

## ダブル DNA アジュバントシステムによる 唾液分泌型 IgA 抗体誘導と抗免疫老化

片岡 宏 介

徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔保健福祉学分野

一昨年末からはじまった Covid-19 (新型コロナウイルス感染症) パンデミックの原因ウイルス SARS-CoV-2 をはじめ, ウイルスや細菌といった微生物のほとんどは口・鼻腔の粘膜から侵入し, 感染・発症すると考えられています。厚生労働省の発表では, Covid-19 による重傷者数および死亡者数の年齢階級は, 60 歳から急増し 80・90 歳代がピークとなっています。このことは, 宿主の防御機構, すなわち免疫力の低下, 「免疫老化」が大きな原因のひとつと考えられます。また, 免疫力を強化するためのワクチンも, 「免疫老化」を起こしている状態では, 十分なワクチン効果が期待できないのが実情です。

ヒト成人の皮膚総面積の 200 倍以上を占めるといわれる粘膜の表層では, 常に様々な外来抗原と接し, それに抗う手段として, 非特異的防御バリア (自然免疫機構) と特異的防御バリア (獲得免疫機構) が作働しています。そういった外来抗原の侵入門戸となる粘膜部において, 特異的防御バリアの主体となる分泌型 IgA 抗体を効率良く産生・分泌すること, また産生を誘導・促進する粘膜ワクチンの開発は, 感染防御戦略のひとつとなると考えられます。私たちはこれまで, 粘膜免疫学を基盤とした粘膜ワクチン, 特に鼻腔に点鼻するタイプの経鼻投与型ワクチンに応用するための免疫賦活化剤 (アジュバント) の研究・開発を行っており, 抗原提示細胞である樹状細胞をターゲットとしたダブル DNA アジュバントシステムを構築, 数種の抗原を用い, それらを若齢および老齢の実験動物 (マウス) の鼻腔に投与し, その抗原に対する免疫応答を比較することで, 免疫老化した高齢者にも適応する粘膜ワクチン開発のための基礎研究を行ってまいりました。

すなわち, 本ダブル DNA アジュバントシステムは, アジュバントとして造血幹細胞やリンパ球系前駆細胞

の増殖因子であるサイトカイン Flt3 リガンド (FL) の遺伝子を発現ベクターに挿入した DNA プラスミド (pFL) とパターン認識受容体のひとつである TLR9 を活性化する TLR9 リガンド, K 型 CpG オリゴヌクレオチド 1826 (CpG) を抗原とともに経鼻同時投与するものです。同アジュバントシステムを用い, 例えば OVA 抗原とともに経鼻投与した場合, 粘膜免疫誘導組織である NALT において, 明らかな樹状細胞数の増加 (図 1), そしてその樹状細胞の活性化が認められました。また, ワクチン投与マウスの脾臓 CD4T 細胞を抗原刺激した時, Th1 型サイトカインと Th2 型サイトカインがバランスよく産生されており, ダブル DNA アジュバントシステムの高い安全性が示されました。さらに, 歯周病原性菌 *Porphyromonas gingivalis* の線毛サブユニットタンパク FimA を抗原として同システムを用いマウスに経鼻投与した時, 唾液はもちろん, 鼻腔洗浄液そして肺洗浄液中に抗原特異的 IgA 抗体が誘導されることが認められ, ワクチン接種後に同菌を鼻腔感染させたところ, 上・下気道からの *Porphyromonas gingivalis* 菌排除効果を認めました (図 2)。さらに IgA ノックアウトマウスを用いることで, その排除効果に IgA 抗体が深く関わっていることを示唆しました。このことは, 樹状細胞をターゲットとする同アジュバントシステムは, 上・下気道からの効率的な同菌排除を可能するものであり, 将来的には誤嚥性肺炎予防の経鼻ワクチン開発につなげていきたいと考えています。

次に私たちは, 定常状態のナীব若齢マウスと老齢マウスの粘膜免疫誘導組織パイエル板と NALT における樹状細胞数を比較検討しました。老齢マウスのパイエル板では樹状細胞数が顕著に減少しているにもかかわらず, NALT では樹状細胞数の減少は認められず, 若齢マウスの NALT 樹状細胞数と有意な差は

