



# 革新的 T 細胞製剤によるユニバーサル肺炎球菌ワクチンの開発 —新機軸の抗体誘導法による肺炎球菌肺炎のパンデミック対策—

## 1. 研究の目的

肺炎球菌は現行ワクチンでは排除できない血清型置換菌の市中増加が問題となっており、次世代ワクチンの開発が急務である。本研究はこれまでの研究成果を踏まえ、異系 T 細胞をドラッグデリバリーシステムに用いて、誘導が困難な肺炎球菌タンパク質に対する免疫応答を全身性に引き起こし、感染を予防する抗体の産生法を開発する。具体的には、マウス異系 T 細胞を介して肺炎球菌タンパク質を免疫し、抗体産生機構と免疫記憶の微小環境解析を行い、感染予防効果と治療効果を明らかにする。その上で成果を臨床応用に向けた研究につなげる。

## 2. 研究の計画

ユニバーサル肺炎球菌ワクチン開発を推進するにあたり、以下の研究を計画した。

### (1) 抗体産生細胞の組織内挙動とフェノタイプ解析

① タグで標識した PspA をプローブに抗 PspA 抗体産生細胞を切片上で検出する。多重免疫染色により抗体産生に関わる細胞群、サイトカインや活性化分子、組織構築も染色する。組織 multi spectral imaging system で撮影、組織 cytometry を SpotFire で行い抗体産生に至るまでの免疫応答の推移を切片定量解析し、鍵となる免疫微小環境を見出す。

### (2) 追加免疫の検証と抗体産生増強効果の分子メカニズム解析：初回免疫後に少量の抗原単体、あるいは抗体ラベル T 細胞を移入し、追加免疫効果を検証する

① 血中抗体濃度とクラススイッチを検証する。

② 追加免疫後の抗体産生細胞の組織内挙動を免疫組織学的に追跡し、微小環境を特定する。

### (3) 簡便で汎用性の高い抗体産生誘導代替システムの確立：外来遺伝子導入の壁を超え、簡便且つ汎用性の高く外来抗原に対して抗体産生を誘導できるシステムを作る。

① ドナー異系 T 細胞の MHC-I 分子の発現抑制法を確立する。

② T 細胞表面分子を標的に、抗表面分子抗体に外来抗原を共役させてこれを免疫する。

③ 普遍性の検証として、異なる動物種であるラットでの再現性も確かめる。

## 3. 研究の成果

まず昨年より難航している目的抗体の誘導法の改善を試みた。導入条件の最適化を試みているが、質的水準を保持しつつ高効率に抗原を導入できる条件の模索は続いている。並行して免疫応答の効率上昇を目的に動物種の変更も試みているが、こちらも未だ劇的な改善への途上である。現在、抗原導入法自体を刷新して再度条件の検討を進めている。以降の成果は、(1)進捗状況を踏まえて後発させた抗体誘導代替システム系で得た結果を示す。

### (1) 抗体産生細胞の組織内挙動とフェノタイプ解析（計画(3)の結果による）

① 抗体産生細胞は速やかに T 細胞の帰巢先である微小環境に到達した後、局所で抗原をホスト免疫系に伝達した。抗体産生は初回免疫の 1 週間後にはすでに産生されていたが、興味深いことに抗体産生細胞の多くは特定のリンパ器官に集積していた。また同細胞の一部はすでに骨髄組織中に散見された。

### (2) 追加免疫の検証と抗体産生増強効果の分子メカニズム解析（計画(3)の結果による）

① (1)の系を発展させて追加免疫後の挙動を解析した。追加免疫は外来抗原のみとシミュバント非存在下に毎週投与したところ、目的抗体は追加免疫に伴って増加し、IgM型から IgGサブタイプ型への変換が認められた。

② これらの組織内挙動を解析したところ、追加免疫に伴って初回免疫後に集積の見られた領域から徐々に全身のリンパ器官にも広く分布し始めていた。追加免疫直後の胚中心では旺盛な増殖性反応が認められ、高親和性抗体への産生が認められた。また追加免疫を繰り返した後のリンパ組織では、興味深いことに胚中心とは離れた領域に抗体産生細胞が多く認められたことから記憶B細胞の可能性が示唆された。

### (3) 簡便で汎用性の高い抗体産生誘導代替システムの確立

① 本免疫法の効率に関わる大きな要因として、異系T細胞のMHC-I分子に対する抗体産生が目的抗原に対する免疫応答の効率を妨げてしまうことがある。そこで異系MHC-I分子の発現を、分子生物学的手法を用いて抑制することを検証し、簡便且つ安定して抑制できる方法を確認した（具体的な分子や手法は成果未発表のため非公表）。

② T細胞への遺伝子導入は、遺伝子導入によってT細胞遊走性が容易に変化してしまうことが大きなボトルネックとなり、条件の確立が容易ではない。そこで高い遊走性を保持したT細胞に簡便に外来抗原を搭載できる方法として細胞表面分子に対する抗体を介した方法を検討した。ナイーブT細胞に発現し、かつT細胞の遊走性や微小環境での細胞間相互作用に影響を与えないことを指標に検討したところ、分子Xに対する抗体が最適であることを見出した（具体的な分子や手法は成果未発表のため非公表）。①で得た知見を基に、ドナー/レシピエントが完全フルミスマッチの系において、ドナーT細胞のMHC-Iを発現抑制した上で抗X抗体に抗原Yを載せて免疫したところ、抗Y抗体が容易に産生された（投稿準備中）。同様の結果はラットでも再現できたことから、この免疫法は種を超えて再現できる普遍性を有すると考えられた。

## 4. 研究の反省・考察

抗肺炎球菌抗体の誘導効率がボトルネックとなり免疫応答誘導後の解析が遅れたことは極めて残念であった。その要因としては、a) T細胞への遺伝子導入の難しさ、b) 抗原の性状、c) マウスの特殊性が考えられた。a) 本研究助成以前より条件検討を行い最適化の目処をつけてはいたが、抗原となる分子が大きくなりすぎたため導入効率が低下したことも要因かと考えられる。T細胞、特にいわゆる再循環リンパ球の遊走能を保持させたまま外来遺伝子を高効率に導入することは困難であるため抜本的な導入方法の刷新を現在続けている。b) 抗原の性状としては免疫原性の低さも考えられるため糖鎖付加に関しても注意が必要かもしれない。c) 本研究の背景として、抗体産生応答の最初期にはレシピエントNK細胞が決定的な役割を果たすことを見出していたが、本系のマウスではNKが十分に機能していないと考えられた。これらが複合的に作用することで進捗に影響を与えたと考えられた。一方で、これらを打開すべく本年度途中より進めた代替システムの方では高効率に抗体産生を誘導し、抗体産生細胞の組織内挙動や追加免疫時の分布変化や記憶B細胞への分化などが解析できる段階まで進展させることができた。この系は疾患モデルではないために現時点では臨床的有用性が乏しいが、免疫学的意義は深く、将来的にはワクチン効果の増強や副反応の軽減など、実社会で問題となった予防医療の抱える現状の改善に寄与するものと期待される。今後は、こちらの系で抗原特異的B細胞の挙動解析を先行して行いつつ、改良した肺炎球菌抗体モデル系の解析にも応用して行きたい。

## 5. 研究発表

- (1) 学会誌等  
なし
- (2) 口頭発表  
なし
- (3) 出版物  
なし