

日生研より

第64巻 第4号(通巻609号)
2018年(平成30年)10月

挨拶・巻頭言

ニューコミュニティの包容力
.....古我知史(2)

レビュー

マラリアワクチン開発の現状と展望
~ Let's get back to the basic? ~
.....案浦 健(3)

自然免疫による腸管免疫の制御
.....岩倉洋一郎(8)

おしらせ

特許取得情報.....(20)



ニューコミュニティの包容力

古我知史

経済学の理論は混沌としている。現代資本主義社会で起きている現象を後追いで理屈付けできても未来の出来事を理論的にはほぼ正確に予測するのは不可能だ。技術革新の第四次の波が押し寄せるイノベーションの量子的跳躍が期待される中で、確固たる成長は見え、生産性は伸び悩み続けている。

一方現代の産業革命の旗手となった米国 FAANG (Facebook、Apple、Amazon、Netflix、Google) や中国 BAT (Baidu、Alibaba、Tencent) の猛烈な成長力と社会インパクトは日増しに強くなっている。日本のトップ企業のトヨタ自動車の年齢が 80 歳を超えて時価総額 25 兆円をなんとか維持する中、これら 8 社の平均年齢は 20 歳そこそこで 1 社当たり 70 兆円の時価総額にも達する。今や国家よりも強大な存在感と実際の影響力を持つ企業群だ。明らかに既存の国家に代表されるオールドコミュニティに成り代わってこれら急成長のグローバル企業が求心力のある新たな帝国 (ニューコミュニティ) を地球上に形成しつつある。

これらのニューコミュニティに自然に馴染んでいる現代の個人のライフスタイルも大きく変容しその人生もライフシフト 100 年時代に突入した。若い世代は既にデジタルネイティブで続く世代はバーチャルネイティブだ。50 歳代半ば以上の旧人類はその多くがデジタルデバイド (デジタル技術による分断と断裂) されて時代に取り残された遺物と化した。FAANG や BAT のように成長できない不祥事連発の旧態依然の我が日本の大企業群。多くの経営者が遺物の世代で占められているのが成長阻害要因の一つとなっている。

昔は個人の生活の延長線上に会社の生活があり、その間には整合性も親和性もあった。戦後の昭和では自宅が黒電話で会社も少し進んだ黒電話だった。公私のライフスタイルは繋がっていた。今や、個人の生活はノマド、デジタル、モバイル、バーチャルをリアル (現実) としているにも関わらず、会社での生活は通勤、据置パソコン、会議、電話、紙・印鑑である。日本ではこの断裂が顕著だ。どちらが良いとか悪いとかではなく、個人と会社の生活にデバイドができてしまった。もちろん FAANG や BAT のニューコミュニティでは個人と会社の生活が完全に繋がっている。個人のライフスタイルに沿った人生で希求するゴールを会社の仕事で実現しようとするのだから、個人の成長が会社の成長と直結連動している。自明の理としてこれらニューコミュニティは圧倒的な求心力と自然な権威を創り出すのである。日本の皆さんも昭和の猛烈な高度成長期がこれと同様だったことを思い出してほしい。

冒頭の経済学理論の懸念に戻ると、現代経済の成長の限界と生産性の伸びの鈍化は、この個人と会社の分断、アナログとデジタル世代の断裂、技術革新の取り込みのデバイドが進む新時代に適応できない側の旧人類が、日本をはじめ地球上の世界の至る所に衰退しながらも残存していることが原因ではないかと思える。ただ残存しているだけならばまだしも、これらの旧勢力が依然として権力や権益、規制や旧制度を牛耳っているからなお罪深い。歴史に尋ねればこの辺りで革命が起きるのだが、現代社会の構造と技術に支えられた権力の体制はその勃発や顕在化を許さない。従って、このような急成長のグローバル企業群が正攻法でイノベーションを進め、圧倒的な便益の提供で革命世代を囲い込むしかないのだ。

私の達観はこうだ。これらの分断と断裂は早晚ブレークスルーで解消される。進化した新人類がその革新的英知とイノベーションの実現力で、旧人類とその旧態依然とした組織や企業を、圧倒的なパワーと寛容な優しさでニューコミュニティの中に包み込み同化することができる。これは確信になりつつある。その日は近い。

(評議員)

マラリアワクチン開発の現状と展望 ～ Let's get back to the basic? ～

案 浦 健 (国立感染症研究所・寄生動物部)

はじめに

マラリアのワクチン開発は、困難を強いられる。その要因の一つとしてマラリア原虫が真核生物であることが挙げられ、複雑な生活環や巧妙な免疫回避機構を持つため、シンプルなウイルスや細菌の場合とは異なりワクチン開発は難航している。そこで本稿では、これらマラリアに関して概説するとともに、ワクチン開発の現状と展望、特に最近注目されている原虫生ワクチン (Whole Organism Vaccine) の開発などについて、最新の知見を含め紹介させて頂く。

I. マラリア；背景とマラリア原虫の生活環

熱帯・亜熱帯地域を中心に広く流行するマラリアは、世界三大感染症の一つであり、年間の罹患者は約2億人以上、死亡者は44万人以上にもおよぶ疾患である [1]。流行地では、これまでに薬剤を塗布した蚊帳の配布やアルテミシニン併用療法など、様々な対策が試みられているがその征圧には至っていない [2]。現在の日本におけるマラリアは、その全てが輸入症例であり年間約50～100例が報告されており警戒が必要である。

ヒトのマラリアは、熱帯熱マラリア、三日熱マラリア、四日熱マラリア、卵形マラリアの4種と、人獣共通感染症としてサルマラリアも報告され近年問題となっている。マラリアによる死亡者の多くは熱帯熱マラリアによるもので、死亡者の約90%はサハラ砂漠以南に居住する5歳以下の子供である。これら流行地域の子供はマラリア感染に対して抵抗力のない子供は死に至るが、生き残った子供は繰り返し感染することで免疫を獲得し、その後感染しても重症化しないようになる。そのため感染流行地域の大人は、マラリア原虫を不顕性として保有するケースが多数あり、体調不良・栄養状態・免疫能の低下などにより発症する例が散見される。一方で、ナ

イーブな渡航者などがマラリアに感染した場合、急性・重度の経過をとり脳症、腎症、肺水腫などを起して死亡することが多い。

マラリア原虫の生活環は、ハマダラカの吸血とともに注入されるスポロゾイト (SPZ) が、肝細胞内に侵入・増殖 (肝内期) 後、血流中に放出され、赤血球に寄生・増殖 (赤血球期) を繰り返す (Fig. 1)。この肝内期の感染はヒトには症状を起こさないが、赤血球期への移行後は様々な炎症反応を引き起こすため、発熱・貧血・脾腫などの症状を呈する。その後、赤血球期のマラリア原虫の一部は雄あるいは雌である生殖母体となり、これら雌雄の生殖母体を吸血したハマダラカの体内にて、原虫は増殖した後にSPZとなり唾液腺に集積し、次のヒトへの感染を成立させる。

II. マラリアワクチンの概要

マラリア原虫は獲得した寄生戦略 (多重遺伝子群や遺伝子多型などの発達) により、防御免疫の標的となる抗原部位を多様に変化させることから、ワクチン開発は困難を強いられる。マラリアワクチンの開発は、組換え抗原などを使用するサブユニットワクチンと、生きたマラリア原虫をそのままワクチン株として使用する原虫生ワクチンに分けられる。より多くの研究が進められているサブユニットワクチンは、マラリア原虫の生活環を断つ3箇所が想定され、標的とする抗原や効果などが異なる (Fig. 1)。原虫生ワクチンに関しては3つの異なる戦略が存在し、その効果と開発段階などについて説明させて頂く (Fig. 2)。

1. サブユニットワクチン

① スポロゾイト・肝内期を標的とするワクチン開発
最も先行するマラリアワクチンは RTS, S/AS01 (製品名; Mosquirix) は、残念ながらその効果は極

めて限定的である。この RTS, S/AS01 は、主に SPZ と肝内期の原虫に対して効果を示し、SPZ の表面を覆うタンパク質 CSP の部分配列を元にデザインされており、これまでに、イギリスの GSK と米国の PATH (MVI) などのパートナーシップにより遂行されている。RTS, S/AS01 は、CSP の CTL エピトープに、B 型肝炎ウイルス由来の HBs を融合タンパク質として作製した抗原であり、細胞性免疫の標的となりうる。2012 年に報告された第Ⅲ相臨床試験の途中経過によると、生後 6～12 週の乳児での有効率は 31% であり、以前に報告された生後 5～17 か月の乳幼児での有効率 56% を大きく下回った [3]。また種々の解析結果から RTS, S/AS01 のワクチン効果の持続性は極めて短く (5 年目以降は全く効果がなく、負の効果も確認 [4])、今後ワクチン効果をいかに長期間持続できるよう改良できるかがカギとなる。これらの結果を踏まえ WHO は条件付きでしか RTS, S/AS01 を推奨せず、これらが “Disappointing Results Blunt Hopes for Malaria Vaccine” と言われる所以である。しかし、RTS, S/AS01 は一定の効果を示した数少ないワクチンであり、今後の発展が期待されている。

②赤血球期に対するワクチン

赤血球期の原虫に対するワクチンは、発症・重症化予防に効果を発揮するワクチンが主流である。これまでに MSP-1 や AMA-1 などのワクチン開発が

進められてきたが、これらの分子は抗原多型性が極めて高く [5]、免疫効果を示す抗体価との相関、ワクチン効果の持続性と有用性などに関しては疑問が残る。

一方で、大阪大学微生物病研究所の堀井俊宏教授らによって開発されている BK-SE36 は、SERA5 の一部を元にデザインされた SE36 を用いている。これまでに BK-SE36 は、マラリア高度流行地域 (ウガンダ) にて第Ⅰb 相臨床試験を実施し、72% のマラリア発症防御効果を確認している [6]。BK-SE36 は、抗原部位の多型性が極めて低く、また 6～10 歳の低年齢層において顕著に高い抗体応答があり、効果の持続性も観察されている。また近年 CpG-ODN (K3) 核酸アジュバントを用いた臨床試験により、抗体価の上昇も確認している。現在、ブルキナファソにおいて第Ⅱ / Ⅲ相臨床試験が実施中であり、今後さらなる研究により、日本発のマラリアワクチンの製品化が期待されている。

③伝播阻止ワクチン

伝播阻止ワクチンは、ハマダラカ体内でのマラリア原虫の増殖を阻害することを目的としたユニークなワクチン戦略である。この伝播阻止ワクチンは、ワクチン接種を受けた本人に対しては直接的な効果はないことや、抗体価の持続性などに疑問は残るが、標的抗原の変異性が低く、宿主免疫を回避した原虫に対しても有効であることから注目されている。現

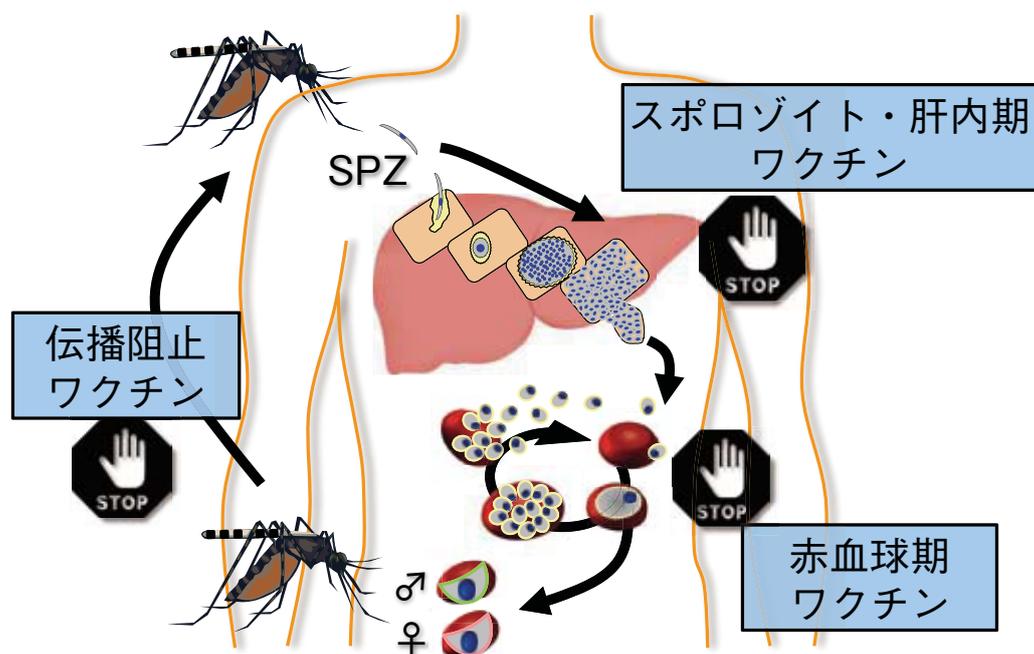


Fig. 1 マラリア原虫の生活環とワクチン標的部位

在、Pfs25 や Pvs25 などを中心とした複数の候補抗原の第 I 相臨床試験が行われている。本邦においても、愛媛大学の坪井敬文教授らにより精力的な研究が展開されている。