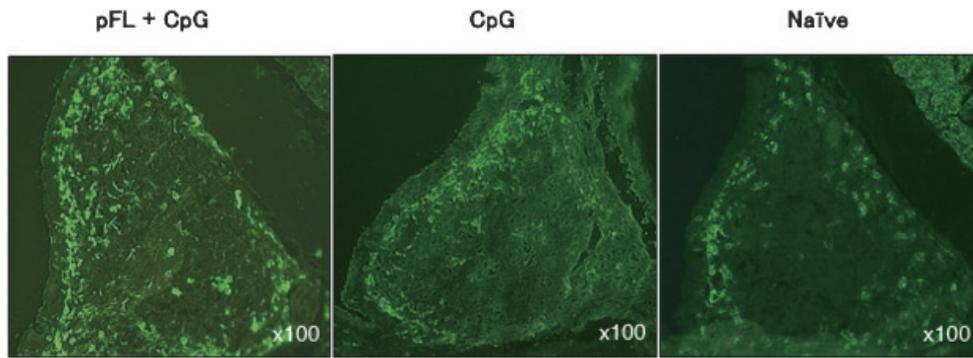


図1 ダブルDNAアジュバントシステムによるNALT樹状細胞数の増加

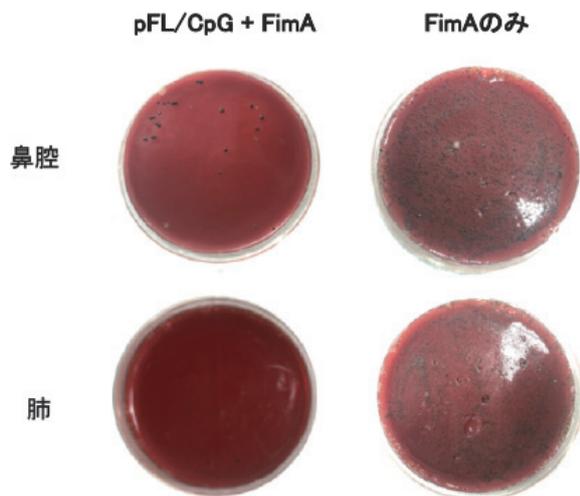


図2 ダブルDNAアジュバントシステムによる上・下気道からの歯周病原性菌排除効果

ありませんでした。さらに、NALT 樹状細胞の機能のひとつとしての抗原提示能について、若齢マウスと老齢マウスを比較検討したところ、老齢マウスの脾臓およびパイエル板の樹状細胞では、若齢マウスのそれらと比較して抗原提示能が低下していることが認められました。一方、NALT 樹状細胞では、老齢マウスと若齢マウスは同レベルの CD4T 細胞活性化能を有することが認められました。このことは、加齢・老化という現象は普遍的・内在的・進行的なものでありますが、パイエル板や脾臓、すなわち腸管免疫や全身免疫よりも、NALT から誘導される口・鼻腔免疫は、加齢・老化という影響を受けにくい免疫システムであることを示していると考えられます。

そこで、私たちは、*Porphyromonas gingivalis* 菌の FimA 抗原とダブル DNA アジュバントを若齢および老齢マウスに経鼻投与し、その後回収したマウス唾液から IgM および IgG 抗体を除去した唾液サンプル

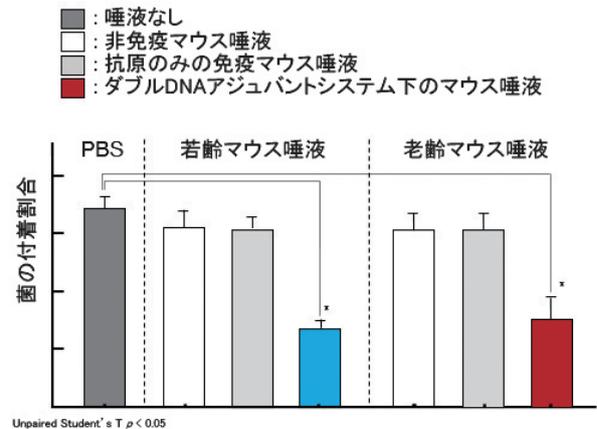


図3 唾液抗FimA SIgA抗体による口腔内モデルへの歯周病原性菌の付着抑制

ル(抗 FimA IgA 抗体リッチな唾液サンプル)を調整後、その唾液サンプルによるヒト唾液タンパク被覆ハイドロキシアパタイトペースト(口腔内歯面モデル)への *Porphyromonas gingivalis* 菌付着実験を行いました。結果は、本 DNA アジュバントシステムで誘導された若齢および老齢マウスの唾液サンプルは、口腔内歯面モデルへの *Porphyromonas gingivalis* 菌付着を効果的に、かつ同程度に抑制することが認められました(図3)。すなわち、同ダブル DNA アジュバントシステムと FimA 抗原からなる経鼻ワクチンは、若齢マウスだけでなく老齢マウスの唾液中抗原特異的 IgA 抗体を誘導し、その抗原特異的 IgA 抗体は、*in vitro* において同程度の菌付着抑制効果を有することを示唆しているものと考えられます。

わが国では、2042年まで高齢者が増加の一途を辿り、その後も2065年には高齢化率が38%を越えるであろうと予想されています。超高齢社会のわが国にお

いて、高齢者の健康寿命と平均寿命の差を解消し、高齢者のQOL向上を目指すことは喫緊の課題であります。「免疫老化」の影響を受けにくいNALTを基盤とした口・鼻腔免疫システムの解明をさらに押し進め、唾液分泌型IgA抗体というツールを最大限に活かすことで、口・鼻腔から侵入を試みるウイルスや細菌に対する、痛くなく安全な経鼻予防ワクチンの開発を今後進めていきたいと考えます。

参考文献：

- ・ Kataoka K *et al.*: Dendritic cell-targeting DNA-based nasal adjuvants for protective mucosal immunity to *Streptococcus pneumoniae*. *Microbiol Immunol.* **61**(6): 195-205, 2017.
  - ・ Kobuchi K, Kataoka K *et al.*: Nasal double DNA adjuvant induces salivary FimA-specific secretory IgA antibodies in young and aging mice and blocks *Porphyromonas gingivalis* binding to a salivary protein. *BMC Oral Health.* **19**: 188-196, 2019.
  - ・ Kataoka K *et al.*: Respiratory FimA-specific secretory IgA antibodies upregulated by DC-targeting nasal double DNA adjuvant are essential for elimination of *Porphyromonas gingivalis*. *Front Immunol.* **12**: 634923, 2021.
-