

ワクチンフォーラム

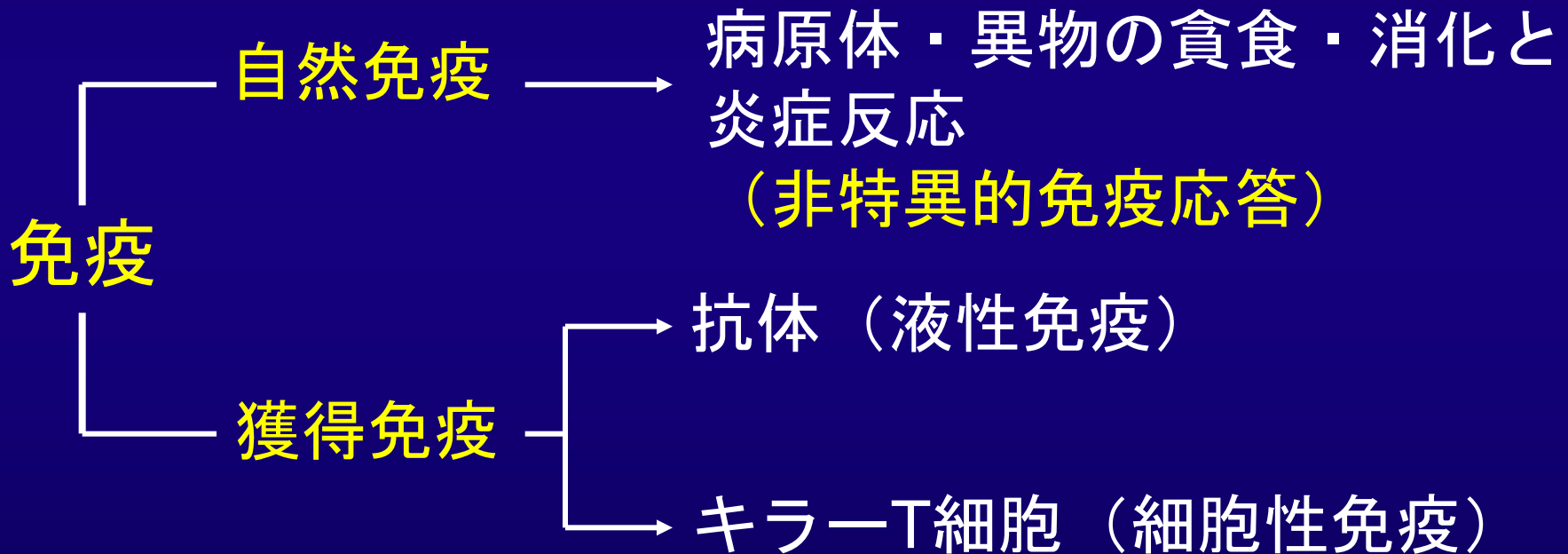
東京 2010.9.14

自然免疫の最近の進歩

大阪大学WPI免疫学フロンティア研究センター
審良静男

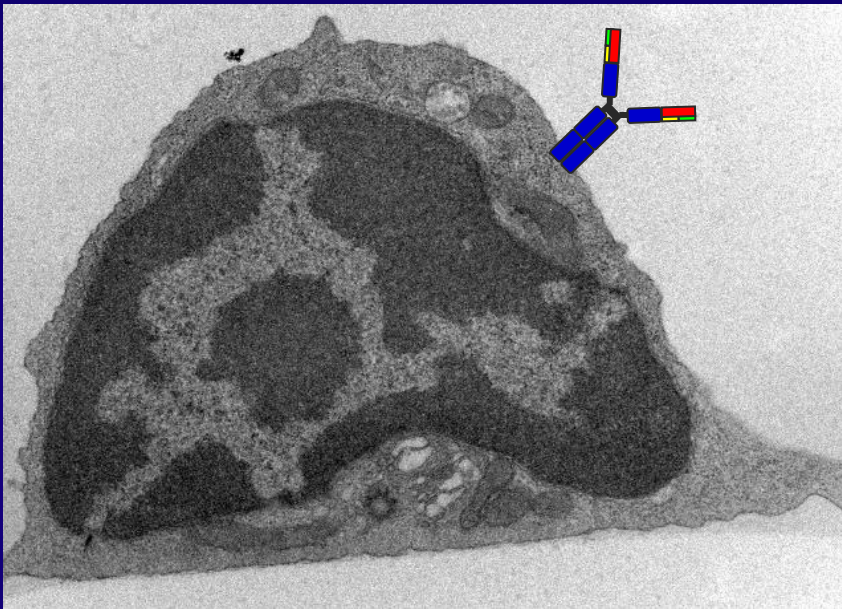


自然免疫と獲得免疫



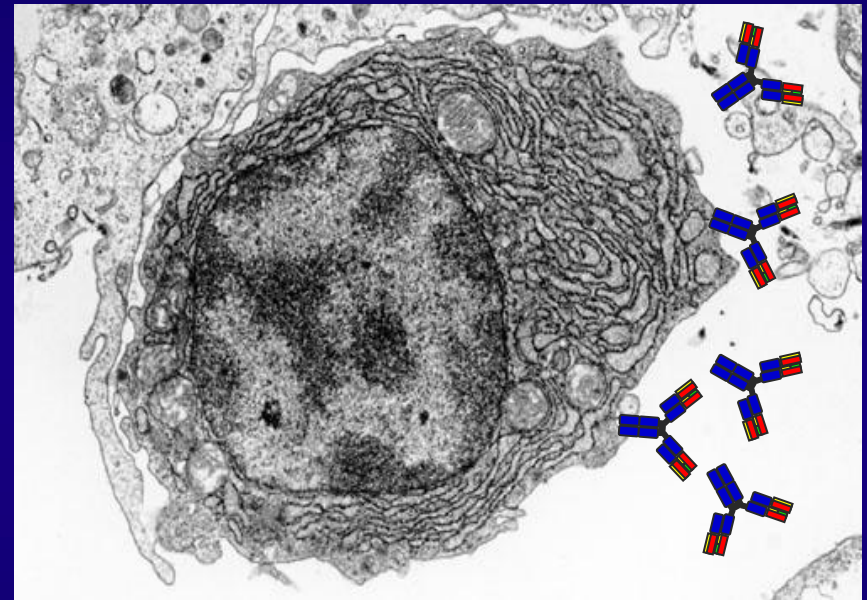
獲得免疫を担当する主な細胞群

T 細胞



細胞性免疫

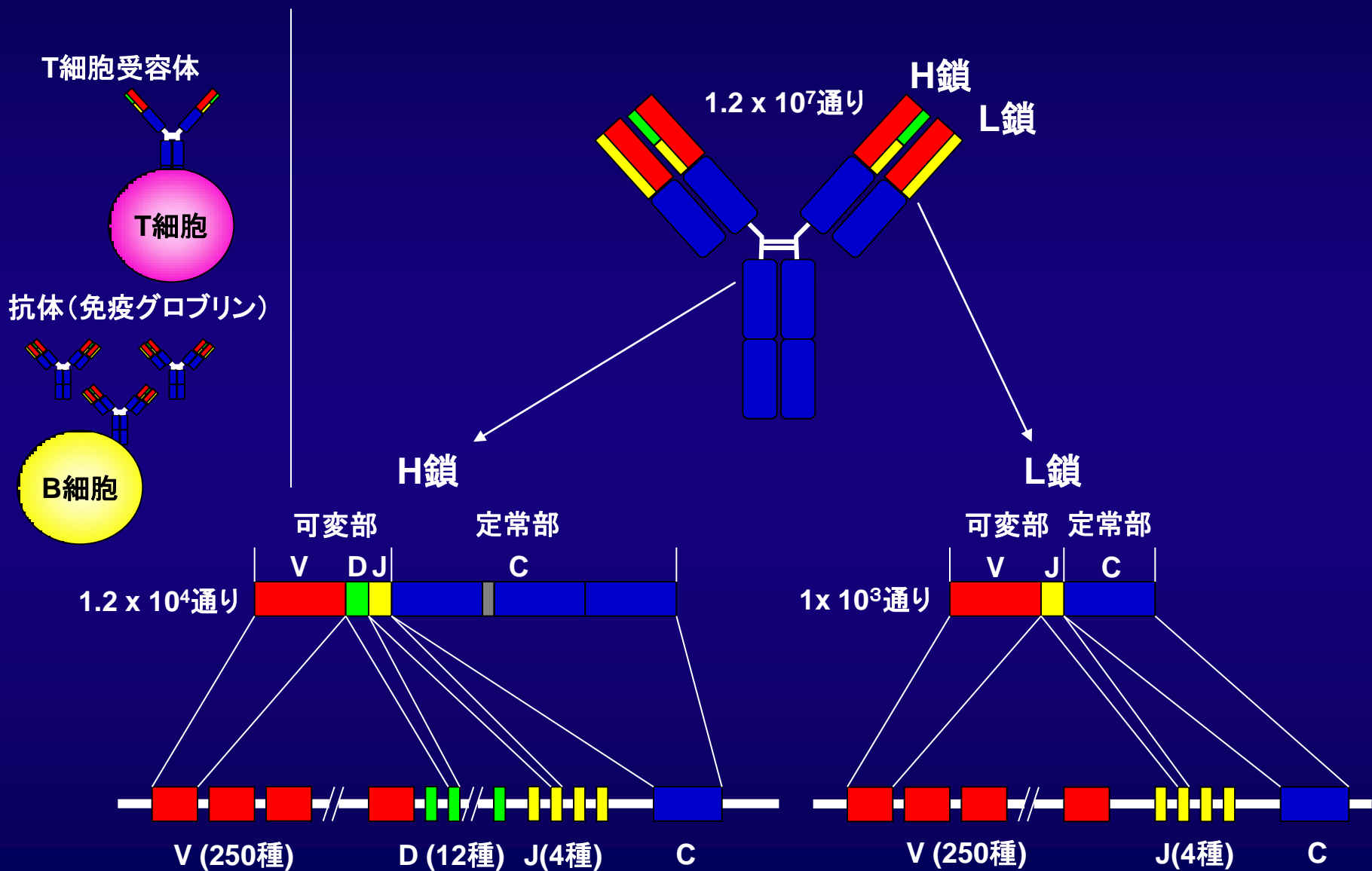
B 細胞



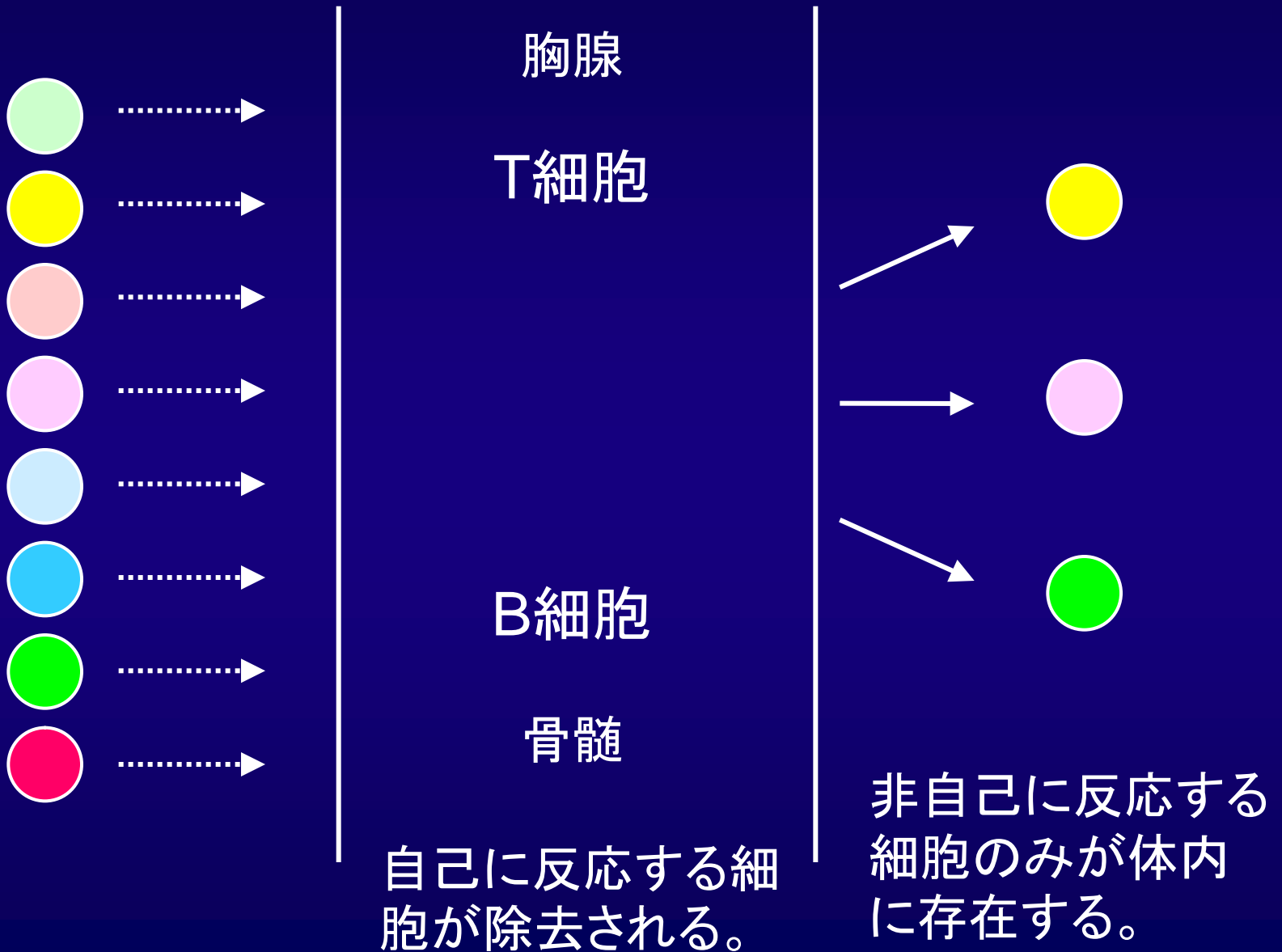
抗体産生