2. マラリア原虫生ワクチン (Whole Organism Vaccine)

マラリアの生ワクチン戦略は、SPZ から肝内期に対するワクチン開発がほとんどである (Fig. 2)。その優位性として、肝内期の感染時には症状は呈さず、一方で免疫付与効果は極めて高く、感染防御を期待できることがあげられる。この生ワクチンは、液性免疫だけではなく細胞性免疫も付与できることから、極めて高い発症予防効果と長期間の免疫持続が証明されている唯一のマラリアワクチンである。原虫の増殖をコントロールする手法により以下の 3 つに分けられる。

① Irradiated sporozoite 【RAS；マラリア原虫を感染させたハマダラカに放射線照射を行い、原虫の染色体 DNA にダメージを与え肝内期での増殖を失わせたワクチン株を用いる方法。播種された RAS は、肝細胞侵入後は増殖できず死滅し免疫を付与する。】 RAS は、米国 Sanaria の Hoffman 博士らにより精力的な臨床試験が展開されている。近年の報告で圧巻だったのは、2013 年に Hoffman 博士らのグループが Science にて発表した論文で、第 II 相臨床

試験において凍結保存した RAS をヒトに直接静脈注射 (Direct venous inoculation; DVI) にて免疫し、100%の発症予防効果を得ている [7]。この論文は非常に偉大なマイルストーンである。これまでに凍結保存した RAS を皮下あるいは皮内投与した場合には、免疫付与効果が低かったことが報告されており、接種ルートの違いによりワクチン効果に違いを生じる可能性が強く示唆されていた。(接種ルートの違いにより SPZ の肝臓への到達度が異なることは動物実験により証明されており [8]、静脈注射による接種が肝臓への到達度が最も高く、免疫付与効果も高い。) 現在、RAS (製品名; PfSPZ) はアメリカ FDA の fast track をマラリアワクチンで唯一取得 (2016 年 9 月) しており、タンザニアやギニアなどで第 III 相臨床試験を実施中であり精力的な研究が実施され、その効果に期待が高まっている。

② Genetically attenuated parasite 【GAP；遺伝子改変原虫株を用いる方法。肝内期の原虫増殖に必須な遺伝子を欠損させることで増殖を停止させ、赤血球期に移行しない原虫株を作製し、免疫に使用する方法。GAP は、肝細胞侵入後も増殖・生存するが、その後死滅し免疫を付与するため、RAS よりも低用量でワクチン効果が高い。】 GAP は、オランダのライデンとナイメーヘンのグループ、シアトル SBRI のグループらによって精力的な研究が展開されている。これまでに様々な動物実験などにより、

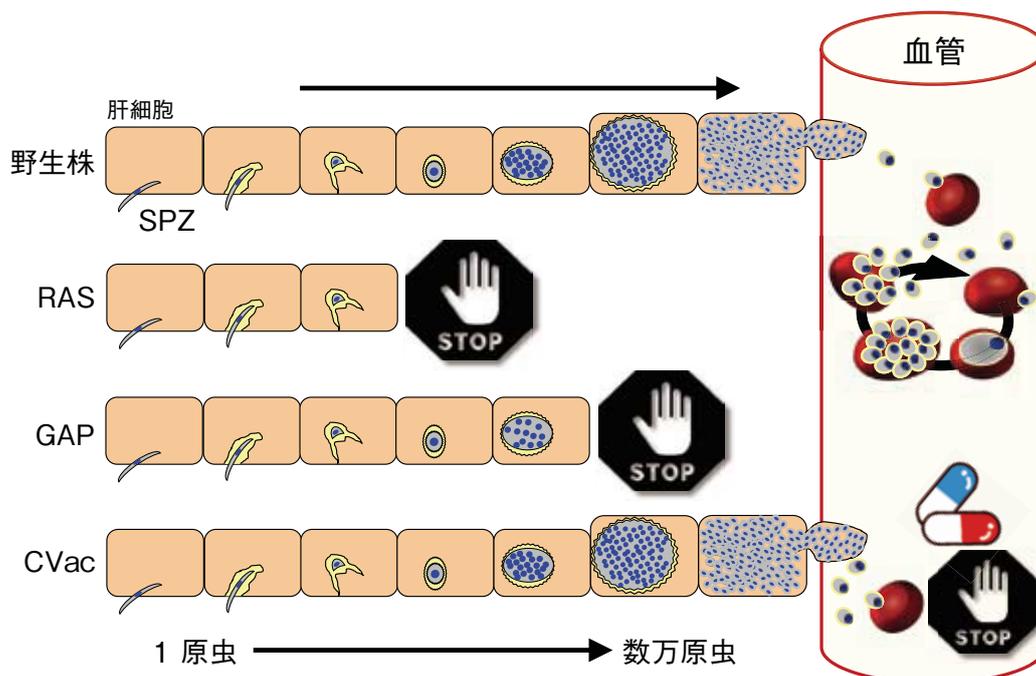


Fig. 2 マラリア原虫生ワクチンの種類と原虫死滅ステージ

高いワクチン効果と長期持続が証明されており [9]、現在オランダにてヒト臨床試験が実施中である（～2018年10月終了予定）。オランダのグループと Sanaria が共同で開発した GAP（製品名：PfSPZ-GA1）を用いた進行中の臨床試験は、安全性の確認だけでなく、実際のマラリア原虫への感染防御・ワクチン効果を判定する CHMI（controlled human malaria infection）も計画に含められている。この臨床試験は“遺伝子組み換えをした感染性の寄生虫”を“ヒト体内に直接静脈に注入する”世界初のトライアルであり、そのインパクトの大きさは計り知れない。この臨床試験が成功すれば RAS 同様、速やかにマラリア流行地での臨床試験へと発展することが予定されており、その結果・効果は大変興味深い。

③ Chemoattenuated SPZ vaccine 【CVac；クロロキンなど抗マラリア薬を内服しながら、管理されたマラリア原虫の SPZ を播種する方法。クロロキンは肝内期の原虫を殺滅できない。そのため原虫は、肝内型は通常通り増殖後に赤血球期に移行しその後クロロキンにより殺滅され免疫を付与する。】 CVac は、主にオランダのナイメーヘンのグループや、ドイツのテュービンゲンのグループによって精力的な研究が展開されている。オランダでの臨床試験では、被験者は 12～15 匹の熱帯熱マラリア陽性ハマダラカによる吸血を月 1 度、計 3 回行った。その結果、10 人全員の被験者がマラリア感染に対して完全な発症防御効果を示し [10]、そのワクチン応答は SPZ から肝内期に対するものであった [11]。またテュービンゲンのグループによる臨床試験では、DVI により 5.12×10^4 の原虫を 4 週間おきに 3 回免疫された 9 人全員がマラリア原虫の感染に抵抗性を示す素晴らしい結果を報告した [12]。この報告は、RAS の結果よりも投与原虫量が少なく免疫回数も少ないため大変有益な報告であり、DVI の安全性や今後の GAP の発展性を加味すると大変興味深い。（CVac は原虫が肝内期をフルに増殖後に死滅し免疫を付与する。RAS は全く増殖しないので大量の原虫を播種する必要がある）この CVac を用いた感染流行地域での応用は、感染コントロールの観点などから困難が予想されるが、研究手法・得られる結果・情報が極めて卓越しており、今後の次世代マラリアワクチン開発を考える上で、極めて有益な情報を提供

してくれる。

Ⅲ. まとめと展望

RTS, S/AS01 は最も研究が進んでいるマラリアワクチンであるが、このワクチンによるマラリア根絶は困難だろうと予想されている。マラリアワクチン開発をサポートする MVI は、2030 年までに①流行地域において 75% 以上の高い予防効果を示すワクチンの開発 ②多角的なアプローチによるワクチン開発 を大きな目標として掲げている。これらの目標を達成するためには、原虫生ワクチンの開発や、伝播阻止ワクチンの開発が大きなカギとなる可能性が高い。特に“ワクチン概念のオリジナル”に近い原虫生ワクチン開発は“ポスト RTS, S/AS01”の筆頭であり、現在進行中のマラリア流行地での臨床試験結果によって、その真価が問われる段階にきている。マラリアの撲滅には、一つのワクチンや単一プロジェクトのだけでは不可能であり、様々なアプローチを総合することで初めて可能になると考えられ、今後の結果・対策から目が離せない段階に来ている。

果たして、ヒトはマラリアに打ち勝てるのだろうか…？

引用文献

1. WHO World Malaria Report 2017.
2. Trape, J.F., Tall, A., Diagne, N., Ndiath, O., Ly, A.B., Faye, J., Dieye-Ba, F., Roucher, C., Bouganali, C., Badiane, A., Sarr, F.D., Mazenot, C., Touré-Baldé, A., Raoult, D., Druilhe, P., Mercereau-Puijalon, O., Rogier, C., Sokhna, C. 2011. Malaria morbidity and pyrethroid resistance after the introduction of insecticide-treated bednets and artemisinin-based combination therapies : a longitudinal study. *Lancet Infect Dis*. **11** (12) : 925-32.
3. RTS, S Clinical Trials Partnership, Agnandji, S.T., Lell, B., Fernandes, J.F., Abossolo, B.P., Methogo, B.G., Kabwende, A.L., Adegniko, A.A., Mordmüller, B., Issifou, S., Kremsner, P.G., Sacarlal, J., Aide, P., Lanaspá, M., Aponte, J.J.,

