免疫能の影響、とりわけ2歳以下の乳幼児期における免疫学的未成熟による低免疫応答も深く関与することが知られている。肺炎球菌は、生後3ヶ月頃より鼻咽腔にコロニーを形成し始め、鼻咽腔常在細菌を形成するとともに、急性中耳炎、急性鼻副鼻腔炎をはじめとする上気道感染症や化膿性髄膜炎、肺炎などの重症感染症の原因となる。そのため、抗菌薬治療に変わる有効な感染予防、とりわけ免疫学低未成熟な乳幼児期に長期間の特異的免疫応答の誘導が可能となるワクチンによる肺炎球菌感染予防の確立が望まれる。

現在、本邦では、莢膜多糖体抗原を用いた23価莢膜多糖体多価ワクチンや7価蛋白接合型ワクチンが臨床応用されている。しかし、23価莢膜多糖体多価ワクチンでは、T細胞非依存性の抗原のためメモリーT細胞が形成されず、産生される抗体がIgMであるためブースター効果が認められない、乳幼児に対する反応は極めて短期間のみである、乳児は多糖体ワクチンのほとんどの血清型に対して反応しないことなど、蛋白結合型ワクチンではワクチン血清型に含まれる肺炎球菌に対しては有効性が期待されるが、非ワクチン血清型に対しては有効性が期待できず、血清型の交代現象が起こるなどの問題点もある。そのため、乳幼児期に効果的に免疫応答を誘導することがきわめて重要な課題であり、免疫原性の弱い莢膜多糖体抗原にかわる肺炎球菌の菌株共通蛋白抗原によるワクチンの開発が望まれる。一方、母乳中の起炎菌特異的抗体価と急性中耳炎罹患頻度との間には逆相関の関係があることが知られている。また、起炎菌特異的抗体を多く含む母乳栄養で保育された乳幼児では、急性中耳炎に対する罹患率は低いことが報告されている。

これらのことから、乳幼児期では、自身のもつ能動免疫能は低いものの母親からの抗体移行を受けることが可能である環境にあり、これを利用することで抗菌薬あるいは免疫グロブリン治療といった従来の方法とは異なる新たな細菌感染治療・予防の道が開かれると考える。

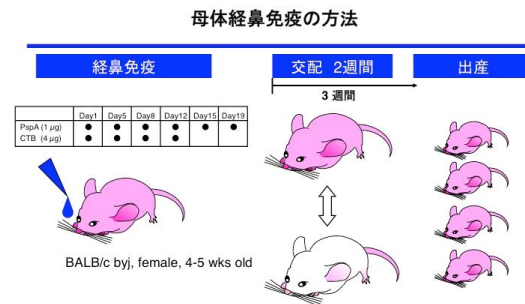
2. 研究の目的

本研究では、妊娠前の母親にワクチン接種を行なうことで乳幼児期における特異的免疫応答の誘導が可能となる母体免疫に着目し、母体免疫による肺炎球菌に対する免疫応答、長期間の免疫学的記憶、肺炎球菌感染予防について解明し、抗菌薬治療とは異なる新たな感染治療・予防に関する知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 母体経鼻免疫による仔マウスの肺炎球菌に対する特異的免疫応答の誘導と記憶

肺炎球菌表面蛋白抗原 PspA(10 μ g)にて雌マウス(BALB/c, 4週齢)を1週間に2回、3週間、計6回の経鼻免疫を行う。最初の2週間(第1~4免疫)については、コレラトキシンB(4 μ g)をアジュバントとして用い、3週間目(第5~6免疫)は、PspAのみで行う。免疫後雄マウスと交配し、約3週間後に新生児マウスを得る。

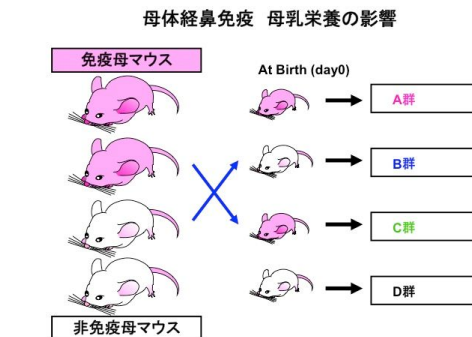


新生児マウスの血清中抗 PspA 特異的 IgG 抗体価について継時的変化を検討した。さらに生後6週齢まで哺乳飼育し、その後に PspA 単独の皮下注射により再度抗原刺激を行なう。PspA 刺激3日後、7日後、14日後に仔マウスの抗 PspA 特異的免疫応答の変化について、血清中の抗 PspA 特異的 IgG 抗体価を ELISA 法にて検討する。

(2) 母乳栄養を介した新生児マウスへの肺炎球菌特異的免疫応答の変化

肺炎球菌表面蛋白抗原 PspA にて免疫後雄マウスと交配し、約3週間後に新生児マウスを得る。同時期に出産するように非免疫雌マウスを設定し、以下の4群を作成する。

- A群: PspA 経鼻免疫母マウスが自分の出産した仔マウスを育てる群
- B群: PspA 経鼻免疫母マウスが非免疫母マウスが出産した仔マウスを育てる群
- C群: 非免疫母マウスが PspA 経鼻免疫母マウスが出産した仔マウスを育てる群
- D群: 非免疫母マウスが自分の出産した仔マウスを育てる群(コントロール)