ワクチンの効果発揮には、これらの細胞に免疫記憶を与えることがキーとなる

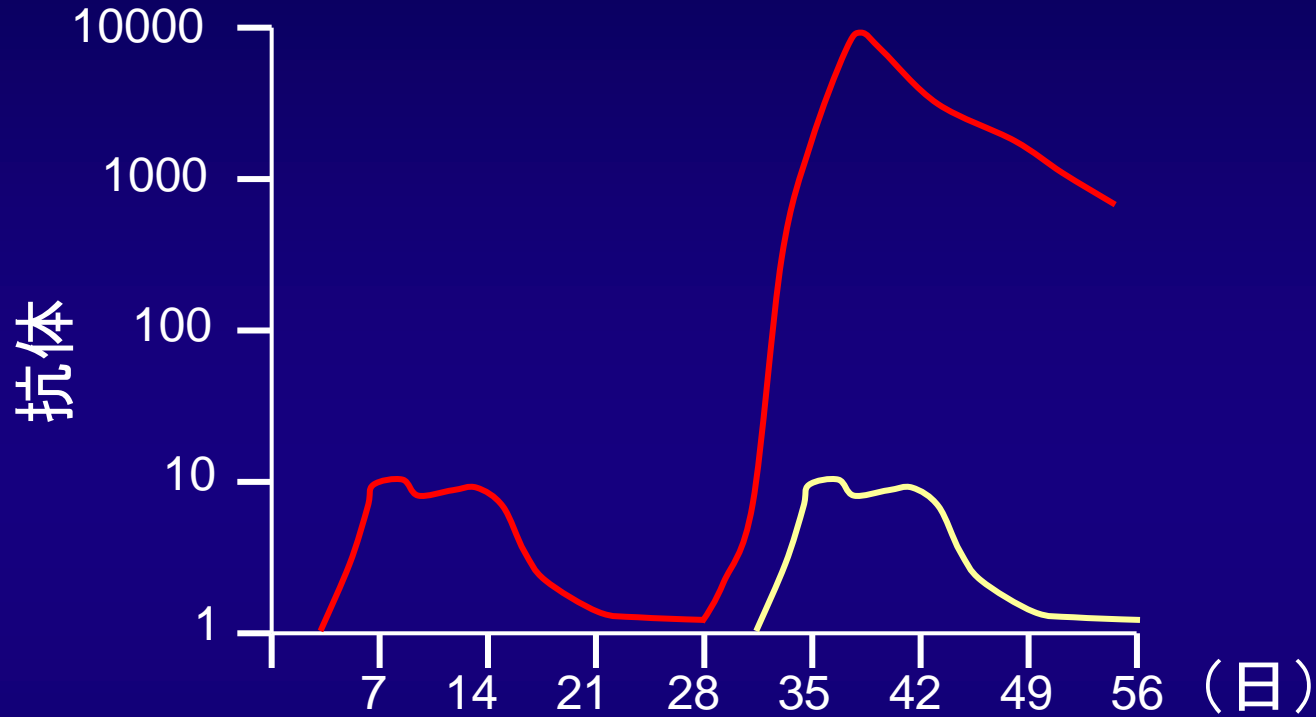
獲得免疫における遺伝子再構成と多様性



自己に反応する免疫細胞の除去

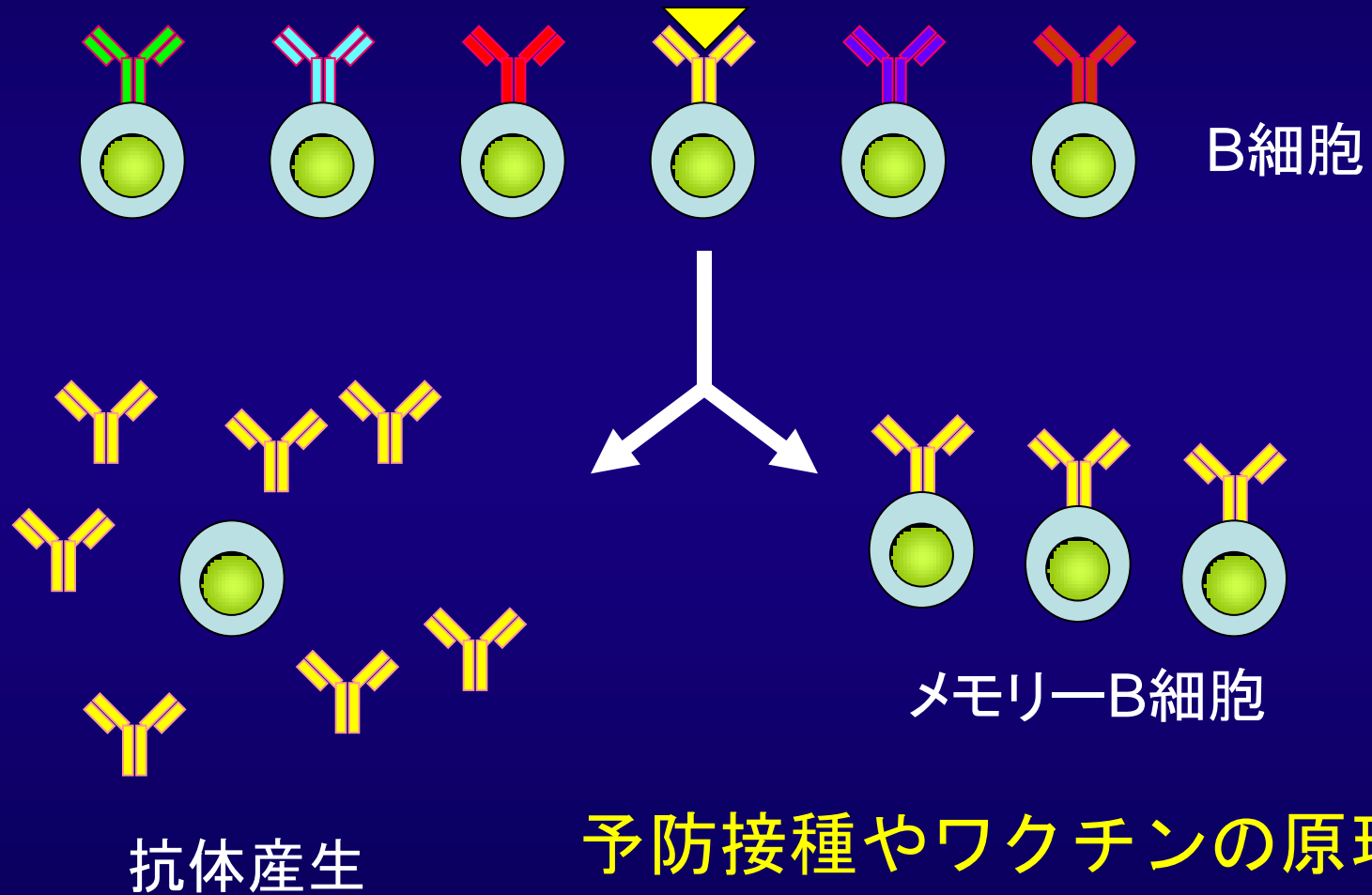


免疫の二次応答

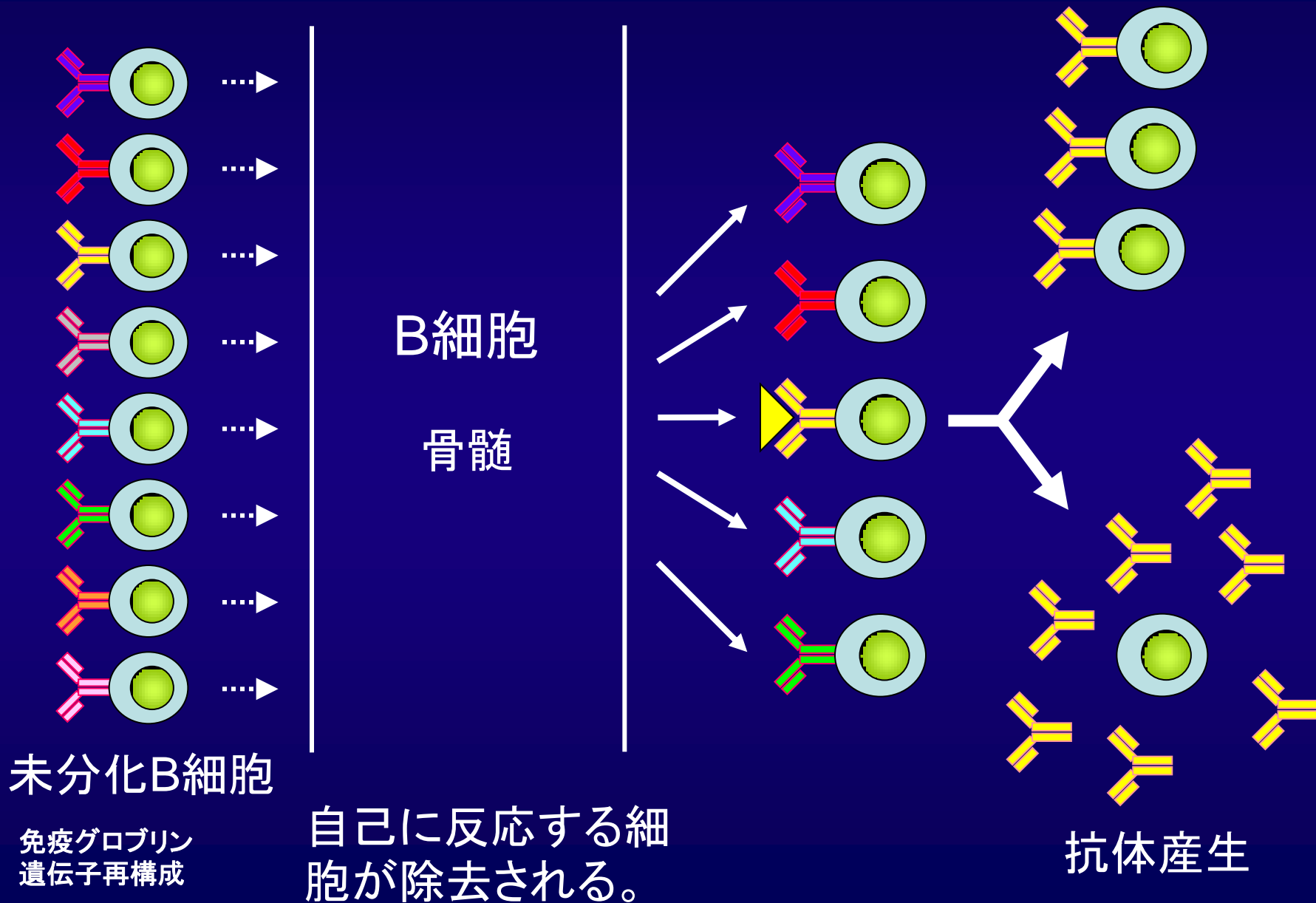


- 抗原Aを0及び28日目に投与した際のAに対する抗体産生
- 抗原Bを28日目に投与した際のBに対する抗体産生

免疫記憶の原理



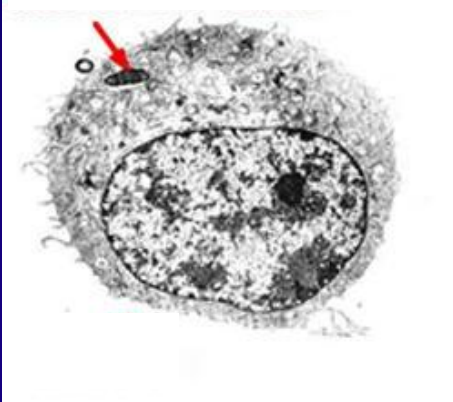
免疫応答の基本