- Machevo, S., Acacio, S., Bulu, H., Sigauque, B., Macete, E., Alonso, P., Abdulla, S., Salim, N., Minja, R., Mpina, M., Ahmed, S., Ali, A.M., Mtoro, A.T., Hamad, A.S., Mutani, P., Tanner, M., Tinto, H., D'Alessandro, U., Sorgho, H., Valea, I., Bihoun, B., Guiraud, I., Kaboré, B., Sombié, O., Guiguemdé, R.T., Ouédraogo, J.B., Hamel, M.J., Kariuki, S., Oneko, M., Odero, C., Otieno, K., Awino, N., McMorro, M., Muturi-Kioi, V., Laserson, K.F., Slutsker, L., Otieno, W., Otieno, L., Otsyula, N., Gondi, S., Otieno, A., Owira, V., Oguk, E., Odongo, G., Woods, J.B., Ogutu, B., Njuguna, P., Chilengi, R., Akoo, P., Kerubo, C., Maingi, C., Lang, T., Olotu, A., Bejon, P., Marsh, K., Mwambingu, G., Owusu-Agyei, S., Asante, K.P., Osei-Kwakye, K., Boahen, O., Dosoo, D., Asante, I., Adjei, G., Kwara, E., Chandramohan, D., Greenwood, B., Lusingu, J., Gesase, S., Malabeja, A., Abdul, O., Mahende, C., Liheluka, E., Malle, L., Lemnge, M., Theander, T.G., Drakeley, C., Ansong, D., Agbenyega, T., Adjei, S., Boateng, H.O., Rettig, T., Bawa, J., Sylverken, J., Sambian, D., Sarfo, A., Agyekum, A., Martinson, F., Hoffman, I., Mvalo, T., Kamthunzi, P., Nkomo, R., Tembo, T., Tegha, G., Tsidya, M., Kilembe, J., Chawinga, C., Ballou, W.R., Cohen, J., Guerra, Y., Jongert, E., Lapierre, D., Leach, A., Lievens, M., Ofori-Anyinam, O., Olivier, A., Vekemans, J., Carter, T., Kaslow, D., Leboulleux, D., Loucq, C., Radford, A., Savarese, B., Schellenberg, D., Sillman, M., Vansadia, P. 2012. A phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African infants. *N Engl J Med.* **367** (24) : 2284–95.
4. Olotu, A., Fegan, G., Wambua, J., Nyangweso, G., Leach, A., Lievens, M., Kaslow, D.C., Njuguna, P., Marsh, K., Bejon, P. 2016. Seven-Year Efficacy of RTS,S/AS01 Malaria Vaccine among Young African Children. *N Engl J Med.* **374** : 2519–2529.
5. Tanabe, K., Mita, T., Palacpac, N.M., Arisue, N., Tougan, T., Kawai, S., Jombart, T., Kobayashi, F., Horii, T. 2013. Within-population genetic diversity of *Plasmodium falciparum* vaccine candidate antigens reveals geographic distance from a Central sub-Saharan African origin. *Vaccine.* **31** (9) : 1334–9.
6. Palacpac, N.M., Ntege, E., Yeka, A., Balikagala, B., Suzuki, N., Shirai, H., Yagi, M., Ito, K., Fukushima, W., Hirota, Y., Nsereko, C., Okada, T., Kanoi, B.N., Tetsutani, K., Arisue, N., Itagaki, S., Tougan, T., Ishii, K.J., Ueda, S., Egwang, T.G., Horii, T. 2013. Phase 1b randomized trial and follow-up study in Uganda of the blood-stage malaria vaccine candidate BK-SE36. *PLoS One.* **8** (5) : e64073.
7. Seder, R.A., Chang, L.J., Enama, M.E., Zephir, K.L., Sarwar, U.N., Gordon, I.J., Holman, L.A., James, E.R., Billingsley, P.F., Gunasekera, A., Richman, A., Chakravarty, S., Manoj, A., Velmurugan, S., Li, M., Ruben, A.J., Li, T., Eappen, A.G., Stafford, R.E., Plummer, S.H., Hendel, C.S., Novik, L., Costner, P.J., Mendoza, F.H., Saunders, J.G., Nason, M.C., Richardson, J.H., Murphy, J., Davidson, S.A., Richie, T.L., Sedegah, M., Sutamihardja, A., Fahle, G.A., Lyke, K.E., Laurens, M.B., Roederer, M., Tewari, K., Epstein, J.E., Sim, B.K., Ledgerwood, J.E., Graham, B.S., Hoffman, S.L.; VRC 312 Study Team. 2013. Protection against malaria by intravenous immunization with a nonreplicating sporozoite vaccine. *Science.* **341** (6152) : 1359–65.
8. Ploemen, I.H., Chakravarty, S., van Gemert, G.J., Annoura, T., Khan, S.M., Janse, C.J., Hermsen, C.C., Hoffman, S.L., Sauerwein, R.W. 2013. Plasmodium liver load following parenteral sporozoite administration in rodents. *Vaccine.* **31** (34) : 3410–6.
9. Annoura, T., van Schaijk, B.C., Ploemen, I.H., Sajid, M., Lin, J.W., Vos, M.W., Dinmohamed, A.G., Inaoka, D.K., Rijpma, S.R., van Gemert, G.J., Chevalley-Maurel, S., Kieľbasa, S.M., Scheltinga, F., Franke-Fayard, B., Klop, O., Hermsen, C.C., Kita, K., Gego, A., Franetich, J.F., Mazier, D., Hoffman, S.L., Janse, C.J., Sauerwein, R.W., Khan, S.M. 2014. Two Plasmodium 6-Cys family-related proteins have distinct and critical roles in liver-stage development. *FASEB J.* **28** (5) : 2158

- 70.
10. Roestenberg M, McCall M, Hopman J, Wiersma J, Luty AJ, van Gemert GJ, van de Vegte-Bolmer M, van Schaijk B, Teelen K, Arens T, Spaarman L, de Mast Q, Roeffen W, Snounou G, Rénia L, van der Ven A, Hermsen CC, Sauerwein R. 2009. Protection against a malaria challenge by sporozoite inoculation. *N Engl J Med.* **361** (5) : 468-77.
 11. Bijker, E.M., Bastiaens, G.J., Teirlinck, A.C., van Gemert, G.J., Graumans, W., van de Vegte-Bolmer, M., Siebelink-Stoter, R., Arens, T., Teelen, K., Nahrendorf, W., Remarque, E.J., Roeffen, W., Jansens, A., Zimmerman, D., Vos, M., van Schaijk, B.C., Wiersma, J., van der Ven, A.J., de Mast, Q., van Lieshout, L., Verweij, J.J., Hermsen, C.C., Scholzen, A., Sauerwein, R.W. 2013. Protection against malaria after immunization by chloroquine prophylaxis and sporozoites is mediated by preerythrocytic immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **110** (19) : 7862-7.
 12. Mordmüller, B., Surat, G., Lagler, H., Chakravarty, S., Ishizuka, A.S., Lalremruata, A., Gmeiner, M., Campo, J.J., Esen, M., Ruben, A.J., Held, J., Calle, C.L., Mengue, J.B., Gebru, T., Ibáñez, J., Sulyok, M., James, E.R., Billingsley, P.F., Natasha, K.C., Manoj, A., Murshedkar, T., Gunasekera, A., Eappen, A.G., Li, T., Stafford, R.E., Li, M., Felgner, P.L., Seder, R.A., Richie, T.L., Sim, B.K., Hoffman, S.L., Kremsner, P.G. 2017. Sterile protection against human malaria by chemoattenuated PfSPZ vaccine. *Nature.* **542** (7642) : 445-449

レビュー

自然免疫による腸管免疫の制御

岩倉洋一郎（東京理科大学生命医科学研究所・総合研究院ヒト疾患モデル研究センター）

1. はじめに

自然免疫は原始的な生体防御システムであり、無脊椎動物にも存在することが知られている。病原体に感染した時早期に防御効果を発揮するもので、抗菌蛋白質や補体、C-reactive protein (CRP) のように直接病原体に結合してこれを不活化するものや、インターフェロン (IFN) のように宿主細胞に作用して抗ウイルス性を誘導するもの、あるいは、トル様受容体 (TLR) の様に病原体を認識することによって細胞を活性化し、種々のサイトカインや活性化酸素種 (ROS) を誘導することにより、病原体を排除するシステムまで、種々の分子が関与する (図1)。獲得免疫系の様な特異性や免疫記憶は無いものの、広範な病原体に対し、すばやく対応できるのが特徴である。しかし、従来自然免疫系と獲得免疫系

は独立したシステムと捉えられていたが、TLRなどの自然免疫受容体と呼ばれる分子群の解析によって、両者は非常に密接な関係があることがわかってきた。図1に示す様に、樹状細胞やマクロファージなどに発現した自然免疫受容体は、細菌細胞壁のリポポリサッカライド (LPS) やウイルスの2本鎖RNAなどの種々の病原体に特徴的な分子パターン (PAMPs) を認識することにより、種々のサイトカイン・ケモカインの産生を誘導する。これらのサイトカイン・ケモカインは他の細胞に作用して直接遊走を誘導したり、活性化して抗菌蛋白質やROSの産生を誘導したりする一方で、ナイーブT細胞に作用してTh1やTh2、Th17などのそれぞれの病原体に特異的なヘルパーT細胞サブセットの分化を誘導することによって、獲得免疫系を活性化し、感染防御に当たることがわかってきた。C型レクチン

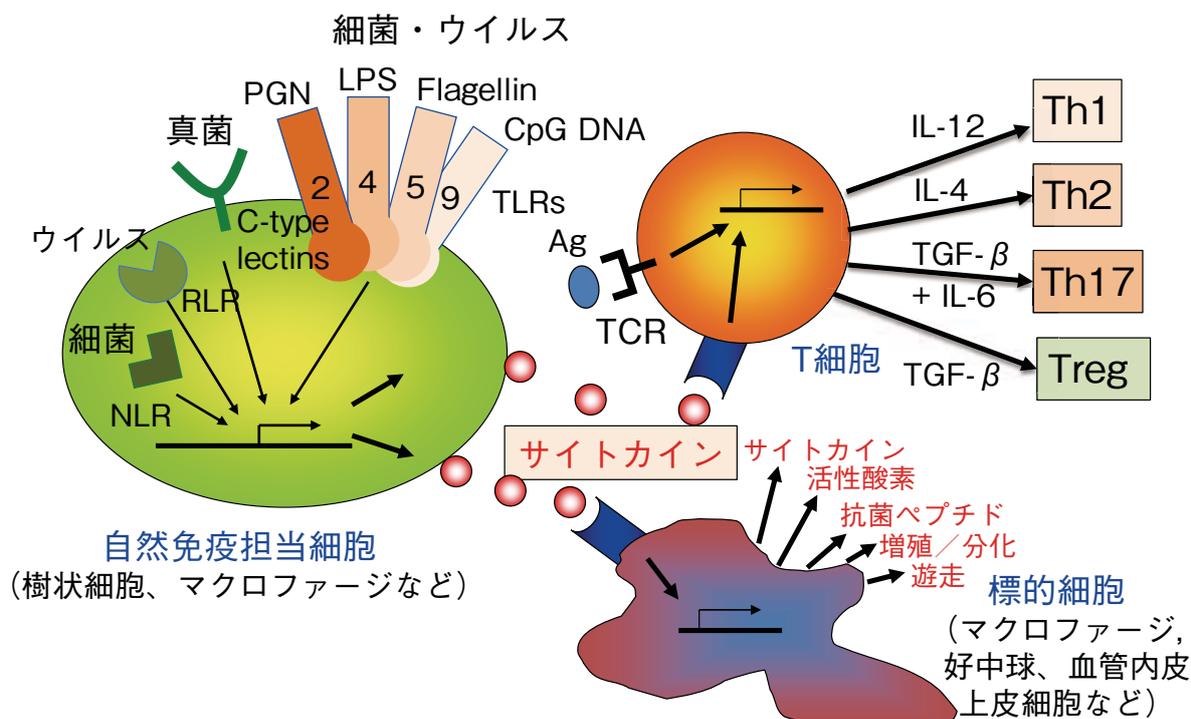


図1 感染防御、免疫制御における自然免疫受容体の役割

TLR や CLR, RLR (Rig-like receptor)、NLR (Nod-like receptor) などの自然免疫受容体は種々の病原体に特徴的な PAMPs を認識することによって種々のサイトカインを産生し、それぞれ特異的な T 細胞サブセットの分化誘導や、他の免疫担当細胞の活性化、増殖、あるいは遊走を促し、感染防御や炎症応答に於いて重要な役割を果たす。

受容体 (C-type lectin receptor : CLR) はこのような自然免疫受容体の一つである。

CLR ファミリー蛋白質は、細胞外に糖鎖認識領域 (Carbohydrate-recognition domain : CRD) と呼ばれる糖鎖を認識する領域を持つ一群の膜蛋白質で、 Ca^{2+} 依存的に糖鎖を認識することからこの名前が付けられた。このファミリーには 100 を超える蛋白質分子が含まれるが、このうち、Dectin-1、及び Dectin-2 をコードする遺伝子はマウスでは 6 番染色体 (人では第 12 番染色体) 上に他のファミリー遺伝子と共にクラスターを成して存在する (図 2) [1, 2]。我々はこの領域の人での相同領域が関節リウマチや多発性硬化症、I 型糖尿病、全身性エリテマトーデス (SLE)、クローン病などの自己免疫、あるいはその可能性が疑われている疾患と連鎖していること、及び、マウスの関節リウマチモデルにおいて、これらの遺伝子の発現亢進が認められたことから、この領域に注目し、解析を進めている。

この領域にマップされる C 型レクチンの中には、細胞質内に活性化シグナルを伝える ITAM (Immunoreceptor tyrosine-based activation motif) と呼ばれるモチーフを持つものや、ITAM を持つ $\text{Fc}\gamma$ や DAP10 などのアダプター蛋白質と会合する

ものがあり、これらは細胞を活性化する役割を持つことが予想された。一方、細胞質内に抑制性のシグナルモチーフである ITIM を持つものも知られており、多様な生理活性があることが示唆されている。実際、Dectin-1 や Dectin-2、Mcl、Mincle など多くの ITAM を持つ C 型レクチンは、真菌や結核菌などに特徴的な PAMPs を認識することによって細胞を活性化し、感染防御に重要な役割を果たすことがわかってきた [1, 2]。しかし、最近、DCIR や Mincle、MICL、CLEC2、DNNGR-1 などの C 型レクチンは、PAMPs ではなく (あるいは、だけではなく)、自己抗原を認識し、免疫系や骨代謝系の制御、リンパ管形成、発がん制御など、多様な生物活性を發揮することが分かってきた [3-5]。現在、これらの分子が生体内で果たす役割について、大きな注目が集まっている。本稿では Dectin-1 及び Dectin-2 を中心に、これらの分子が感染防御、及び免疫系の恒常性維持において果たす役割について述べる。