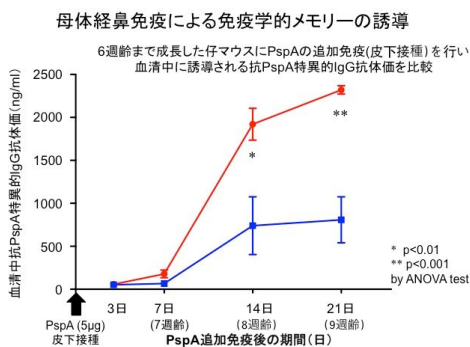
この各群における抗 PspA 特異的 IgG 抗体価の継時的変化を検討した。

4. 研究成果

(1) 母体経鼻免疫による仔マウスの肺炎球菌に対する特異的免疫応答の誘導と記憶

新生児マウス血清中の抗 PspA 特異的 IgG 抗体価は、出生後より生後 3 週齢をピークに高値を示した。一方、抗 PspA 特異的 IgG 抗体価は、母体経鼻免疫母マウス由来の新生児マウスにおいても生後 6 週齢ですでに測定感度以下にまで低下していた。

しかし、PspA 単独にて再刺激することで抗 PspA 特異的 IgG 抗体は、コントロールマウスでは再刺激後 1~2 週はわずかに上昇するにすぎなかった。しかし、PspA 母体経鼻免疫母マウス由来の仔マウスでは、2 週例より抗 PspA 特異的 IgG 抗体の上昇を認め、3 週齢では有意に高い抗 PspA 特異的 IgG 抗体価を認めた。

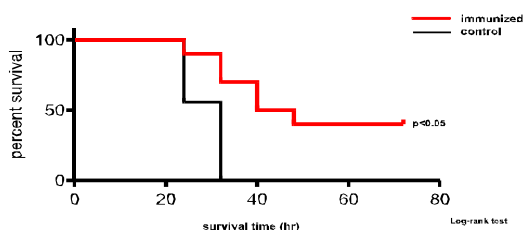


また、母体経鼻免疫母由来の仔マウスでは、免疫学的メモリーにより追加免疫後での肺炎球菌の腹腔感染後の生存率が有意に延長した。

母体メモリー後の肺炎球菌感染予防

(2) 母乳栄養を介した新生児マウスへの肺炎球菌特異的免疫応答の変化

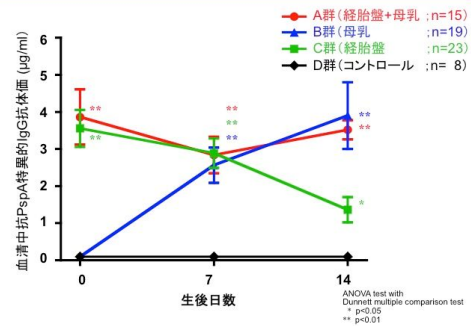
新生児マウスの血清中抗 PspA 特異的抗体価は、C 群(非免疫母マウスが PspA 経鼻免疫



母マウスが出産した仔マウスを育てる群)では継時的に出生直後に高値を示した血清中の抗 PspA 特異的 IgG 抗体価は継時的に低下を示し、3 週目では非免疫マウスのレベルまで低下した。一方、B 群(PspA 経鼻免疫母マウスが非免疫母マウスが出産した仔マウスを育てる群)では、経鼻免疫母由来の母乳栄養に伴い、新生児マウスの抗 PspA 特異的 IgG 抗体価は継時的に上昇した。また、A 群(PspA

経鼻免疫母マウスが自分の出産した仔マウスを育てる群)では、抗 PspA 特異的 IgG 抗体価は生後 3 週齢までで高値を維持した。

母乳栄養に伴う仔マウス血清中PspA特異的IgG抗体の変化



これらの結果から、母体経鼻免疫では母乳を介して新生児マウスに免疫応答が移行し、仔マウスでの免疫学的な記憶が誘導されることが判明した。母体免疫では、IgG 抗体を主体とする胎盤移行抗体が新生児期の未熟な免疫能を補うのみでなく、母乳栄養が乳幼児期の免疫応答に最も重要な役割を果たすと考えられた。

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0件)

〔学会発表〕(計1件)

1.Kono M, Hotomi M, Hollingshead SK, Briles DE and Yamanaka N: Memory of PspA specific immune responses in offspring's delivered from immunized mother mice. International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases, 2012, Iguazu Falls, Brazil

〔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 特になし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

保富 宗城 (HOTOMI, Muneki)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：90336892

(2) 研究分担者

平岡 政信 (HIROKA, Masanobu)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：80423945

池田 頼彦 (IKEDA, Yorihiro)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：20423949

湯浅 純 (YUASA, Jun)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：10725550

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

河野 正充 (KONO, Masamitsu)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：20511570

戸川 彰久 (Togawa, Akihisa)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：70305762