自然免疫に関わる細胞群

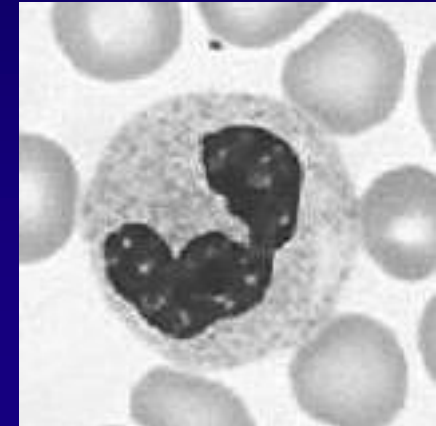
マクロファージ

Phagocytosed Salmonella

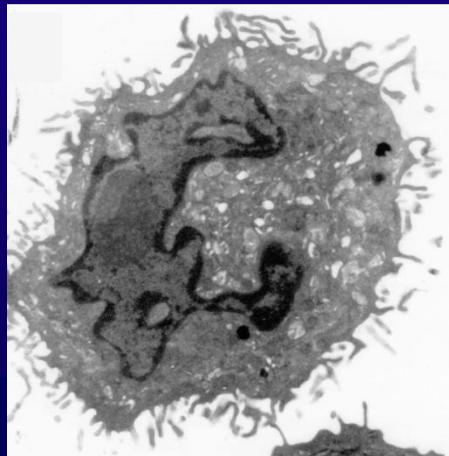


病原体の貪食・消化
サイトカイン産生（炎症）

好中球



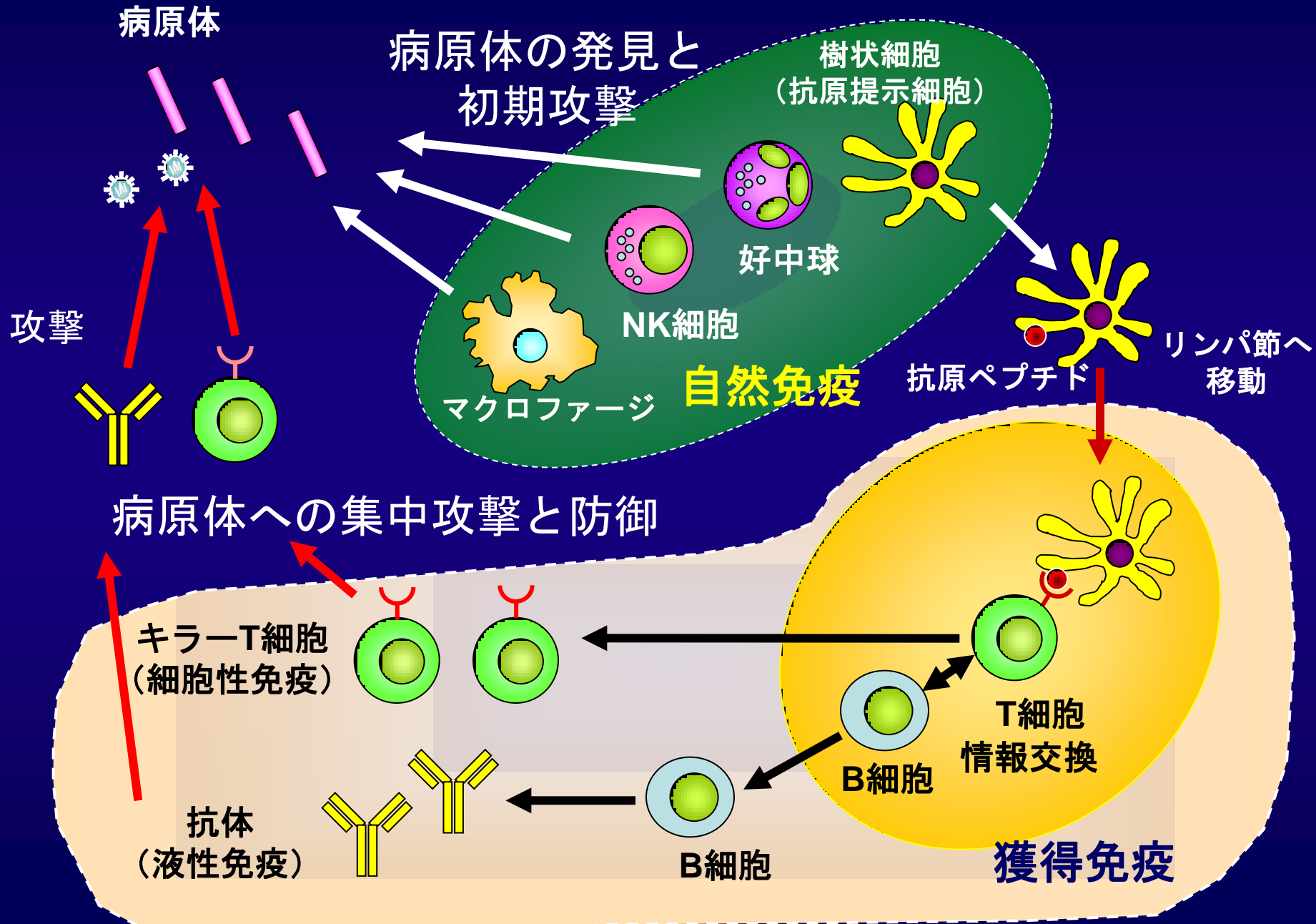
樹状細胞



病原体の貪食・消化
サイトカイン産生
抗原提示

食細胞

自然免疫と獲得免疫



アジュバント受容体としての Toll-like receptors

抗原だけを投与しても免疫反応は誘導されない。

アジュバント：免疫補助剤