2. Dectin-1 は β グルカンの受容体であり、真菌感染防御に重要な役割を果たす

C 型レクチンファミリー分子のうち、Dectin-1 は 43 kD の II 型膜蛋白質で、細胞外に 1 個の CRD

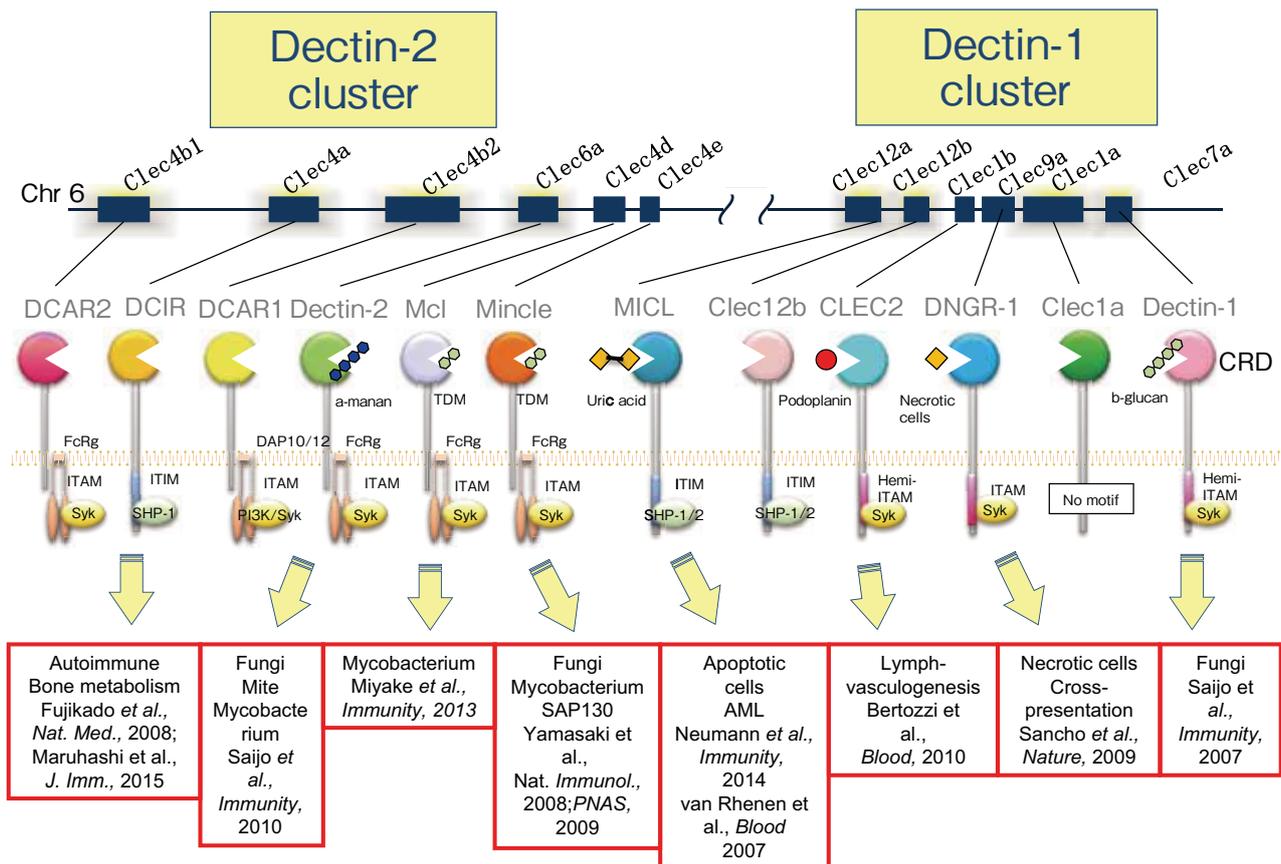


図2 Dectin-1 及び Dectin-2 クラスターに含まれる C 型レクチン受容体

上段にはマウスにおける Dectin2、及び Dectin-1 遺伝子クラスターを示す。中段はそれぞれの遺伝子産物を示しており、それぞれの蛋白質は共通して細胞外に糖鎖結合領域 (CRD) を持つ。CLEC2、DNGR-1、Dectin-1 などは細胞質内に ITAM あるいは Hemi-ITAM と呼ばれる活性化シグナルモチーフを持つものに対し、DCAR2、DCAR1、Dectin2、Mcl、Mincle などは ITAM を持つ FcRg や DAP10 などと会合する。一方、DCIR や MICL、Clec12b などは抑制性のシグナル伝達に関与する ITIM モチーフを持っている。Clec1a にはこれらのモチーフは見つかっていない。下段にはこれまでの報告を示している。

を有し、細胞内には ITAM に類似した hemi-ITAM モチーフが存在する。当初、樹状細胞 (DC) に特異的に発現する C 型レクチンとしてクローニングされたが [6]、その後、マクロファージや好中球にも発現することがわかった。また、この分子は、 β グルカンに結合することが示され [7]、Dectin-1 欠損マウスを使った研究により、このマウスから分離した DC では β グルカンによる炎症性サイトカインの発現誘導が著しく低下していることなどから、この分子が β グルカンの受容体として機能していることが示された (図3) [8]。一方、Dectin-1 の近傍にマップされる別の C 型レクチンである Dectin-2 は、 α マンナンの受容体である事がわかった [9]。ところで、 β グルカンや α マンナンはカビや酵母、きのこなどの真菌の細胞壁の重要な構成成分である (図4)。これらの受容体にそれぞれのリガンドが結合すると、Dectin-1 は細胞質内の hemi-ITAM に、また、Dectin-2 は会合した FcR γ 鎖上の ITAM に

リン酸化酵素 (Syk) が会合することによって活性化され、下流で CARD9-NF- κ B 経路が活性化されることにより、TNF や IL-1、IL-23 などのサイトカインの発現が誘導される (図5)。さらに、Syk の活性化は活性化酸素種 (ROS) の産生を促す [8]。

Dectin-1 や Dectin-2 の欠損マウスは *Pneumocystis carinii* や *Candida albicans* などの真菌に対して易感染性となる事から、真菌感染防御に重要な役割を果たしている事がわかった (図3) [9]。興味深い事は、Dectin-1 刺激によって誘導される IL-1 や IL-23 などのサイトカインは、優先的に IL-17A や IL-17F を産生する Th17 細胞分化を誘導する事である (図5) [9]。IL-17A/F は好中球を感染局所に遊走させたり、抗菌ペプチドの産生を誘導するのに重要であり、欠損マウスは *Candida* に対して易感染性となる事から、真菌感染防御に重要な役割を果たしていると考えられる [9]。また、これらのサイトカ

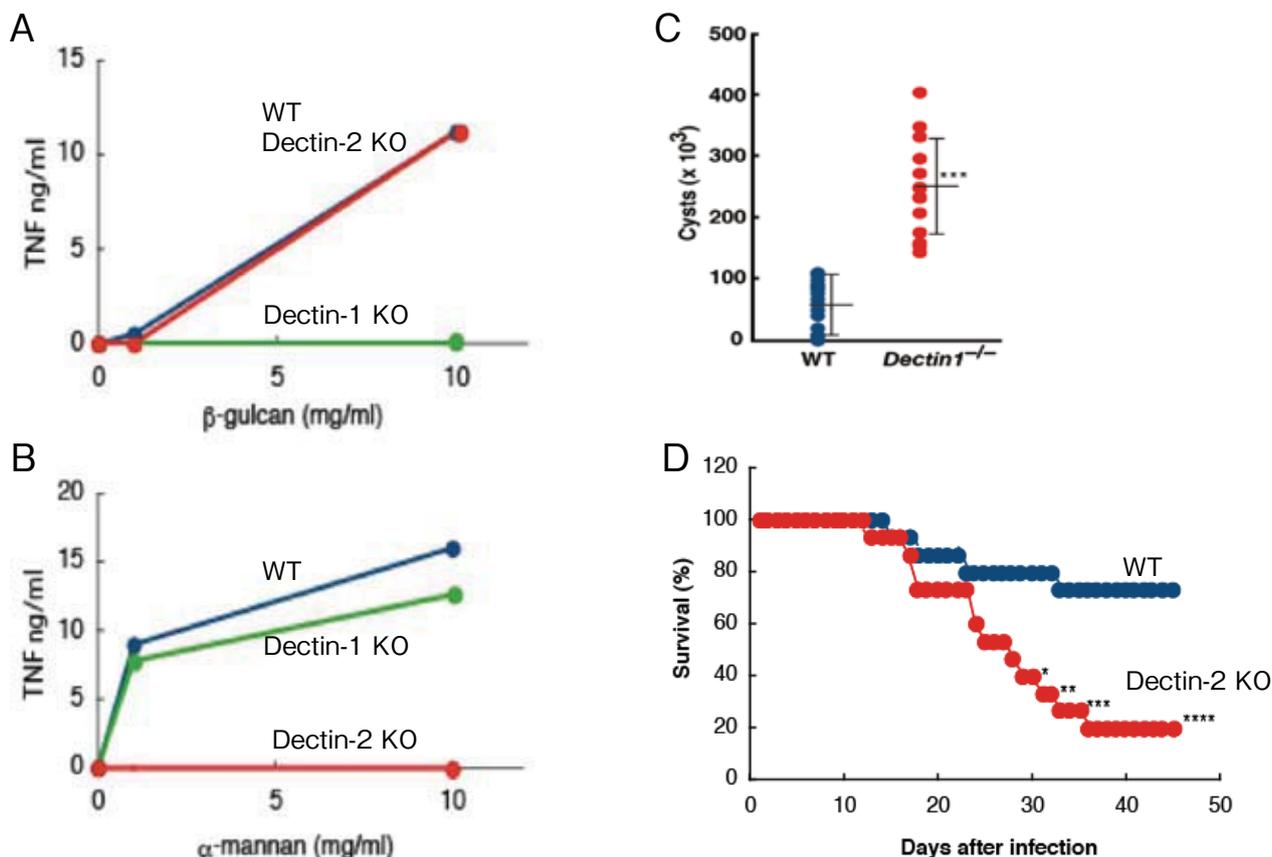


図3 β グルカンの受容体は Dectin-1a であり、 α マンナンの受容体は Dectin-2 である

A、B: 骨髄細胞から分化誘導した樹状細胞を試験管内で β グルカン (Sparassis crispa glucan: SCG) (A)、または α マンナン (CAWS) (B) で刺激した場合の、TNF 産生を示した。C、D: Dectin1 欠損マウス (C)、あるいは、Dectin-2 欠損マウスにそれぞれ *Pneumocystis carinii*、あるいは *Candida albicans* を感染させ、その後肺中の菌数、及び生存率を測定した。KO: 欠損マウス、WT: 野生型マウス
A、C: 文献 8、及び B、D: 文献 9 より引用。

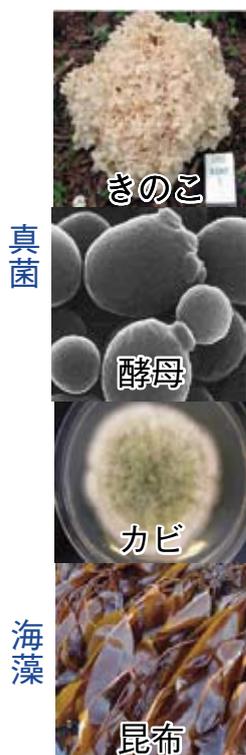
インは $\gamma\delta$ T 細胞や 3 型自然リンパ球 (ILC3) などからも IL-17 A/F の発現を誘導する事が知られている [10]。従って、Dectin-1 や Dectin-2 は、真菌細胞壁の β グルカンや α マンナンを認識する事により、ROS の産生を誘導すると共に、IL-17A/F の産生を促して、感染防御に重要な役割を果たしているものと考えられる (図 3、5) [8、9]。

3. IL-17A/F は真菌や細菌の感染防御に重要な役割を果たしている

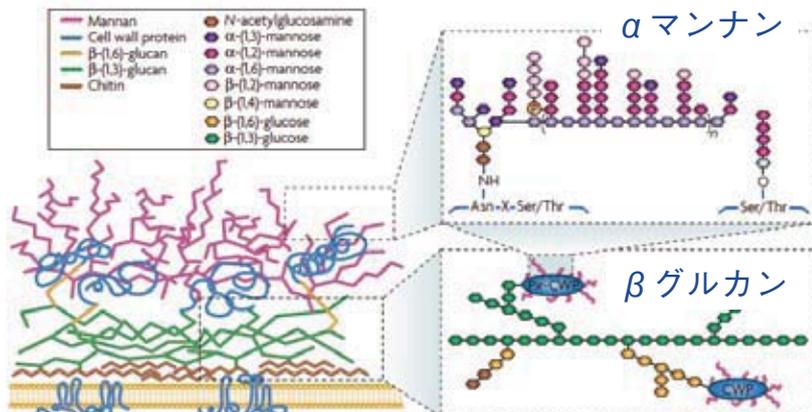
CD4 陽性の T 細胞には役割の異なる幾つかのサブセットがある事が知られており、それぞれ異なる役割を果たしている (図 1)。例えば、Th1 細胞は IL-12 によって分化誘導され、主に IFN- γ を分泌して、結核菌の様な細胞内で増殖する細菌の排除や癌免疫に関与している。また、Th2 細胞は IL-4 によって誘導され、IL-4、IL-6、IL-13 など分泌する事によって抗体産生やアレルギー、寄生虫の排

