

| | | |
|-------|--------------------------------|---------------------------|
| No. | 22-3061 | |
| 研究課題名 | 生体防御・恒常性維持に関わる環境依存的免疫制御システムの解明 | |
| 研究代表者 | 國澤 純（医薬基盤・健康・栄養研究所・センター長） | |
| 研究組織 | 受入教員 | 石井 健（東京大学医科学研究所・教授） |
| | 分担者 | 國澤 純（医薬基盤・健康・栄養研究所・センター長） |
| | 分担者 | 細見晃司（医薬基盤・健康・栄養研究所・主任研究員） |
| | 分担者 | 重城喬行（医薬基盤・健康・栄養研究所・研究員） |
| | 分担者 | 河合総一郎（医薬基盤・健康・栄養研究所・研究員） |

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】

共同研究報告 (年次終了)

本申請課題においては、食品成分や共生微生物といった腸内環境因子を介した免疫制御と自然免疫・アジュバント開発に関する知的・技術基盤を集積し、次世代ワクチンやアジュバント、免疫療法の開発につながる研究を遂行することを目的とする。

本年度は小腸パイエル板組織内の共生微生物であるアルカリゲネス菌に着目した研究から、本菌由来リピドAのアジュバントとしての有用性と作用メカニズムの解明を進めた。これまでの研究において、アルカリゲネス由来リピドAは、大腸菌やサルモネラなどの他の微生物由来のリピドAと同様に自然免疫受容体の1つであるTLR4を介して、樹状細胞などの自然免疫細胞を活性化し、獲得免疫応答を増強することで、アジュバント効果を発揮することを明らかにしている。しかし、その活性の違いから、TLR4下流シグナルなど活性メカニズムが異なることが推察されていたが、その詳細は不明であった。

本研究においては、すでに臨床で実用化されているMonophosphoryl lipid A (MPLA) アジュバントを比較対照として、アルカリゲネス由来リピドAの免疫学的特性を検討した。その結果、アルカリゲネス由来リピドAはMPLAと同程度にTLR4-TRIF経路を活性化しながら、一方で、MPLAとは異なり、TLR4-MyD88経路も活性化できることが明らかになった。この活性化経路の違いと連動し、アルカリゲネス由来リピドAはTLR4-MyD88経路を介して、樹状細胞からの、IgA抗体産生やTh17細胞応答などに関わるIL-6などのサイトカイン産生や抗原提示に関わるMHCクラスII分子の細胞表面発現を、MPLAよりも強く促進できることが明らかになった(参考文献1)。これらの樹状細胞の機能変化と連動し、アルカリゲネス由来リピドAは樹状細胞によるT細胞への抗原提示ならびにナイーブなT細胞からTh17細胞への分化を促進する働きが強いことも示された(参考文献1)。このように、TLR4シグナル経路の解析から、アルカリゲネス由来リピドAはTLR4-MyD88経路の活性化を起点として、既存のMPLAアジュバントと比較して、Th17細胞応答やIgA抗体産生の誘導などにおいて優位性を示す可能性が示唆された。実際に、これまでの検討において、卵白アルブミン(OVA)や肺炎球菌ワクチン(PspA)をモデル抗原として、アルカリゲネス由来リピドAとともにマウスに皮下・経鼻免疫した際に、抗原特異的なTh17細胞応答やIgA抗体産生が増強されており、生体で観察される免疫応答やアジュバント効果の作用メカニズムの一端が解明されたと考えている。

また、本アジュバントの実用化に向けた検討を進めるため、食中毒ワクチンに対するアジュバント効果を検討した。これまでの検討において、腸管出血性大腸菌とウエルシュ菌がそれぞれ産生する志賀毒素とエンテロトキシンの受容体結合領域を融合させた多価ワクチンをデザインし、その有効性を明らかにしている。本年度は、実用化を念頭に、本多価ワクチンについてタグなし・エンドトキシンフリーの精製・製造法を確立し、エンドトキシンフリー抗原に対するアルカリゲネス由来リピドAのアジュバント効果を評価した。その結果、アルカリゲネス由来リピドA単独でもアジュバント効果を発揮し、抗原特異的な抗体産生が増強されたが、興味深いことにアルミニウム塩と併用することで相乗的な抗体産生増強効果が認められ、本抗原においてはアルカリゲネス由来リピドAとアルミニウム塩の併用が適していることが明らかになった(参考文献2)。

このように、本年度は共生微生物に着目した研究から、アルカリゲネス由来リピドAのアジュバント作用メカニズムの解明を進め、基礎的な知見を起点として実用化に向けた研究を推進するとともに、アジュバント併用による免疫制御に関する新規知的・技術基盤を創出できたと考える。

参考文献:

1. Sun X, Hosomi K, Shimoyama A, Yoshii K, Lan H, Wang Y, Yamaura H, Nagatake T, Ishii KJ, Akira S, Kiyono H, Fukase K, Kunisawa J. TLR4 agonist activity of Alcaligenes lipid a utilizes MyD88 and TRIF signaling pathways for efficient antigen presentation and T cell differentiation by dendritic cells. *Int. Immunopharmacol.* 117:109852, 2023.
2. Hosomi K, Shimoyama A, Hinenoya A, Hatanaka N, Noguchi T, Ebina H, Tojima Y, Furuta M, Kondoh M, Kiyono H, Yamasaki S, Fukase K, Kunisawa J. Endotoxin-Free Stx2B-C-CPE Vaccine and Its Optimized Adjuvant Regimen for Preventing Food Poisoning. *Front. Biosci.* 28(1):15, 2023