抗原とともに生体に投与されたとき、その抗原に対する免疫応答を非特異的に増強させる物質

- フロイント完全アジュバント（BCG菌や結核菌の死菌＋フロイント不完全アジュバント）

皮下でwater in oilエマルジョンとして堆積し、少しずつ漏出するため体内滞在時間を延ばす効果

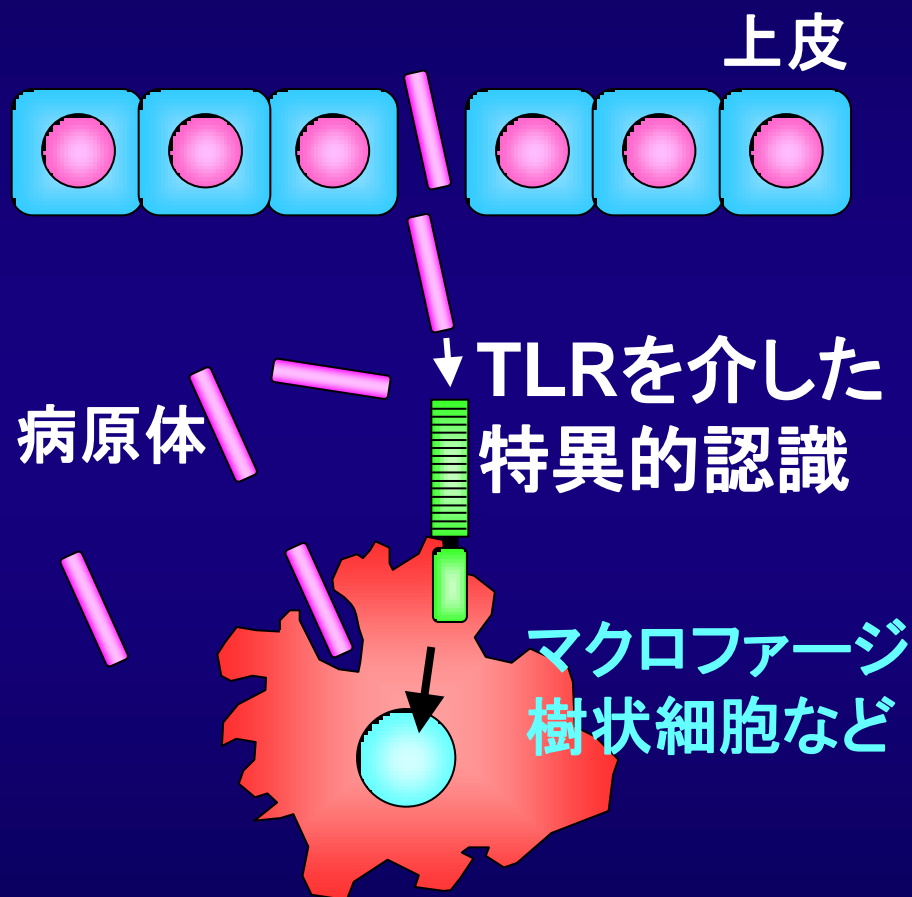
アジュバントは、TLRを刺激することにより、自然免疫系の細胞の活性化に関わる。

自然免疫も特異的に病原体を認識する

従来の考え方



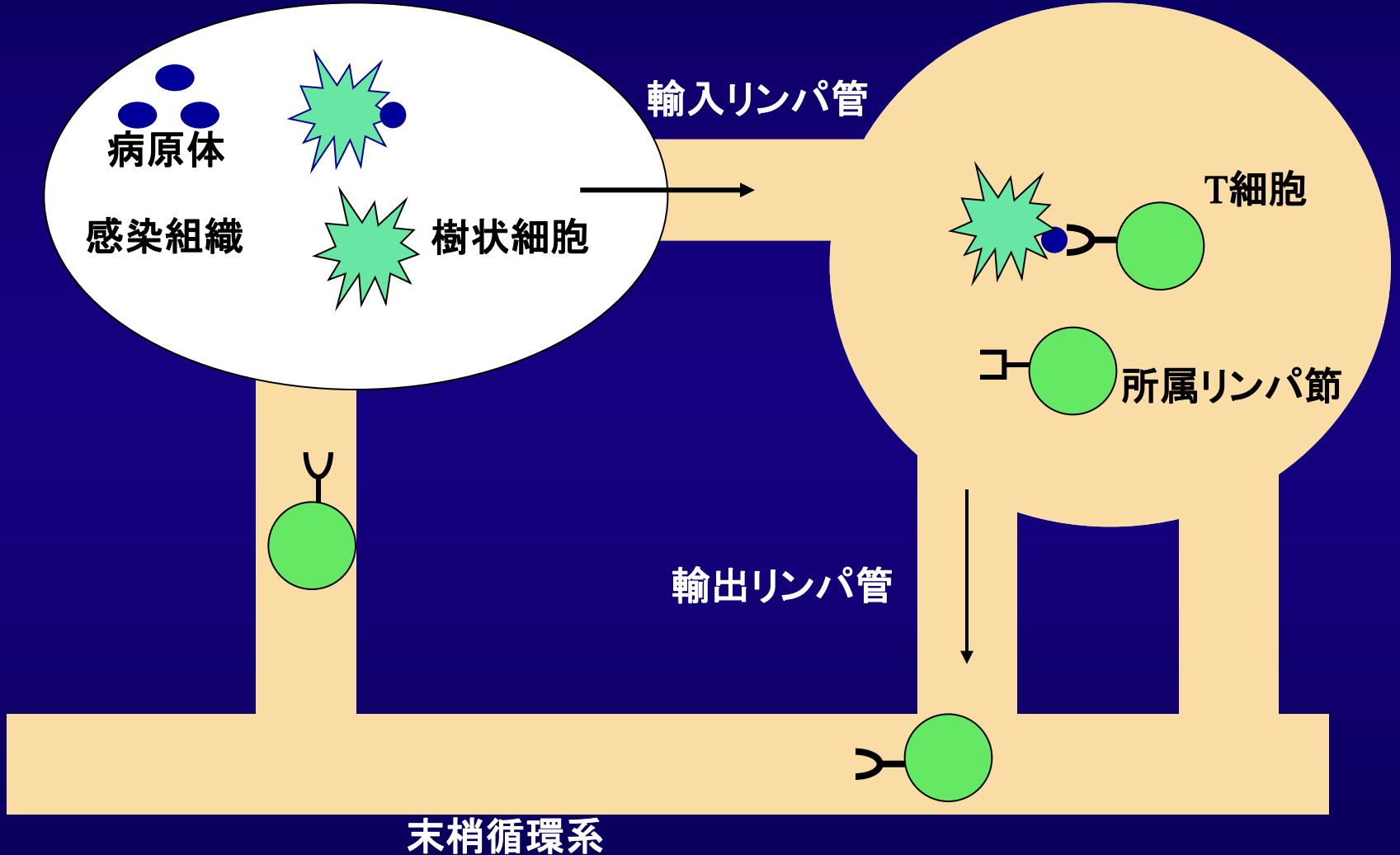
新しい概念



自然免疫系による病原体の貪食（非特異的免疫）

(従来の免疫応答の考え方)