除に関与している。Th17 細胞分化には TGF- β と IL-6 が関与しており、IL-17A、IL-17F、IL-22 などを分泌する事によって自己免疫の発症やアレルギー応答などに関与している [11、12]。この他、TGF- β によって誘導される Treg 細胞は CTLA4 を発現し、IL-10 や TGF- β などを分泌する事により、免疫応答を抑制する事が知られている。

IL-17 ファミリーには IL-17A から IL-17F まで 6 種類のファミリーメンバーが知られており、それぞれ受容体に結合することによって、Act1-TRAF6-NF- κ B あるいは MAPK の活性化を介して、種々のサイトカインなどの遺伝子の発現を誘導する事が知られている (図 6) [12]。IL-17A と IL-17F はアミノ酸同一性が 50% と非常にホモロジーが高く、それぞれホモ 2 量体が同じ受容体に結合する上、ヘテロダイマーを形成し、同じ受容体に結合する事が知られている。従って、IL-17A と IL-17F は同じ様な生物活性をもつ事が予想された。ところが、IL

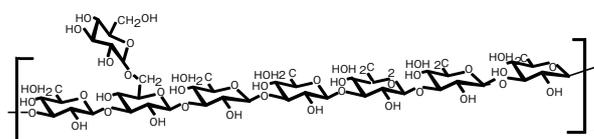


真菌（カンジダ）の細胞壁の構造



Netea et al., Nat. Rev. Micro., 2008 長鎖β1-3グルカンにβ1-6分岐鎖

海藻由来
ラミナリン



長鎖β1-3グルカンにβ1-6分岐鎖

図4 βグルカンの由来とその構造

きのこやカビなどの細胞壁はαマンナンやβグルカン、キチンなどの多糖類で構成されている（文献21より引用）。細胞壁に含まれるβグルカンは1-3β-glucanポリマーに1-6βグルカン分岐が付き構造をしており、非常に大きな分子量を持ち、不溶性である。一方、昆布などの褐藻類に含まれるラミナリンは分子量が1,500～50,000程度の比較的分子量が低く、高分子βグルカンはDectin-1に結合して活性化するのにに対し、低分子βグルカンは結合してもシグナルを伝えることができず、逆に高分子βグルカンの結合を拮抗的に阻害する。

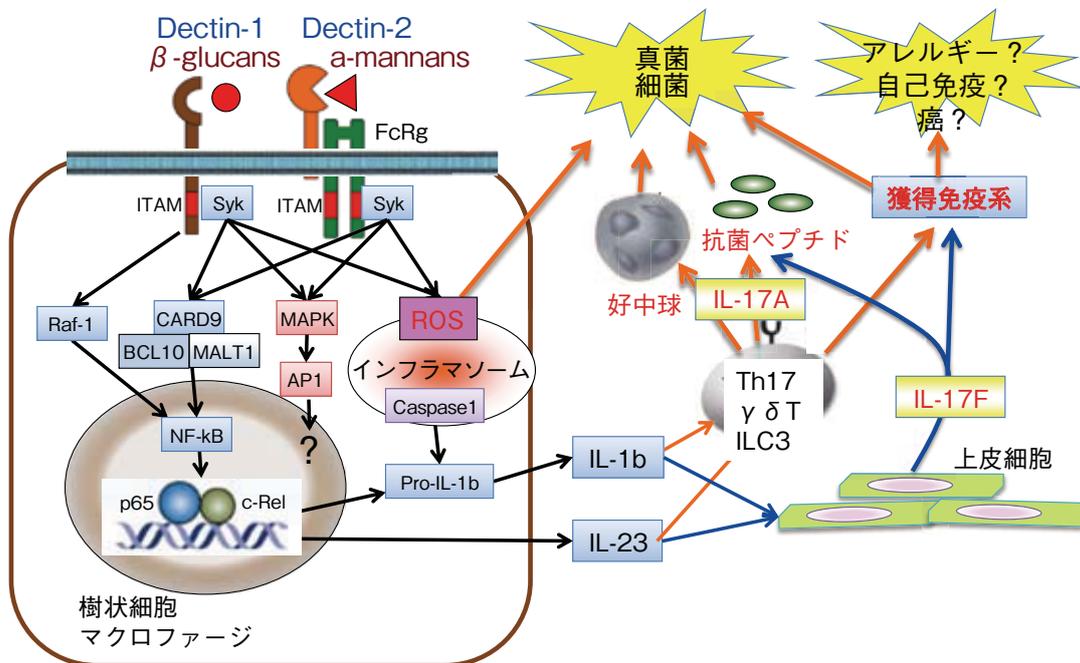


図5 Dectin-1及びDectin-2による真菌、及び細菌感染防御メカニズム

Dectin-1及びDectin-2はそれぞれ真菌上のβグルカン、及びαマンナンを認識し、Syk-Card9-NFκB経路を活性化することにより、IL-1βやIL-23などのサイトカインの産生を誘導する。一方、Sykは活性酸素種(ROS)の産生を誘導し、病原体を殺傷する。また、産生されたサイトカインはIL-17A、IL-17F産生能を持つTh17細胞分化を誘導したり、γδT細胞あるいはILC3細胞からIL-17A、IL-17F産生を誘導する。また、上皮細胞はIL-17Fを産生するが、その誘導メカニズムはよくわかっていない。IL-17A及びIL-17Fはともに好中球を感染局所に遊走させるとともに抗菌ペプチドを誘導して、菌を排除する。一方、IL-17は獲得免疫系を活性化することが知られており、最終的に病原体を排除するのに重要な役割を果たす一方で、アレルギーや自己免疫にも関与する可能性が示唆されている。文献1より改変。

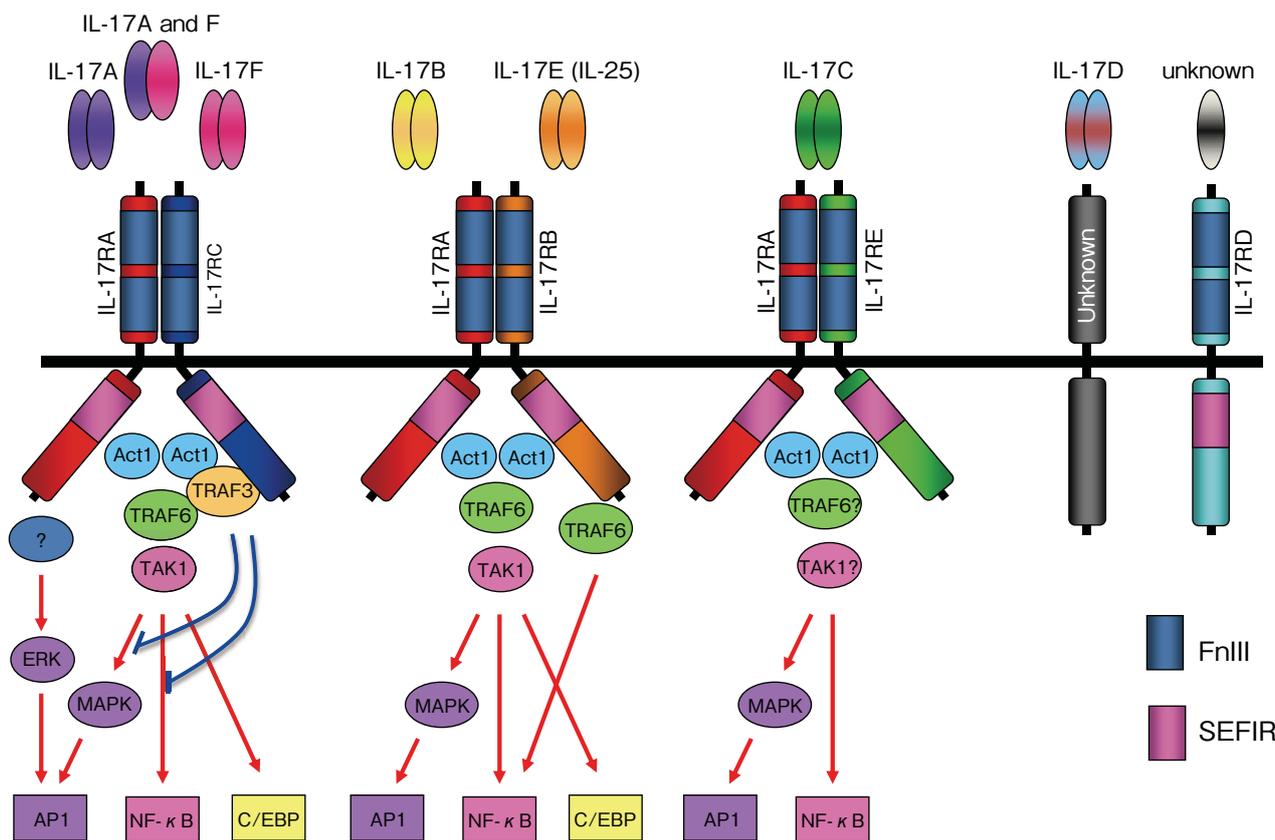


図6 IL-17ファミリーとその受容体ファミリー

IL-17ファミリーはIL-17AからIL-17Fまで6つのファミリー分子が知られている。一方、受容体はIL-17RA/IL-17RCヘテロ二量体、及びIL-17RA/IL-17RB、IL-17A/IL-17REなどが知られ、それぞれIL-17A及びIL-17F、IL-17B及びIL-17E、IL-17Cが結合することが知られている。IL-17Dの受容体、及びIL-17RDのリガンドはまだ知られていない。これらの受容体の下流ではAct1、TRAF6、MAPK、NF-κBなどが活性化され、種々のサイトカインが誘導される。文献12より引用、一部改変。

-17Aの欠損は関節リウマチモデルであるIL-1受容体アンタゴニスト (IL-1Ra) 欠損マウスの関節炎の発症をほぼ完全に抑制するのに対し、IL-17F欠損はほとんど影響を与えなかった [13]。同様の事は実験的自己免疫性脊髄炎 (EAE) に於いても認められた。従って、IL-17Aが自己免疫疾患の発症に深く関与するのに対し、IL-17Fの関与は低い事が分かった。ところで、IL-17A/F二重変異マウスはSPF環境下でも日和見感染を受け易く、口周囲部の粘膜部位に黄色ブドウ球菌の感染が頻繁に見られる事を見出した [13]。また、病原性大腸菌の一種である *Citrobacter rodentium* を感染させた場合もIL-17A/F二重変異マウスで感受性が非常に高く、IL-17AあるいはIL-17F単独欠損マウスでも感受性が亢進していた。これらの欠損マウスではβ-ディフェンシンなどの抗菌ペプチドの発現が非常に低下していた事から、抗菌ペプチドの産生低下がこれらの細菌の増殖を許したものと考えられた。従って、IL-17Fの機能としては免疫応答より、むしろ感染

防御に於いて重要な役割を果たしている事が示唆された。

4. Dectin-1 欠損マウスは DSS 誘導大腸炎に耐性である

近年、腸の粘膜が炎症を起こし下痢や腹痛を引き起こす炎症性腸疾患の患者が徐々に増加しており、難病情報センターによれば患者数は20万人を突破している。今から40年前には、患者数が1000人に満たなかった事を考えると、驚異的な患者数の増加である。同じ様に花粉症などのアレルギーも増加していると言われており、国民の1/3が何らかのアレルギーに苦しむ時代になってしまった。その原因として、環境汚染や清潔度の向上など色々な事が言われているが、まだはっきりとした結論が得られていないのが現状である。

