

# 博士論文要旨

## マウスモデルを場とした莢膜非保有インフルエンザ菌による肺感染防御誘導機構の検討

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 生命薬科学専攻  
感染症予防治療分野

小山 純

### 背景

インフルエンザ菌莢膜非保有株 (non-typeable *Haemophilus influenzae*: NTHi) は、主に上気道に定着し、呼吸感染症の主要な起炎菌となり、成人における市中肺炎、慢性閉塞性肺疾患の急性増悪、小児における中耳炎などを引き起こす。近年、NTHi の  $\beta$  ラクタム耐性菌の増加が臨床的な問題となっておりワクチン開発の必要性が唱えられて久しい。しかしながら、NTHi による肺感染症を場とする自然感染免疫応答においては未だ不明な点が多く、今後の NTHi に対する有効なワクチン開発を視野に入れた基礎的研究が望まれている。これまでに、NTHi ワクチンの候補としては、NTHi 外膜蛋白質 (OMP) 抗原のうち P2、P6 が注目されている。P6 は全ての NTHi 株に存在し、共通抗原として注目されている。また、P2 は殺菌的な抗体誘導するエピトープとして知られているが、これらのワクチン候補は未だ臨床応用されるには至っていない。

一方、プロフェッショナルな抗原提示細胞である樹状細胞 (dendritic cell: DC) は、宿主の感染防御免疫応答の始動において重要な役割を果たしていることが知られているにも関わらず、呼吸器感染症における DC の動態と肺及び、全身の獲得免疫誘導機構については未だ十分に解明されていない。

## 目的

本研究は、OMP の繰り返し投与（感染）マウスモデルを用いて、DC の配所属リンパ節の集積動態と、その後の DC-T 細胞相互作用に伴う獲得免疫誘導について P6 を標的として解析すること、誘導された獲得免疫の実際の感染防御能について検討することを第一の目的とした。また、実際の臨床現場において見られる NTHi の繰り返し感染を踏まえ、そのメカニズムを明らかにすること、P2 を中心とした菌株特異抗原が NTHi の繰り返し感染時の獲得免疫誘導に果たす役割と、その免疫誘導に最も寄与しているエピトープを明らかにすることを第二の目的とした。

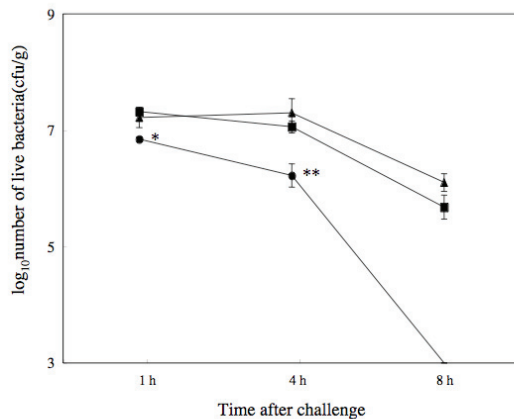


図1 OMP 繰り返し気管内投与後マウスにおける肺内の生菌クリアランス動態

OMP 繰り返し気管内投与後マウスに、H93-151 株を  $1 \times 10^8$  CFU/mouse で投与した。投与後 1 時間、4 時間、8 時間で経時的に肺組織を採取し、OMP 投与群、PBS 投与群、未処理群で肺内の生菌数を比較した。グラフ中の●は OMP 投与群、■は PBS 投与群、▲は未処理群の結果を表している。実験は  $n=5$  で行われ、生菌数 (CFU/g) の平均値±標準偏差で示している。\* $P < 0.05$ 、\*\* $P < 0.001$  (vs 未処理群、または PBS 投与群)

## 結果

OMP 気管内投与により、気道局所に存在する DC は OMP 抗原を捕捉、成熟化し肺所属リンパ節へ集積した。この成熟 DC の集積は繰り返し気管内投与に

より減少したが、肺所属リンパ節細胞に見られる P6 抗原特異的な細胞増殖は、これとは異なり亢進されていた。また、気道中に見られた P6 特異的な IgA や、循環血中に見られた P6 特異的な IgG は、繰り返し気管内投与により、それらの産生が亢進された。さらに OMP 繰り返し気管内投与により、NTHi に対する菌クリアランスを亢進し、結果的に同種株への感染防御能の亢進につながることが示された (図 1)。また、本研究に示された OMP 繰り返し気管内投与による成熟 DC の肺所属リンパ節への集積の抑制メカニズムについては、今後さらなる検討が必要であると考えられた。一方、同種株、異種株の繰り返し気管内投与に伴う菌株特異抗原の獲得免疫誘導について検討した結果、BALF 中に交差反応性の IgG、IgA の産生が確認された。さらに、BALF 中における IgA の avidity について検討した結果、同種株繰り返し気管内投与に伴う avidity の上昇が見られた。しかし、BALF 中における、IgG、IgA 産生の増加と、avidity が上昇により肺内の菌クリアランスが亢進されるのは、同種株の繰り返し投与群のみで、その効果は、投与された菌株に対するもののみ限定されるという所見を得た。それ故、この肺内の菌クリアランスの亢進は、主に抗原特異的なエピートープにより既定されるものであると考えられた。また、H05-19 株と H99-115 株の間には、交差反応性効果に伴う菌クリアランスの亢進が見られた (図 2)。

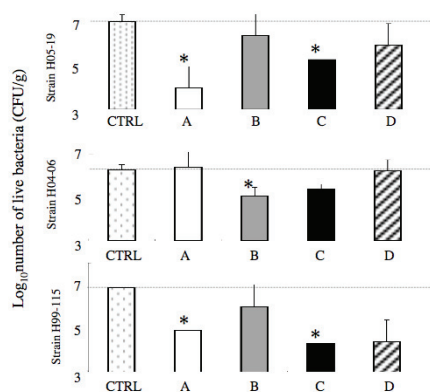


図 2 同種株、異種株の繰り返し気管内投与後マウス肺内菌クリアランスの亢進

図は、同種株、異種株の繰り返し気管内投与後マウスの H05-19 株 (上段)、H04-06 株 (中段)、H99-115 株 (下段) 生菌投与後の肺内のクリアランス動態の比較について示している。A は H05-19 株の繰り返し投与群、B は H04-06 株繰り返し投与群、C は H99-115 株繰り返し投与群、D は異種株繰り返し投与群、CTRL は未処理群マウスの結果を示している。H05-19 株 (上段)、H99-115 株 (下段) は菌投与後 12 時間、H04-06 株 (中段) は菌投与後 4 時間で検体採取を行った。実験は n=5 で行われ、生菌数(CFU/g)の平均値±標準偏差で示している。\* $P < 0.01$  (vs 未処理群)