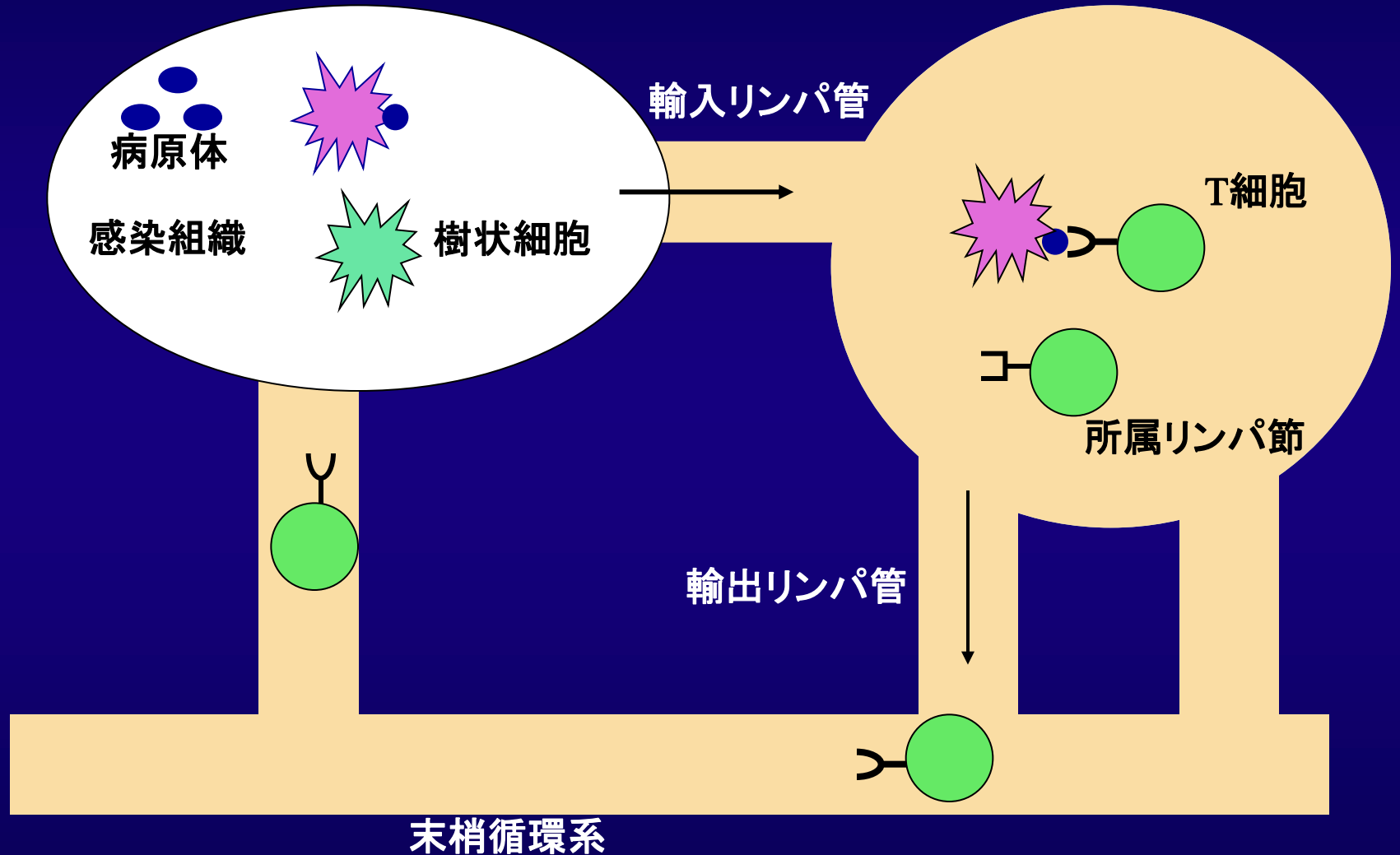
樹状細胞による病原体特異抗原の提示 特異的受容体をもったT細胞の活性化



自然免疫系による病原体の認識

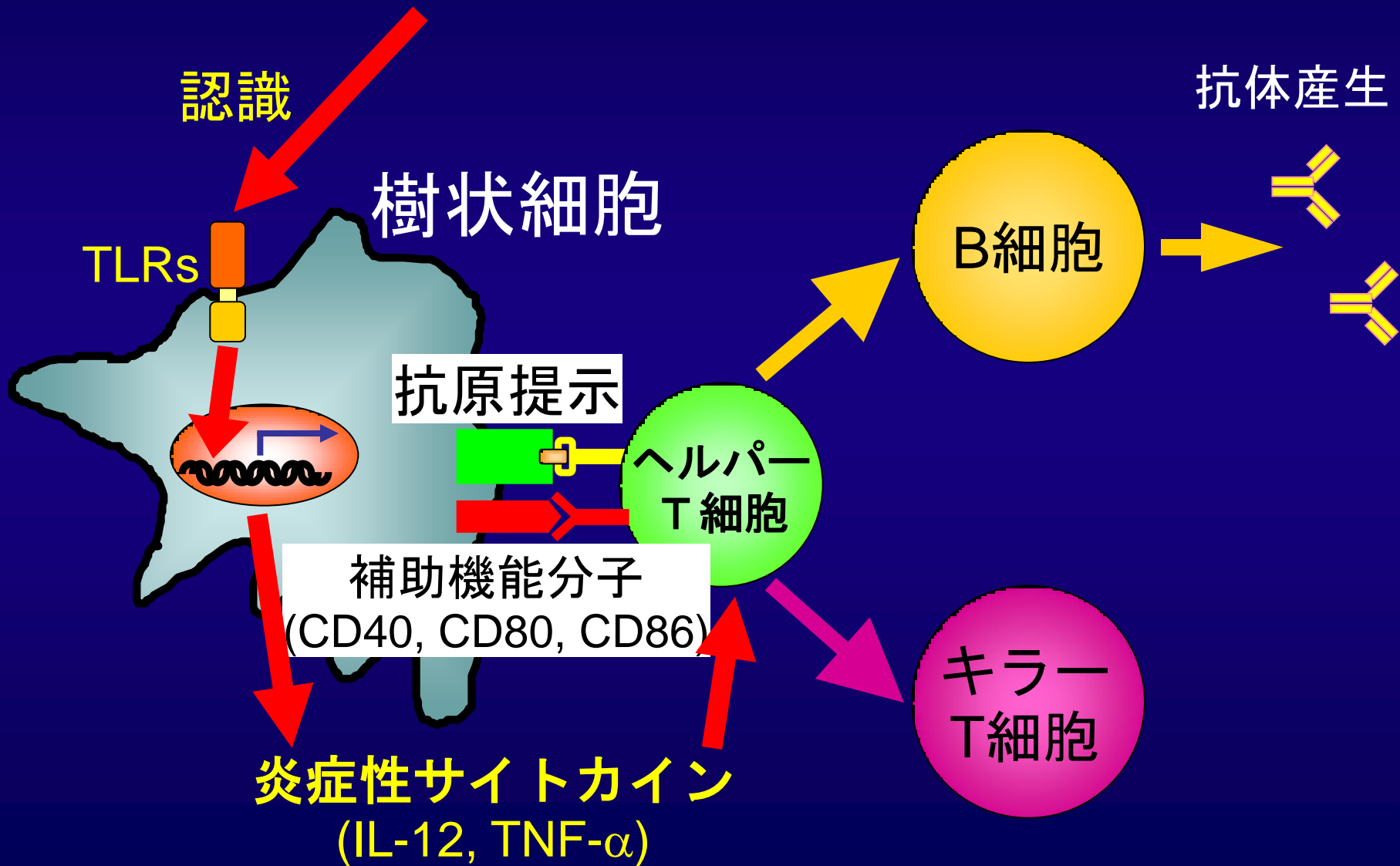
病原体認識による樹状細胞の活性化

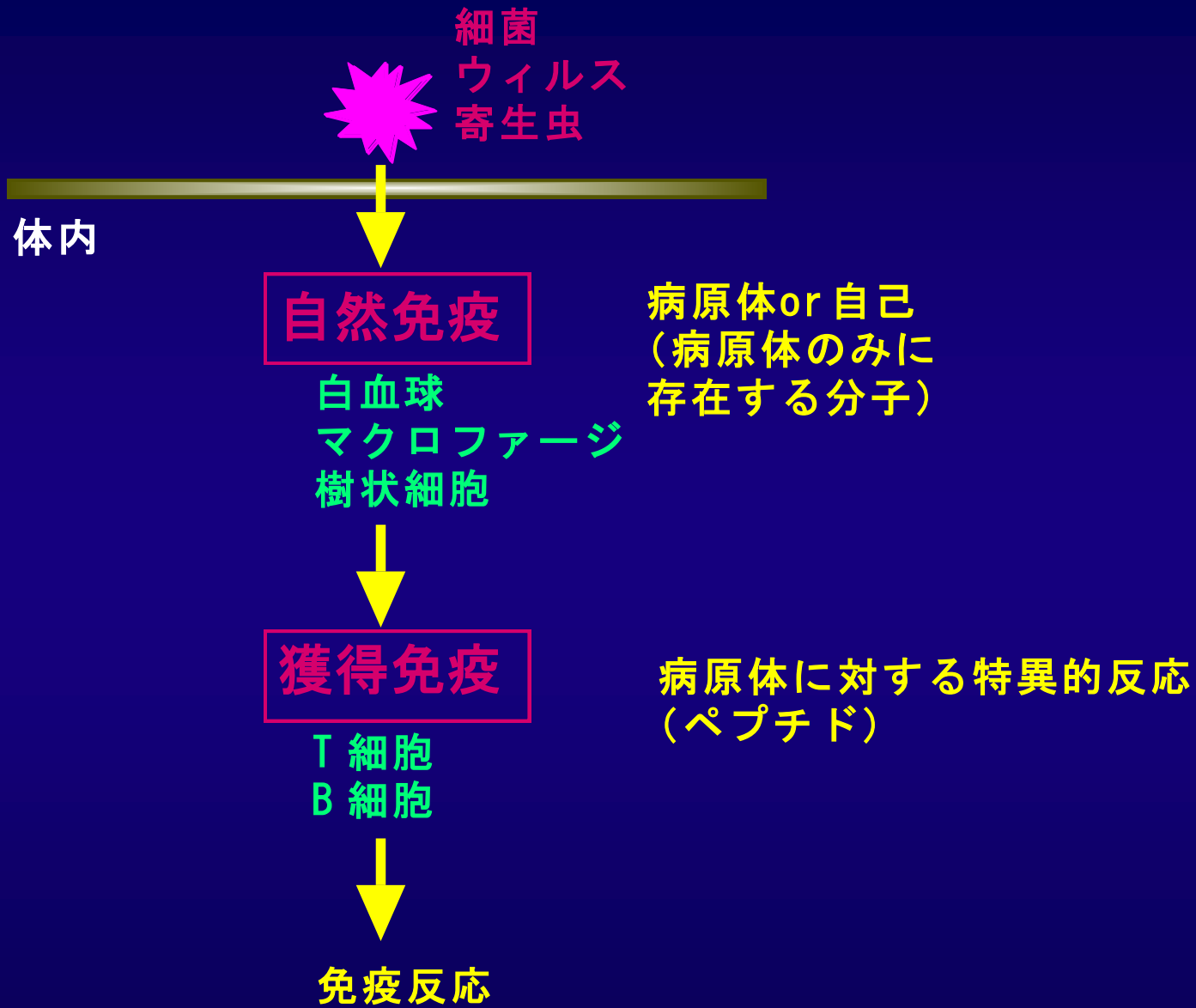
特異的受容体をもったT細胞の活性化



病原体関連分子パターン

(LPS, CpG DNA, リポタンパク質など)





癌ワクチン

William B. Coley, MD (New York, Sloan Kettering Cancer Center, from 1893 until 1936)

Coley療法 (C o l e y toxins)

過去100例の肉腫患者を調べ、肉腫の手術の後、細菌感染を併発したものは予後が良好であることを発見。streptococcusやserratiaの生菌や死菌を投与して癌免疫療法を開始。

BCG(bacillus Calmette-Guerin) : 初期の膀胱癌治療
BCG-CWS, ピシバニール, 丸山ワクチンなど

非特異的癌免疫療法

ウィリアム・コーリー (William Coley) (1862-1936)