ところで、βグルカンは酵母やキノコ、海藻などの食品に豊富に含まれており、その受容体であるDectin-1が大腸で発現していた事から、大腸では

Dectin-1 シグナルが活性化される可能性が考えられた。そこで、我々は Dectin-1 シグナルが腸管免疫に及ぼす影響を検討した。マウスの飲水中に 1~4% 程度デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を加えるとヒトの潰瘍性大腸炎に似た大腸炎を発症する事が知られている。野生型マウスに DSS 誘導大腸炎を誘導したところ、体重減少を引き起こし、2 週程度で死亡してしまうのに対し、Dectin-1 欠損マウスの場合は体重減少の程度が軽く、死亡するものはいない事を見出した (図 7) [14]。DSS 誘導大腸炎は無菌動物では発症しない事から、腸内細菌の関与を疑い、Dectin-1 欠損マウスの腸内細菌を無菌の野生型マウスに移植したところ、これらのマウスは DSS 誘導大腸炎に対し耐性となる事がわかった (図 8A)。そこで、腸管の細菌叢をリボソーム 16SRNA の解析によって調べたところ、特定の乳酸桿菌 (*Lactobacillus murinus*) の割合が 5 倍以上増加している事を見出した (図 8B)。また、興味深い事に Dectin-1 欠損マウスでは免疫応答抑制能を持つ Treg 細胞の割合が大幅に増えており、これが大腸炎が抑制される原因であると考えられた (図 8C)。実際、Treg 細胞が存在しない Rag2 欠損マウスでは

Dectin-1 欠損の影響は認められない。さらに、Dectin-1 欠損マウスで増殖の見られた *L. murinus* を無菌動物に移植したところ、Treg 細胞が増加して来ることが認められた (図 8D)。これらの結果から、Dectin-1 欠損マウスでは腸管で *L. murinus* が増殖し、その結果 Treg が増えるために炎症が抑制されることがわかった。

Dectin-1 欠損マウスでは多くの抗菌蛋白質の発現は正常であるにも拘らず、S100A8 と呼ばれる抗菌ペプチドの発現が特異的に減少していることが分かった [14]。S100A8 は S100A9 とヘテロダイマーを形成し、グラム陽性菌、特に *L. murinus* の増殖を特異的に抑制し、他の *Alcaligenes fecalis* や *Escherichia* などの増殖には関与しない。従って、Dectin-1 欠損マウスでは S100A8/A9 による抑制が外れるために、優先的に *L. murinus* の増殖が促進されると考えられる (図 9)。 *L. murinus* が Treg 細胞の分化を誘導するメカニズムとしては、*L. murinus* が腸管の粘膜固有層に存在する樹状細胞に作用すると特異的に TGF- β と IL-10 の発現が誘導され、これらのサイトカインによって Treg の分化が誘導されることがわかった [14]。大腸に多く

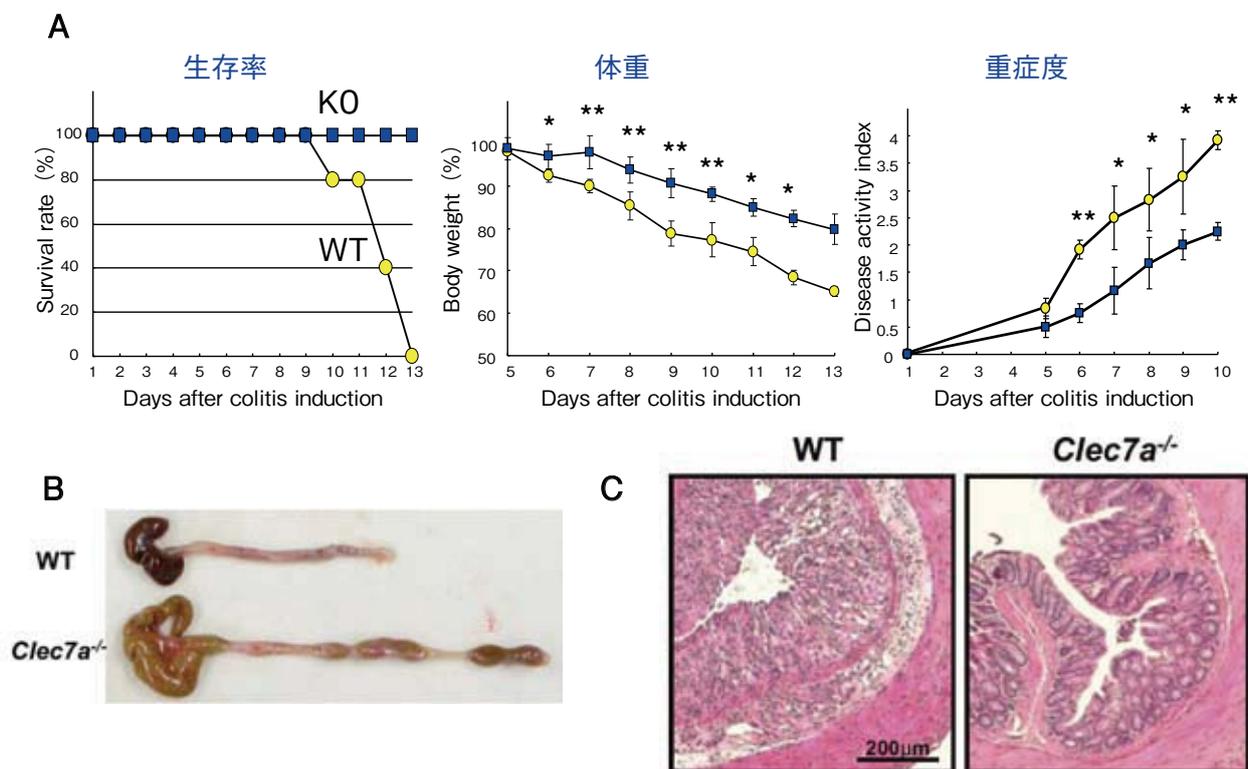


図 7 Dectin-1 欠損マウスは DSS 誘導大腸炎に対し、耐性を示す

A: 飲水中への 2% DSS 投与後の野生型、及び Dectin-1 欠損マウスの生存率、体重、及び重症度の比較。B、C: DSS 投与 11 日後の大腸の長さ (B) 及び大腸の病理像 (C)。文献 14 より引用。

存在する *A. faecalis* や *E. coli* にはそのようなサイトカイン誘導能はなく、Treg 誘導能も見られない。

5. 低分子 β グルカン投与により、DSS 誘導大腸炎を抑制できる

ところで、Dectin-1 に刺激を入れる β グルカンの由来は何なのだろうか。Iliev らは、通常の SPF マウスには真菌が常在しており、Dectin-1 を欠損させると真菌が異常に増殖するために、DSS 誘導大腸炎が増悪化することを報告した [15]。ところが、我々の動物室で飼育している SPF マウスでは真菌は全く検出されず、 β グルカンは食餌中に含まれることが示唆された [14]。実際、 β グルカンフリーの食餌を食べさせると、DSS 腸炎が軽症化した [16]。そこで、次に食餌中に Dectin-1 阻害剤を加え、その影響を見た。昆布などの褐藻類に含まれるラミナリンは β グルカンの一種であるが、酵母やきのこに含まれる β グルカンとは異なり、可溶性であり比較的分子量 (5 千程度以下) である。ラミナリンは藻類の貯蔵糖質であり、夏から秋にかけて盛んに生産され、最大で乾燥重量の 30 ~ 40% にも

達する。このラミナリンは Dectin-1 に結合するが、分子量が小さいため、シグナルを入力できず、逆に大きな分子量をもつ β グルカンの Dectin-1 への結合を競合的に阻害する。そこで、我々はラミナリンを食餌に混ぜてその影響を検討したところ、ラミナリンを食べさせたマウスは、DSS 誘導大腸炎に対し耐性となる事が分かった [14]。この時、炎症性サイトカインである TNF の産生と好中球の浸潤が低下するとともに、Dectin-1 欠損マウスと同様に、腸管での *L. murinus* の増殖と Treg の増加が認められたため、低分子 β グルカンが Dectin-1 を阻害したことにより抗菌蛋白質の発現が減少し、このため乳酸桿菌が増殖して Treg 細胞の分化を促し、化学物質誘導大腸炎に耐性になったものと考えられた (図 10)。

6. Dectin-1 シグナルにより IL-17F の発現が誘導され、IL-17F を中和する事により大腸炎の発症を阻止することができる

次に、腸管で Dectin-1 シグナルが抗菌蛋白質の発現を誘導するメカニズムについて検討した。DSS

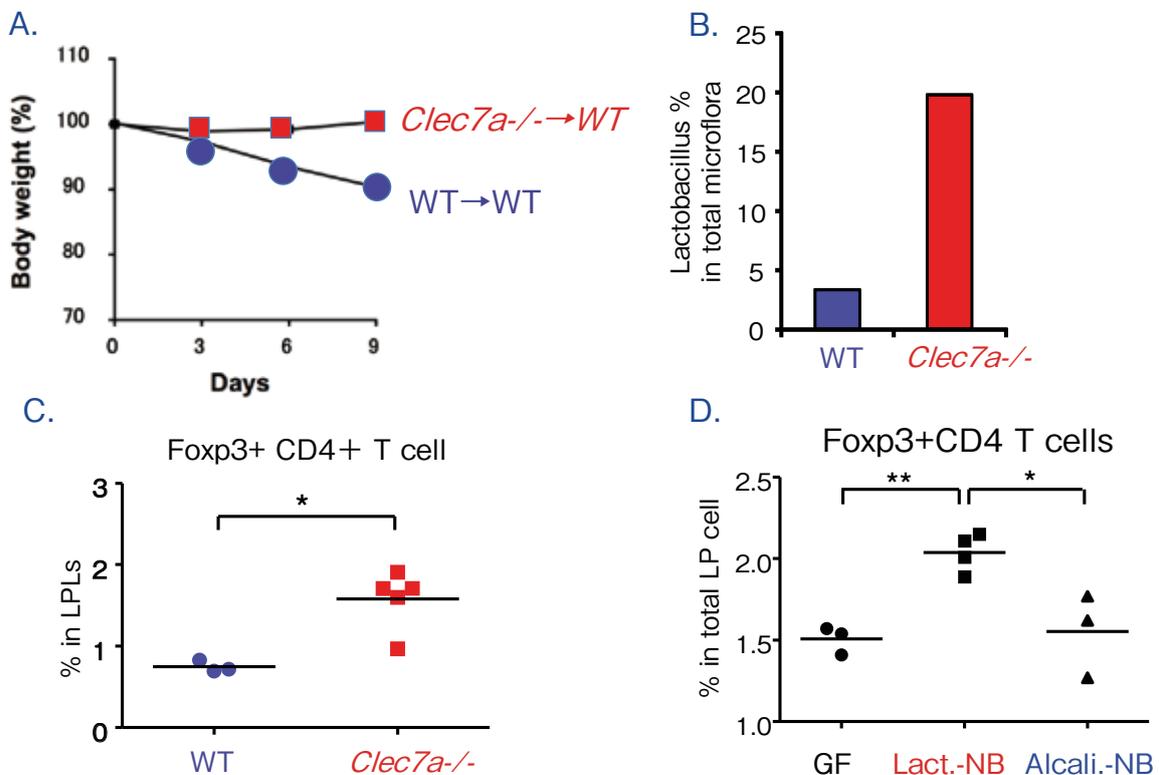


図 8 Dectin-1 欠損マウスでは乳酸桿菌が増加しており、乳酸桿菌は制御性 T 細胞 (Treg) を誘導する
 A: 野生型あるいは Dectin-1 (Cleca) 欠損マウス由来の糞便を野生型マウスに食べさせた後、2% DSS を投与し、体重変化を調べた。B: 糞便中の全 *Lactobacillus* 属の割合。C: 大腸粘膜固有層に存在する Treg 細胞 (Foxp3 陽性) の全リンパ球に占める割合。D: *L. murinus* を無菌動物に移植し、5 週後の Foxp3 陽性 Treg 細胞の割合。文献 14 より引用。

