

肺炎球菌感染を防御する抗体産生誘導機構の解析

金城雄樹

東京慈恵会医科大学 細菌学講座

【研究の背景】

肺炎は日本人の主な死因の一つであり、その原因として最も多いのが肺炎球菌である。肺炎球菌は肺炎のみならず、髄膜炎の原因菌としても重要であり、世界中で年間 100 万人以上が肺炎球菌感染症で死亡している。肺炎球菌は 100 種類の血清型に分類されるが、現行ワクチンにて対応できる血清型が限定されるため、幅広い感染防御効果をもたらすワクチンの開発が求められている。私達は、現行ワクチンで用いられている莢膜ポリサッカライドと比較して菌株間で共通性の高い肺炎球菌表層蛋白をワクチン抗原として用いた。また、ナチュラルキラーT(NKT)細胞による糖脂質抗原の認識が肺炎球菌感染防御に重要な役割を担うという私達の研究成果¹⁾を活かして、NKT細胞を活性化する糖脂質をアジュバントとして用いた。その新規肺炎球菌ワクチンを用いて、肺炎球菌感染防効果と防御免疫機構を解析する中で、濾胞性ヘルパーNKT(NKT_{PH})という新規の細胞が、感染防御に重要な高親和性抗体産生の誘導に重要であることを見出した。

【目 的】

本研究は、肺炎球菌感染防御に重要な高親和性抗体の産生および持続機序の解明を目指し、新規肺炎球菌蛋白・糖脂質ワクチンによる抗原特異的高親和性 IgG 抗体産生およびその産生に重要な胚中心 B 細胞の誘導機構の解明を目的とした。

【方 法】

1. 抗原特異的 IgG 抗体産生および胚中心 B 細胞の誘導の解析

C57BL/6 マウスに肺炎球菌表層蛋白 A(PspA)および糖脂質を経鼻接種した。PspA 単独接種群、PspA および CpG 接種群、PspA および poly(I:C)接種群を対照とし、免疫後経時的に血中の PspA 特異的 IgG 抗体価を測定した。また、免疫後経時的に所属リンパ節を採取し、抗原特異的 IgG 陽性 B220 陽性 GL7 陽性 CD38 陰性の胚中心 B 細胞の誘導について、フローサイトメーターで解析を行った。

2. 濾胞性ヘルパーNKT細胞の解析

PspA・糖脂質ワクチン免疫マウスから経時的に所属リンパ節を採取し、CD1d tetramer 陽性 TCRβ 陽性 PD-1 陽性 CXCR5 陽性の濾胞性ヘルパーNKT細胞(NKT_{PH})細胞の誘導について、フローサイトメーターで解析を行った。

3. 新規細胞 X の解析

私達は NKT・NKT_{PH}細胞と相互作用することが示唆される新規細胞 X の存在を見出した。その細胞の特徴を明らかにするために、PspA・糖脂質ワクチン免疫マウスから所属リンパ節を採取し、新規細胞 X および対照細胞を精製して、透過型電子顕微鏡解析を行った。

【結 果】

1. 抗原特異的 IgG 抗体産生および胚中心 B 細胞の誘導

PspA 単独接種群では有意な抗原特異的 IgG 抗体産生の誘導を認めないのに対し、PspA・糖脂質免疫群では血中の PspA 特異的 IgG 抗体産生が高値を示した。産生された IgG 抗体は高親和性の抗体であることが確認された。PspA・CpG 接種群、PspA・poly(I:C)接種群と比較して、PspA 特異的 IgG 抗体価が高い値で持続した。また、PspA・糖脂質免疫後に PspA 特異的胚中心 B 細胞が誘導され、PspA・poly(I:C)接種群と比較して胚中心形成が持続することが分かった。

2. 濾胞性ヘルパー-NKT 細胞の解析

PspA・糖脂質免疫群では、免疫後早期から NKT_{FH} 細胞が誘導され、インターロイキン-4 (IL-4) および IL-21 の産生を認めた。さらに、NKT 細胞特異的 IL-21 欠損マウスでは、PspA・糖脂質ワクチン免疫後の PspA 特異的胚中心 B 細胞の誘導が障害されることが示された。

3. 新規細胞 X の解析

PspA・糖脂質免疫群では、新規細胞 X の増加を認めた。NKT 細胞欠損マウスでは新規細胞 X の増加を認めないことから、新規細胞 X の増加には NKT 細胞が重要であることが示唆された。また、透過型電子顕微鏡での解析から、新規細胞 X は対照細胞と比較してミトコンドリアの数が多いことが分かった。

【考 察】

本研究では、肺炎および髄膜炎の主な起炎菌である肺炎球菌に対する新規ワクチンを用いて、抗原特異的抗体産生および胚中心形成の誘導機構について解析した。新規肺炎球菌蛋白・糖脂質ワクチンは、CpG や poly(I:C)を用いた場合と比較して、胚中心形成が持続しており、抗体価の持続と一致する結果を示した。また、糖脂質により NKT 細胞が活性化して NKT_{FH} 細胞が誘導され、IL-4 および IL-21 を産生することが明らかになった。免疫後の胚中心 B 細胞の誘導には、NKT_{FH} 細胞由来の IL-21 が重要であることから、本ワクチンによる胚中心 B 細胞の誘導および高親和性抗体産生の誘導は NKT_{FH} 細胞を介していることが示された。さらに、本ワクチン投与後早期に NKT 細胞と相互作用する新規細胞 X の存在を見出し、胚中心形成への関与が示唆された。以上より、新規肺炎球菌蛋白ワクチンの免疫誘導における糖脂質のアジュバント活性の有用性が示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

100 種類の血清型のうち 13 または 23 種類の莢膜ポリサッカライドを抗原として用いた現行肺炎球菌ワクチンは、含まれる血清型に対して有効であるが、ワクチンに含まれない血清型には対応できないことから、非ワクチン血清型による肺炎球菌感染症の増加が問題となっている。侵襲性肺炎球菌感染症由来の分離株の解析にて、ほとんどの菌株で PspA が認められ、4 種類の clade に分類されることを明らかにした²⁾。そのことから、4 種類の clade の PspA をワクチン抗原として用いることで、血清型に依存しない幅広い感染防御効果が期待され、今後の有望なワクチン候補と考えられる。本研究にて、PspA ワクチン抗原にアジュバントとして糖脂質を用いた新規ワクチンが、他のアジュバントを用いた場合と比較して、抗原特異的な IgG 抗体の産生をもたらすことを見出した。本研究の成果をもとに肺炎球菌感染防御効果をもたらす高親和性抗体産生の詳細な誘導機構が明らかになることで、幅広い感染防御効果をもたらす有効なワクチン開発に繋がり、肺炎球菌感染症の予防における貢献が期待される。

【参考・引用文献】

1. Kinjo Y et al. Nat Immunol 12(10):966-74, 2011.
2. Chang B, Kinjo Y et al. Front Cell Infect Microbiol 11:617573, 2021.