ガン免疫療法の祖



最初に投与されたのは巨大な腹部腫瘍の16歳の少年であった。コーリーは数日おきに腫瘍に直接ワクチンを投与した。投与後、強い発熱と悪寒が襲ったが、腫瘍は徐々に縮小した。治療開始4ヶ月後、腫瘍は当初の1/5に縮小した。この患者は治療26年後、心臓発作により死亡した。

樹状細胞

ナイーブCD4+
ヘルパーT細胞

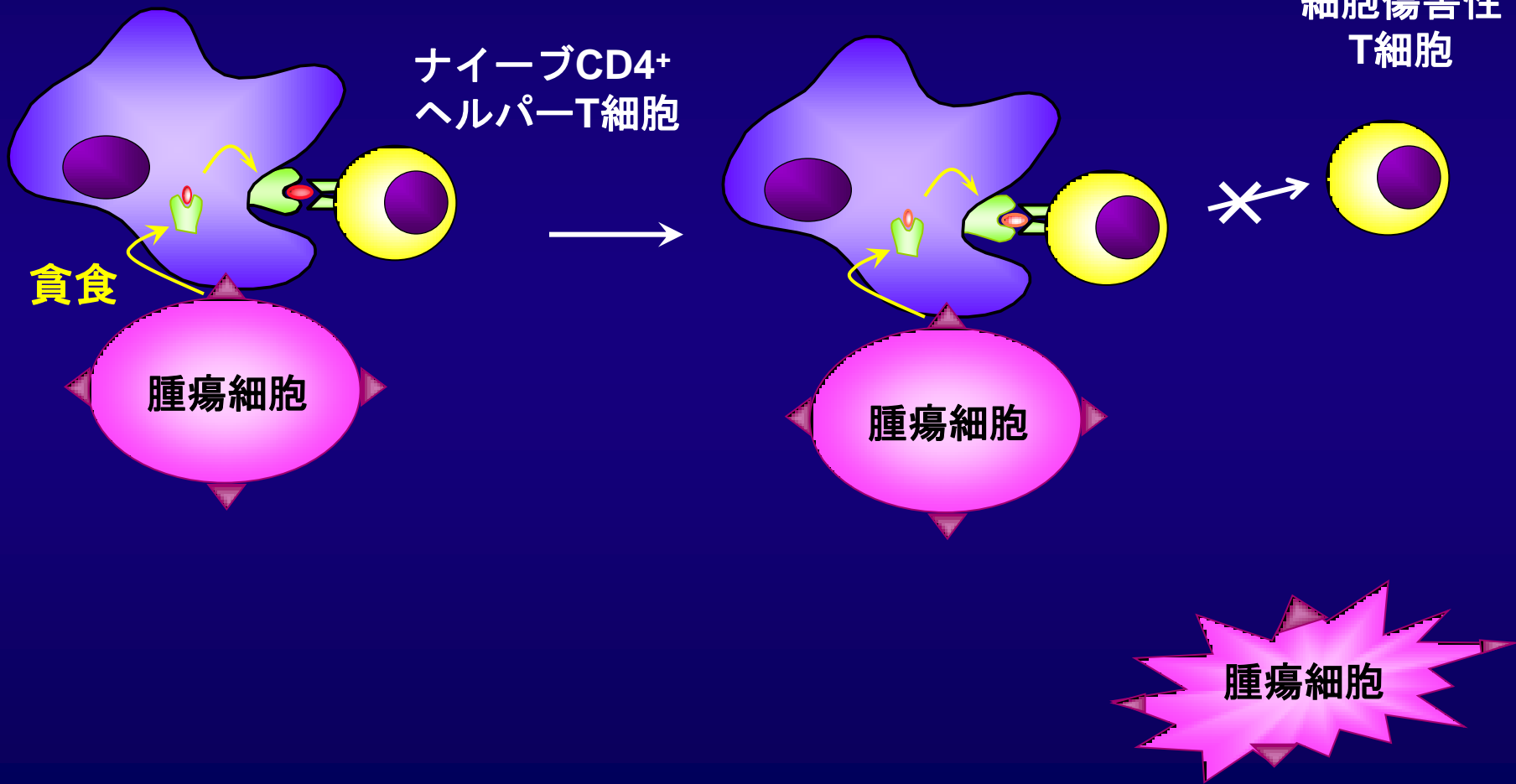
細胞傷害性
T細胞

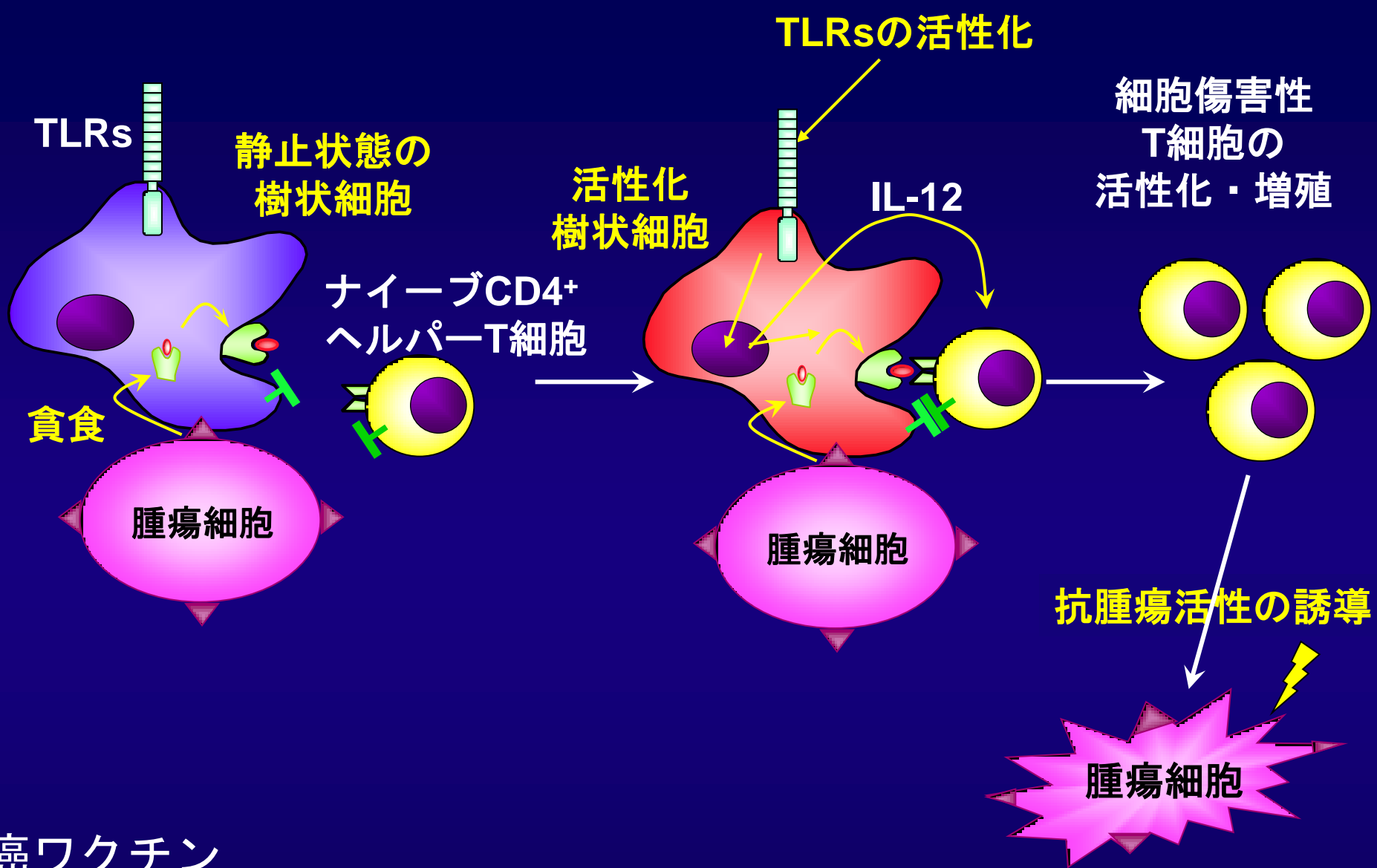
貪食

腫瘍細胞

腫瘍細胞

腫瘍細胞





癌ワクチン

1. 非特異的癌免疫療法
2. 癌抗原特異的免疫療法

不活性化病原微生物や部分精製物質
癌特異ペプチド抗原

自然免疫

Innate immunity

獲得免疫

Adaptive immunity

担当細胞

マクロファージ
樹状細胞

T、B細胞
(リンパ球)

受容体

再構成を行わない
(Toll-like receptors)