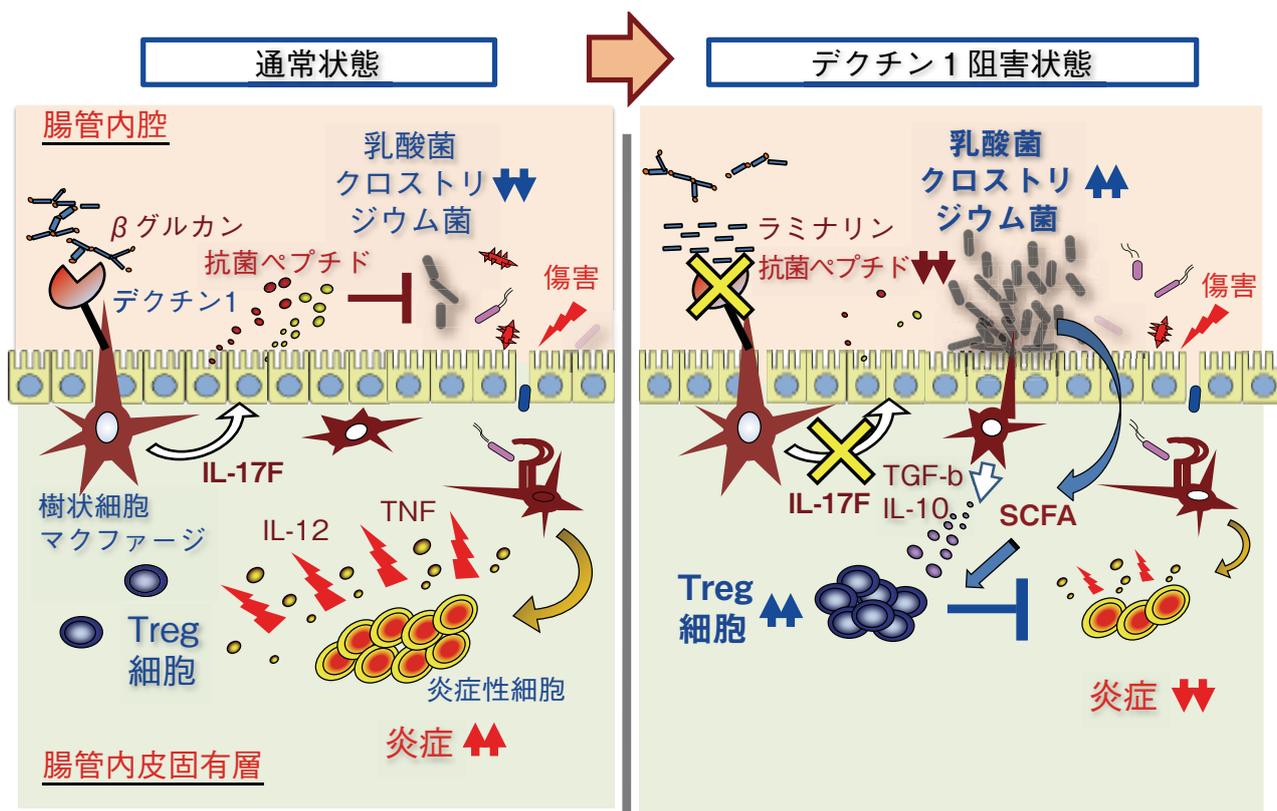


図9 Dectin-1、あるいはIL-17F阻害による炎症性大腸炎の抑制（文献14及び17より改変）

誘導大腸炎を誘導したのち、大腸における種々の炎症性サイトカインの発現を調べたところ、Dectin-1欠損マウスでIL-17Fの発現が特異的に減少していることがわかった（図11A）。また、大腸の粘膜固有層の樹状細胞やマクロファージにはDectin-1が発現しており、 β グルカンによってIL-17Fの発現を誘導することができること（図11B）、IL-17Fによって、腸管上皮細胞からS100A8の発現を誘導できること（図11C）から、Dectin-1はIL-17Fの発現を介して抗菌蛋白質の発現を誘導していることがわかった[16]。

そこで、次に我々はIL-17FあるいはIL-17Aを抗体によって阻害した場合のDSS誘導大腸炎に対する影響を検討した。図12Aに示す通り、抗IL-17F抗体が予想通り、大腸炎の発症を抑制したのに対し、抗IL-17Aはむしろ大腸炎を悪化させた[17]。抗IL-17F抗体で処理すると、大腸の萎縮は軽減され（図12B）、大腸では*Lactobacillus murinus*と共に、やはりTreg誘導能を持つ*Clostridium cluster XIVa*が顕著に増加していた（図12C）。この菌の増加には抗菌蛋白質の一つであるPhospholipase A2などが関与していることがわかった。また、抗IL-17F抗体処理マウスでは、大腸でFoxp3陽性のTreg細

胞が増加し、IL-10の産生が増加する一方で、IFN- γ の産生が低下していた（図12D、E）。これらの結果は、通常はDectin-1シグナルによってIL-17Fが誘導され、それが抗菌蛋白質を産生させることによってこれらの細菌の増殖を抑制しているのに対し、抗体によってIL-17Fが阻害されると、抗菌蛋白質が減少し、Treg誘導能を持つ細菌の増殖が起こり、Tregが増加することにつながっていることを示している（図9）。Dectin-1を欠損させた場合とIL-17Fを欠損させた場合とで、共に*L. murinus*の増加は認められるものの、*C. XIVa*の増加はIL-17Fを阻害した場合にのみ見られるなど、両者の表現型は必ずしも一致しない。従って、Dectin-1の作用の一部はIL-17Fを介するものの、必ずしもそれだけでは説明できないことがわかる。

7. 自然免疫受容体の腸管免疫に於ける役割

我々の腸管には数百種類、 10^{15} にも達する腸内細菌が生息している事が知られており、これらの細菌が宿主の免疫系に大きな影響を及ぼしている事が最近の研究で分かってきた。例えば、SFBとよばれる細菌は、サイトカインの一つであるIL-17を分

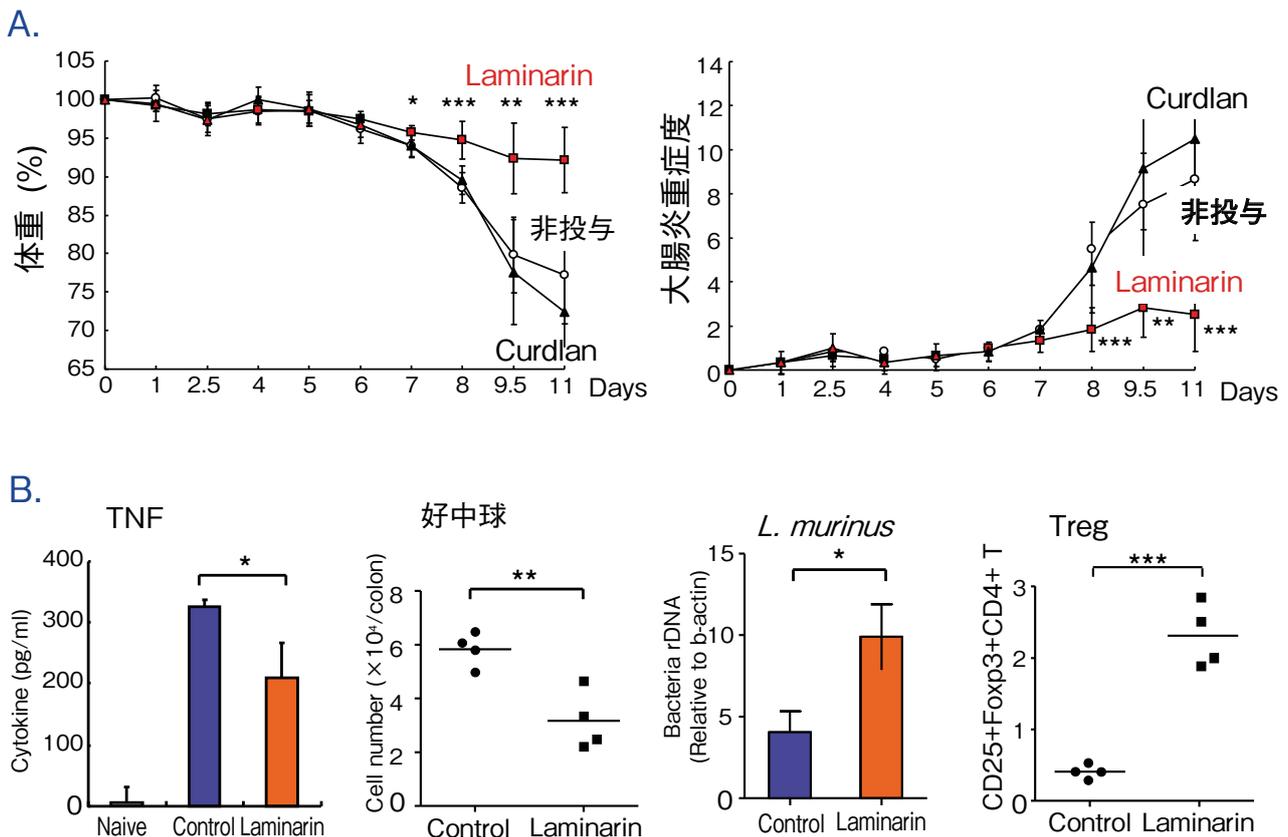


図 10 低分子 β グルカン (ラミナリン) による DSS 誘導大腸炎の抑制

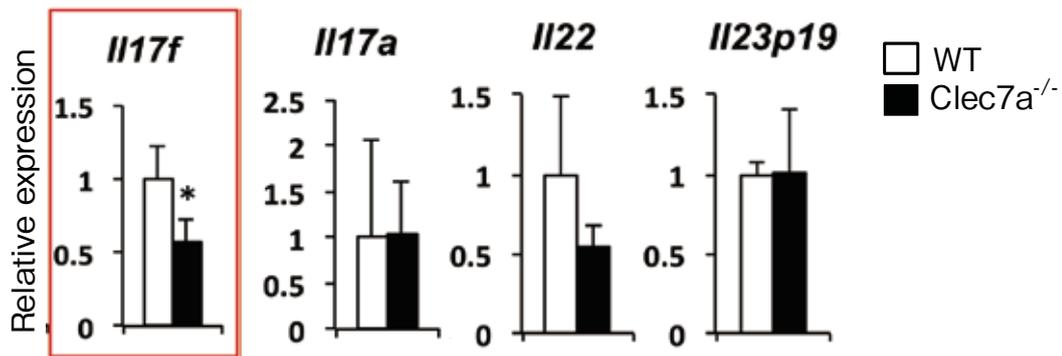
A : 5%ラミナリンを飲用水に混ぜ、3日間投与した後、DSS 誘導大腸炎を誘導し、この時の体重変化と下痢の重症度を示した。コントロールとして長鎖 β グルカンであるカードランを用いた。B : 粘膜固有層細胞によるサイトカイン産生、好中球の浸潤、糞便中の *L. murinus* の割合、および大腸粘膜固有層に於ける Foxp3 陽性 Treg 細胞の割合。文献 14 より引用。

泌する Th17 と呼ばれる T 細胞を選択的に分化させ、炎症を増悪化させる [18]。一方、IL-10 を出して炎症を抑制する Treg 細胞を分化誘導する *Clostridium* 菌のようなものも知られている [19]。これらの菌は、腸管免疫だけでなく、脊髄での炎症など、他の臓器の免疫応答にも影響を及ぼす事が知られている。人でも炎症性腸疾患の患者では、Treg 誘導能を持つ *Clostridium* 菌や乳酸桿菌の割合が減少している事から、人でもマウスと同じ様に Dectin-1 シグナルを介して腸内フローラが変化し、Treg 分化を調節している可能性が示唆されている [10, 20]。

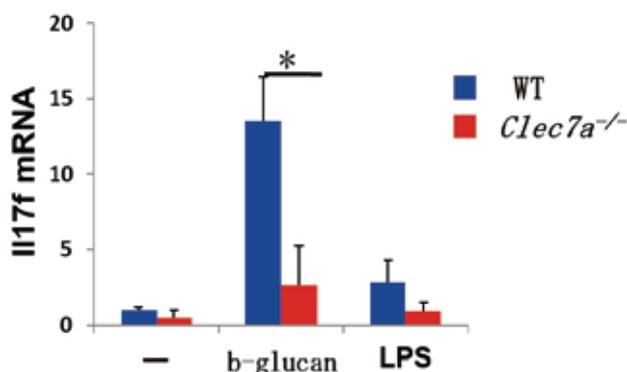
ところでこれらの腸内細菌叢は、腸管内に分泌される IgA 抗体や抗菌蛋白質等によって制御されている他、食事によっても大きな影響を受けることが分かっている。当然、食物は細菌にとっても栄養源であり増殖にとって重要な要素であるが、それだけでなく、本総説で示したように、食品成分の中には自然免疫系を介して、腸内細菌叢に影響を与えることが考えられる。実際、人に Dectin-1 の阻害剤

