

NKT 細胞を起点とした獲得免疫の増強機構の解明

金城雄樹

東京慈恵会医科大学 細菌学講座

【研究の背景】

ワクチン接種による感染予防効果をもたらすためには、病原体の抗原に対する結合力の強い(高親和性)抗体の産生と持続といった、獲得免疫の誘導および増強が重要である。肺炎球菌は肺炎や髄膜炎の主な起炎菌であり、特に 5 歳未満の小児と 65 歳以上の成人で問題となる。肺炎球菌は 100 種類以上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 20 種類程に限定されるため、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の共通性の高い肺炎球菌表層タンパク質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。新規肺炎球菌タンパク質・糖脂質ワクチンをマウスに接種したところ、血中に抗原特異的高親和性抗体が産生され、抗体価が持続することが示唆された。

【目 的】

本研究は、新規肺炎球菌タンパク質・糖脂質ワクチンによる抗原特異的高親和性抗体産生および持続機構の解明を目指し、NKT 細胞を介する胚中心 B 細胞誘導の増強機構を解明することを目的とした。

【方 法】

肺炎球菌タンパク質・糖脂質ワクチンの免疫と免疫細胞の解析

C57BL/6 マウスに肺炎球菌表層タンパク質 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 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、CD19 陰性 CD1d tetramer 陽性 TCR β 陽性の NKT 細胞および CD19 陰性 CD1d tetramer 陽性 TCR β 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。また、PspA・糖脂質ワクチン接種マウス、PspA 単独接種マウスおよび PspA・poly(I:C) 接種マウスに肺炎球菌を感染させ、感染後の生存期間を観察した。

これまでに NKT・NKT_{PH} 細胞と相互作用することが示唆される新規細胞の存在を見出した。その細胞の機能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免疫後経時的に所属リンパ節を採取し、新規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。さらに、野生型マウス、NKT 細胞欠損マウスおよび NKT 細胞特異的サイトカイン欠損マウスに PspA・糖脂質ワクチンを免疫し、新規細胞、抗原特異的胚中心 B 細胞、抗原特異的 IgG 抗体の産生誘導における影響について解析を行った。

【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・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、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・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。その結果と一致して、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。さらに、免疫 3 ヶ月後にマウスに肺炎球菌を感染させたところ、PspA・糖脂質免疫マウスでは肺炎球菌感染防御効果を認めたのに対し、PspA・poly (I:C) 接種群では感染防御効果を認めなかった。

2. NKT 細胞および濾胞性ヘルパーNKT 細胞の解析

PspA・糖脂質免疫群では、免疫後早期から NKT 細胞の増加を認め、続いて NKT_{FH} 細胞が誘導された。NKT 細胞欠損マウスおよび NKT 細胞特異的サイトカイン欠損マウスでは、PspA・糖脂質ワクチン免疫後の抗原特異的胚中心 B 細胞の誘導が障害された。

3. 新規細胞の解析

PspA・糖脂質免疫群では、免疫後早期に新規細胞の増加を認めた。しかし、NKT 細胞欠損マウスや NKT 細胞特異的サイトカイン欠損マウスでは新規細胞の増加が障害された。また、in vitro 胚中心 B 細胞誘導アッセイにおいて、新規細胞存在下に培養した際には、対象細胞を共に培養した際と比較して、IgG 抗体の産生が増加した。

【考 察】

本研究では、新規タンパク質・糖脂質ワクチンによる抗原特異的高親和性抗体産生および持続機構の解明を目指し、NKT 細胞を介する胚中心 B 細胞誘導の増強機構について解析した。新規肺炎球菌タンパク質・糖脂質ワクチンは、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、免疫後早期から NKT 細胞の増加および NKT_{FH} 細胞が誘導され、NKT 細胞欠損マウスや NKT 細胞特異的サイトカイン欠損マウスでは胚中心 B 細胞および抗体産生の誘導が障害されたことから、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 細胞および 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の存在を見出し、胚中心 B 細胞の IgG 抗体産生増強をもたらす可能性が示唆された。また、新規細胞の増加には NKT 細胞および NKT 細胞由来のサイトカインが重要であることが示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

ワクチンによる感染症の予防において、高親和性抗体の産生と持続が重要である。肺炎球菌は100種類以上の血清型が存在するが、現行ワクチンは20～23種類の莢膜ポリサッカライドを抗原として用いており、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。私達はこれまでに侵襲性肺炎球菌感染症例から分離した 1939 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、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、高親和性抗体の産生増強および持続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^{3,4)}、感染防御効果に優れたワクチン開発に繋がり、肺炎球菌感染症予防における貢献が期待される。また、NKT 細胞の活性化を介した抗体産生増強作用は他のワクチンへの応用も可能と考えられ、今後の研究の発展が期待される。

【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.
3. Kamii Y, Hayashizaki K, Kinjo Y et.al. Proc Nat Acad Sci USA 121 (9): e2313964121, 2024.
4. Hayashizaki K, Kamii Y and Kinjo Y. Front Immunol 15: 1402412, 2024.