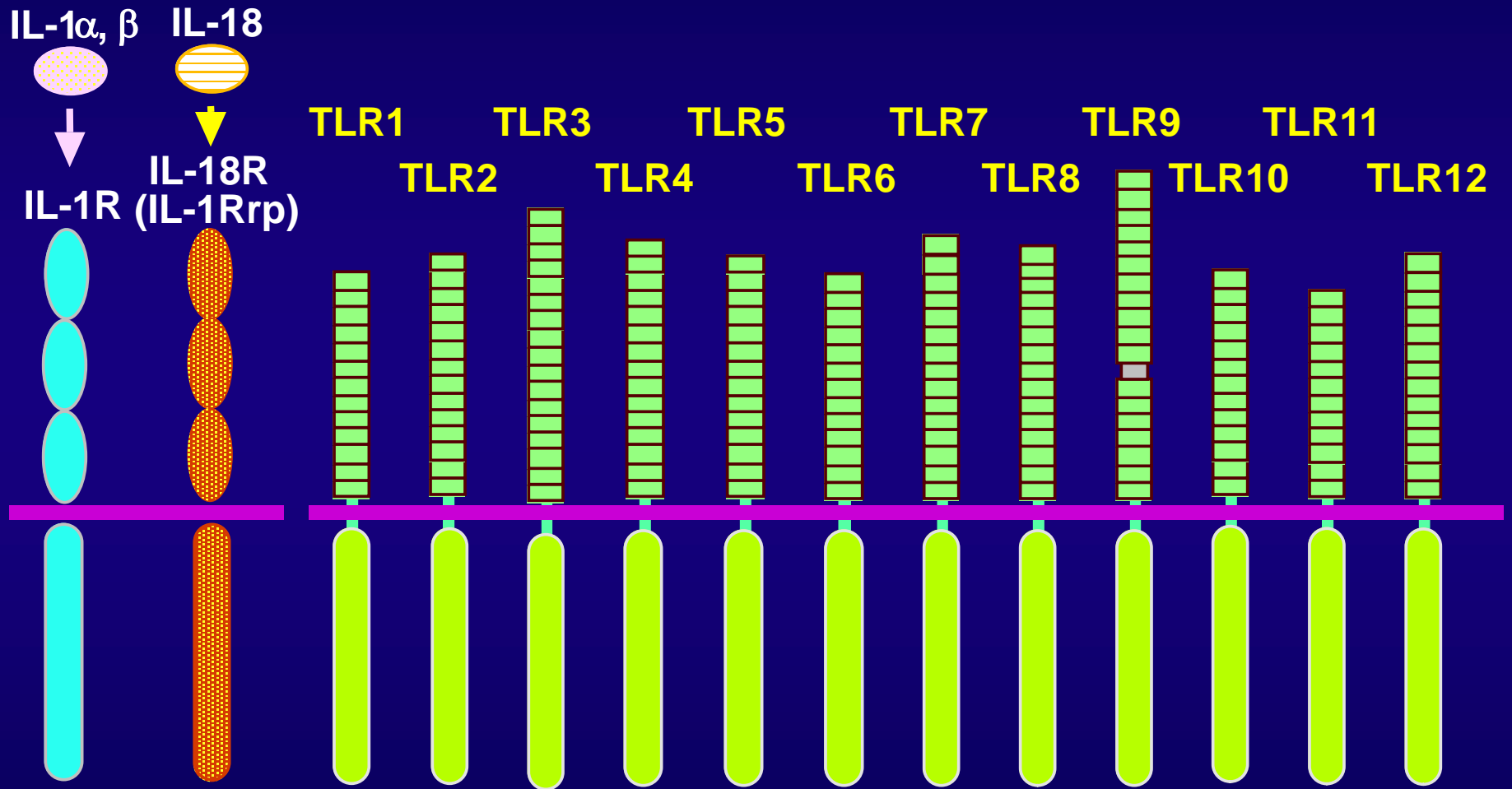
再構成を行う

認識機構

微生物間で保存された
共通の分子パターン
(LPS、リポプロテイン、
ペプチドグリカンなど)

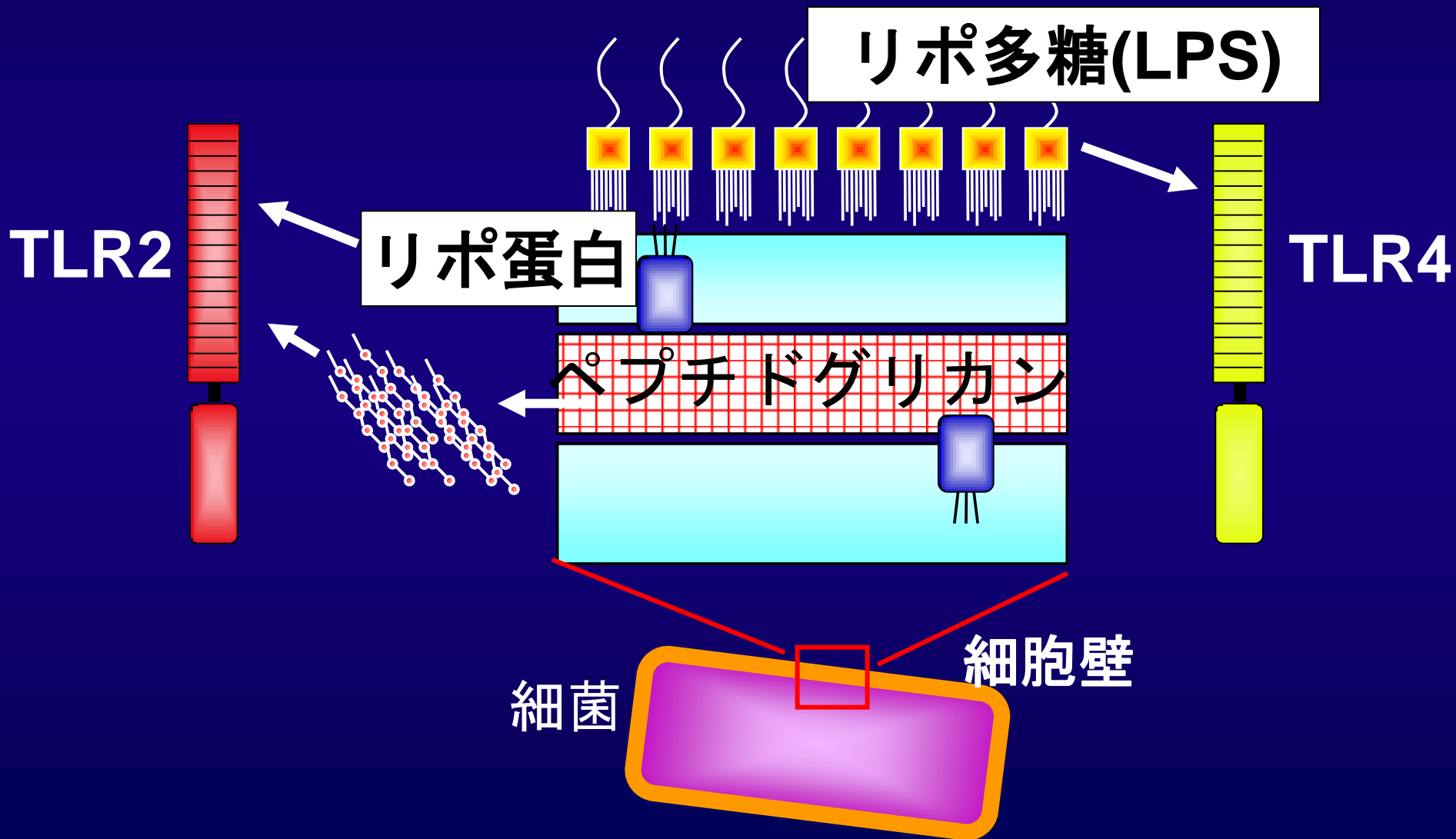
詳細な分子構造
(タンパク質、
ペプチドなど)

IL-1R / TLR family



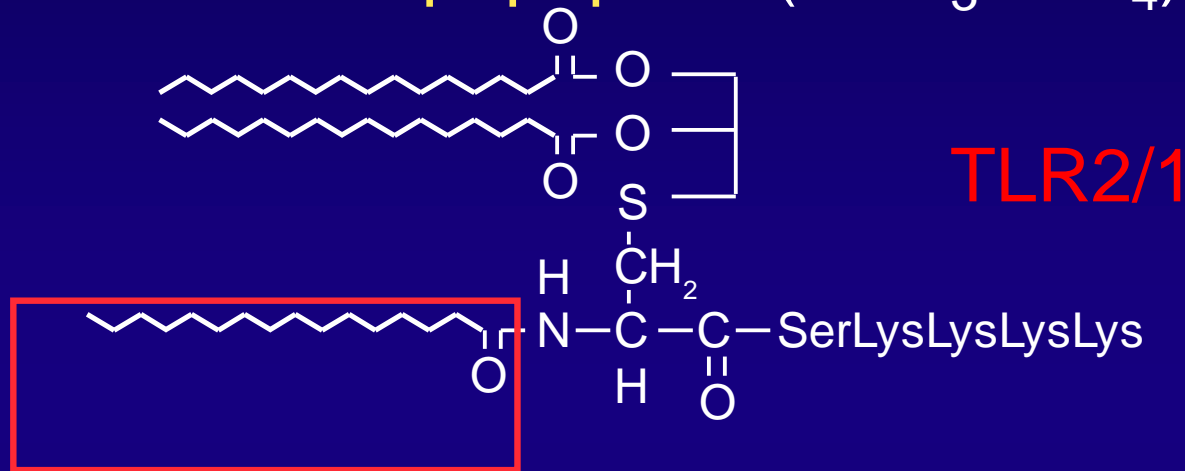
TLR2、TLR4は細菌表層を認識する

細菌表層構造



Structure of lipopeptides derived from pathogens

Bacterial lipopeptide (Pam₃CSK₄)

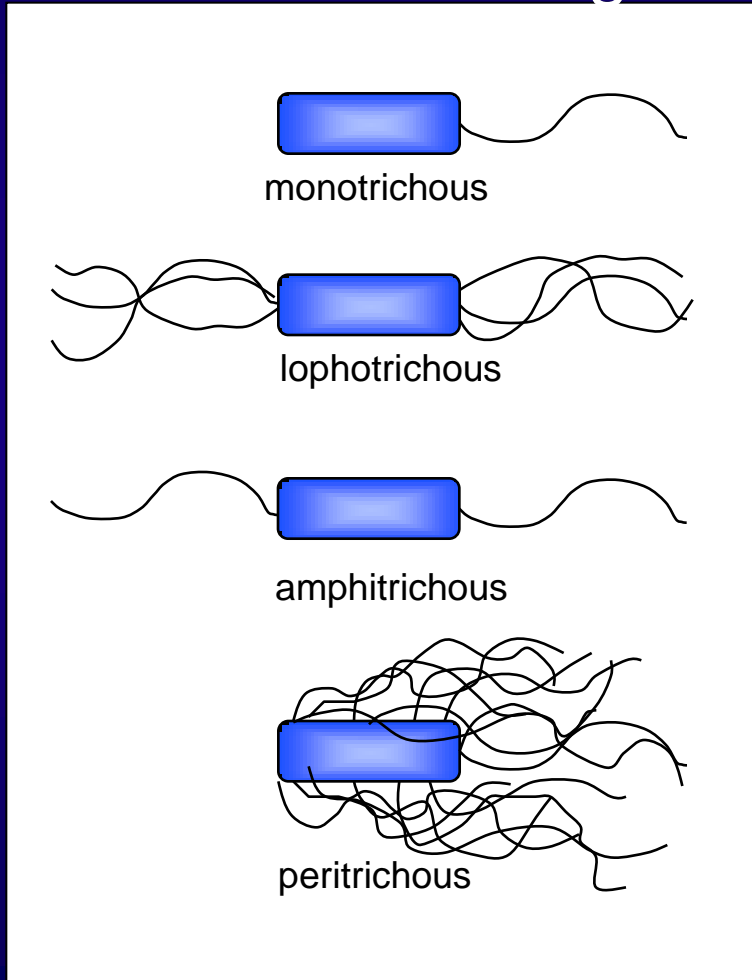


Mycoplasmal lipopeptide (MALP-2)