である低分子 β グルカンを投与した場合、乳酸桿菌が増加する事がわかっている (唐ら、未発表)。Dectin-1 以外に、例えば TLR シグナルの異常によっても腸内細菌叢の変動が見られることが報告されており、腸管粘膜層で発現する様々な自然免疫受容体は絶えず食物成分や常在細菌、真菌などから刺激を受けて、サイトカインや抗菌蛋白質の発現を誘導することによって腸内細菌叢が影響を受けていると思われる。それぞれの菌は特徴的に Treg を誘導したり、あるいは Th1、Th2、Th17 などの Th 細胞を分化誘導したりすることにより、腸管の免疫的な雰囲気、即ち炎症やアレルギー応答を起し易いかどうか、が決定されているのではないだろうか。現在、食品成分を認識する自然免疫受容体は、Dectin-1 以外は、DNA を認識する TLR9、ペプチドグリカン を認識する TLR2 など、ごくわずかでしかない。今後、個々の食品成分に対応する自然免疫受容体を明らかにすることによって、より精密な腸内細菌叢の調節機構や腸管の免疫恒常性の維持機構が明らかに

A



B



C

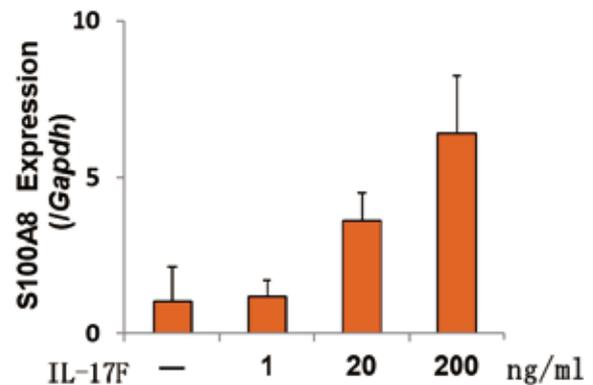


図 11 Dectin-1 は IL-17F の発現誘導を介して抗菌蛋白質の発現を誘導する
 A : Dectin-1 欠損により、大腸粘膜固有層では IL-17F の発現が特異的に低下する。B : 大腸粘膜層より CD11b+ 細胞 (CD11c+ 及び CD11c- 細胞を含む) を分離し、β グルカン (curdian) で刺激した時の IL17f mRNA の発現。C : 大腸の器官培養に IL-17F を加えた時の抗菌蛋白質 (S100A8) の発現誘導。文献 16 より引用。

なるものと考えられる。さらに、このような食品成分とその受容体の関係を明らかにすることにより、食事を介して腸内の細菌叢を我々の健康に好ましい状態に改善し、延いては炎症やアレルギー、癌などを予防、治療することに繋がるものと考えている。

謝辞

本書に述べられたβグルカンの受容体がDectin-1であることを同定した研究は西城忍博士(現千葉大学真菌医学研究センター准教授)が中心に行ったものであり、Dectin-1の腸管免疫における影響は当研究室の唐策博士が中心に行ったものである。また、東京薬科大学の大野尚人教授にはβグルカンやαマンナンの生化学的解析や調製において大変お世話になった。心より感謝申し上げたい。なお、本稿の一部は、「βグルカンの基礎と応用」(大野尚仁監修; 株式会社シーエムシー出版)(2018)の「βグルカン受容体と自然免疫」(岩倉洋一著)の項

を引用した。

参考論文

1. Saijo, S., and Iwakura, Y. *Int. Immunol.*, 23, 467 (2011).
2. Drummond, R. A., et al., *Eur. J. Immunol.*, 41, 276 (2011).
3. Yabe, R., et al., in "*Glycoscience: Biology and Medicine*", ISBN : 978-4-431-54840-9), Springer Japan, 1319(2015).
4. Brown, G. D., et al., *Nat. Rev. Immunol.*, <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0004-8>(2018).
5. Kaifu, T., and Iwakura, Y., in "*C-Type Lectin Receptor in Immunity*", (ISBN : 978-4-431-56013-5), Springer Japan, 101(2016).
6. Ariizumi, K. et al., *J. Biol. Chem.*, 275, 20157 (2000).
7. Taylor, P. R., *J. Immunol.*, 169, 3876 (2002).

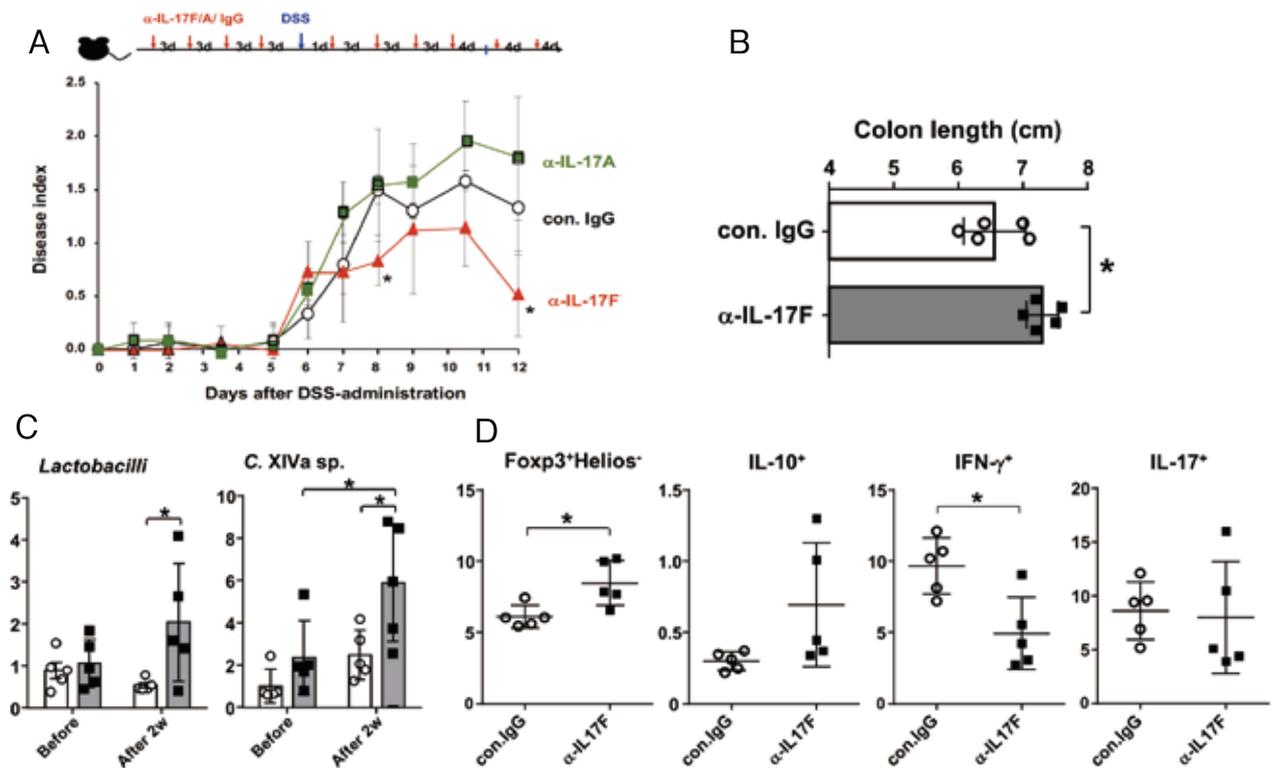


図 12 IL-17F を阻害すると大腸炎は抑制されるのに対し、IL-17A を阻害しても抑制されない DSS 投与前 12 日前より 3 日ごとに抗 IL-17F、または抗 IL-17A、非感受性 IgG など投与し、その後 2% DSS 含有飲用水を与えた。A: 抗体投与による大腸炎の重症度の変化。B: 抗体投与 4 週後の大腸長。C: 抗体投与 2 週後の糞便中の *Lactobacillus* 属及び *Clostridium* Cluster XIVa の割合。D: 大腸粘膜固有層における Foxp3⁺Treg、及び IL-10 陽性、IFN- γ 陽性細胞の割合。文献 17 より引用。

8. Saijo, S., et al., *Nature Immunol.*, 8, 39 (2007).
9. Saijo, S., et al., *Immunity*, 32, 681 (2010).
10. Akitsu, A., et al., *Nat. Commun.*, 6, 7464. (2015).
11. Iwakura, Y., et al., *Immunological Rev.*, 226, 57–79 (2008).
12. Iwakura, Y., et al., *Immunity*, 34, 149 (2011).
13. Ishigame, H., et al., *Immunity*, 30, 108 (2009).
14. Tang, C., et al., *Cell Host & Microbe*, 18, 183 (2015).
15. Iliev I. D., et al., *Science*, 336, 1314, (2012).
16. Kamiya, T., et al., *Mucosal Immunol.*, doi: 10.1038/mi.2017. 86 (2017).
17. Tang, C., et al., *Nat. Immunol.*, doi: 10.1038/s41590-018-0134-y (2018).
18. Goto, Y., et al., *Immunity*, 40, 594–607 (2014).
19. Atarashi, K., et al., *Nature*, 500, 232 (2013).
20. Frank, D. N., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 13780 (2007).
21. Netea, M. G., et al., *Nat. Rev. Microbiol.*, 6, 67 (2008).

特許取得情報

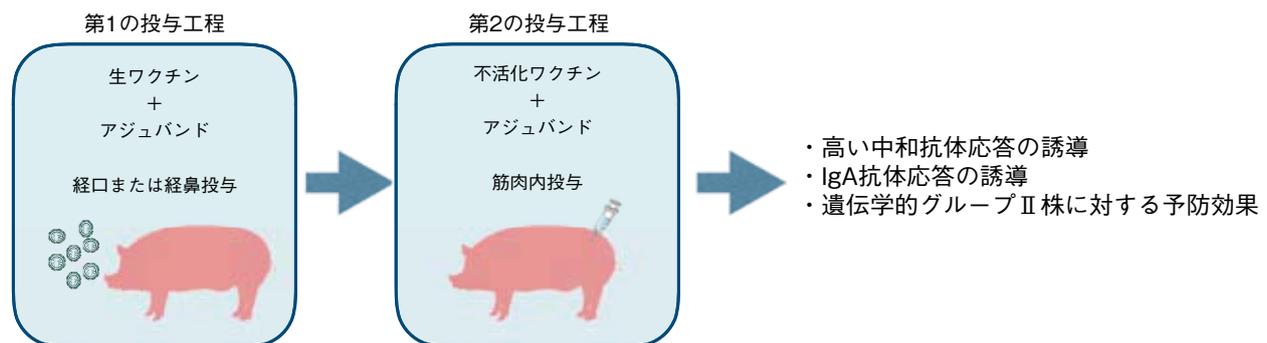
弊所では平成 29 年 12 月 8 日に下記の特許権を取得いたしましたので、ここにその概要を報告いたします。

- 【発明の名称】 豚流行性下痢の予防又は治療方法、ワクチン、及びワクチンキット
 【特許番号】 特許第 6253210 号
 【出願日】 平成 28 年 8 月 17 日
 【特許権者】 一般財団法人日本生物科学研究所、日生研株式会社
 【発明者】 佐藤哲朗、小祿和希、大島義之、古谷嘉章、堤信幸
 【要約】 課題：豚流行性下痢（PED）ウイルス（PEDV）に特異的な中和抗体の産生誘導活性、及び液性免疫応答の誘導活性に優れ、効率よく PED を予防又は治療することができる PED の予防又は治療方法、ワクチンキット、経口又は経鼻投与用ワクチン、及び筋肉内投与用ワクチンを提供すること。解決手段：PEDV の生ワクチンとアジュバントとを経口投与及び経鼻投与のいずれかで豚に投与する第 1 の投与工程と、前記 PEDV の不活化ワクチンとアジュバントとを筋肉内投与で前記豚に投与する第 2 の投与工程と、を含む PEDV の予防又は治療方法である。

【産業上の利用可能性】

本発明の豚流行性下痢の予防又は治療方法、ワクチンキット、経口又は経鼻投与用ワクチン、及び筋肉内投与用ワクチンは、豚流行性下痢ウイルスに特異的な中和抗体の産生誘導活性、及び液性免疫応答の誘導活性に優れるため、豚流行性下痢の予防又は治療に好適に利用可能である。

●特許の概要



——テーマは「生命の連鎖」——
 生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを快いリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士による揮毫です。

日生研たより 昭和 30 年 9 月 1 日創刊(年 4 回発行)
 (通巻 609 号) 平成 30 年 9 月 25 日印刷 平成 30 年 10 月 1 日発行(第 64 巻第 4 号)
 発行所 一般財団法人日本生物科学研究所
 〒198-0024 東京都青梅市新町 9 丁目 2221 番地の 1
 TEL : 0428(33)1520(経営企画部) FAX : 0428(31)6166
 URL : <http://nibs.lin.gr.jp/>
 発行人 土屋耕太郎

編集室 委員/小野浩輝(委員長)、近内将記、安田早織
 事務/経営企画部
 印刷所 株式会社 精興社
 (無断転載を禁ず)