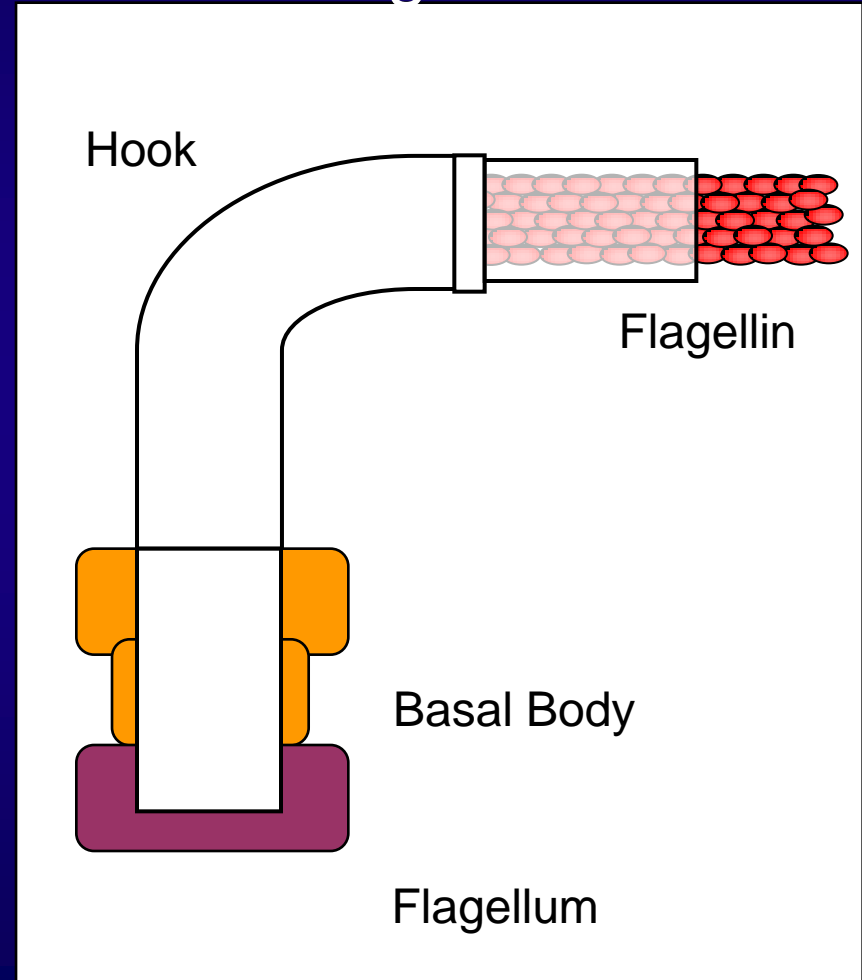


TLR5は鞭毛構成成分flagellinを認識する

Bacteria with Flagella



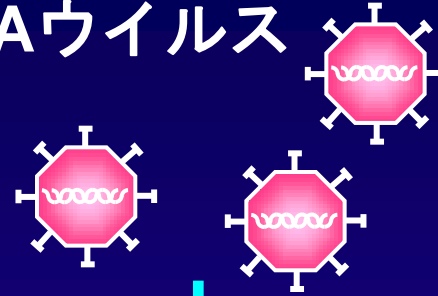
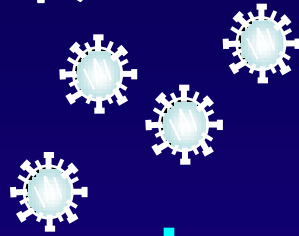
Flagellin



TLR7, TLR9によるウイルス核酸の認識

RNAウイルス

DNAウイルス



細胞膜

取り込み

TTTTTTTT
ウイルス由来 ↓

CpG
ウイルス由来 ↓

一本鎖RNA

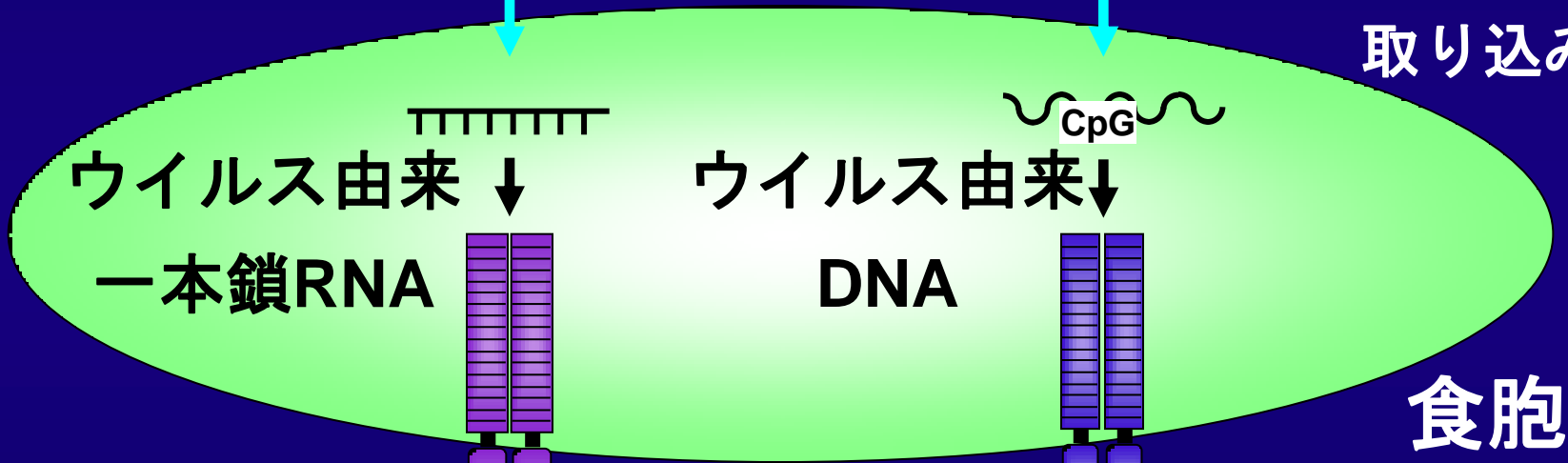
DNA

食胞

TLR7

TLR9

インターフェロン
サイトカイン



イミダゾキノリン (The imidazoquinolines)

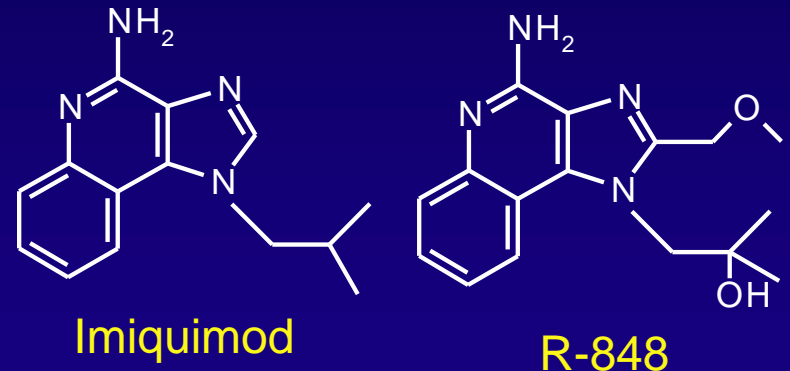
イミダゾキノリンは、様々な細胞からIFN- α など各種サイトカインの産生を誘導する化学合成物質であり、生体への投与により抗ウイルス反応・抗腫瘍反応を誘導する

イミダゾキノリンとして、特にイミキモド (imiquimod) やその誘導體であるR-848 (resiquimod) が知られている

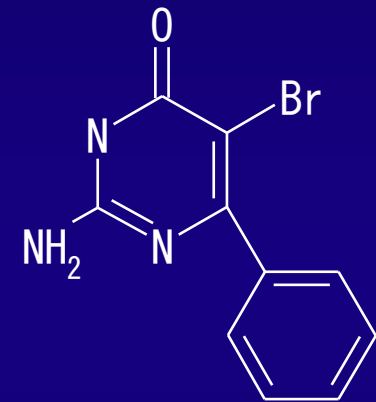
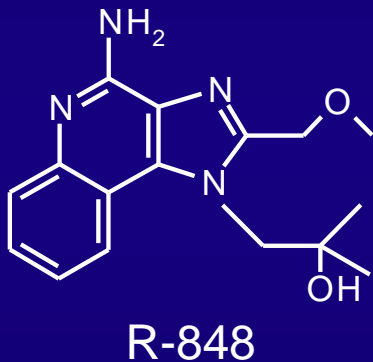
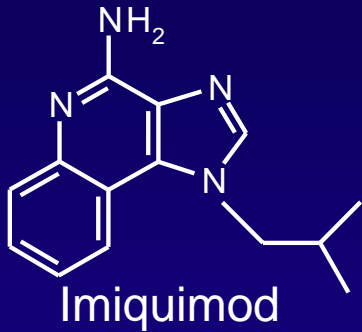
イミキモドは、免疫反応調整剤Aldalaとして世界42カ国で、ヒトパピローマウイルスの感染により発症する尖圭コンジロームの治療薬として臨床応用されている

R-848は、イミキモドの約100倍の活性を示し、現在、性器ヘルペスへの第Ⅲ相試験が行われている

これら免疫反応調整剤は、ヒトの免疫システムに刺激を与えそれを活性化させることによりウイルス感染と戦う新しい治療法として注目されている



TLR7 ligands



Imidazoquinolines

IFN production
Anti-viral immunity

Imiquimod is clinically
used against genital warts.

Loxoribine

IFN production
Th1 response
NK activity

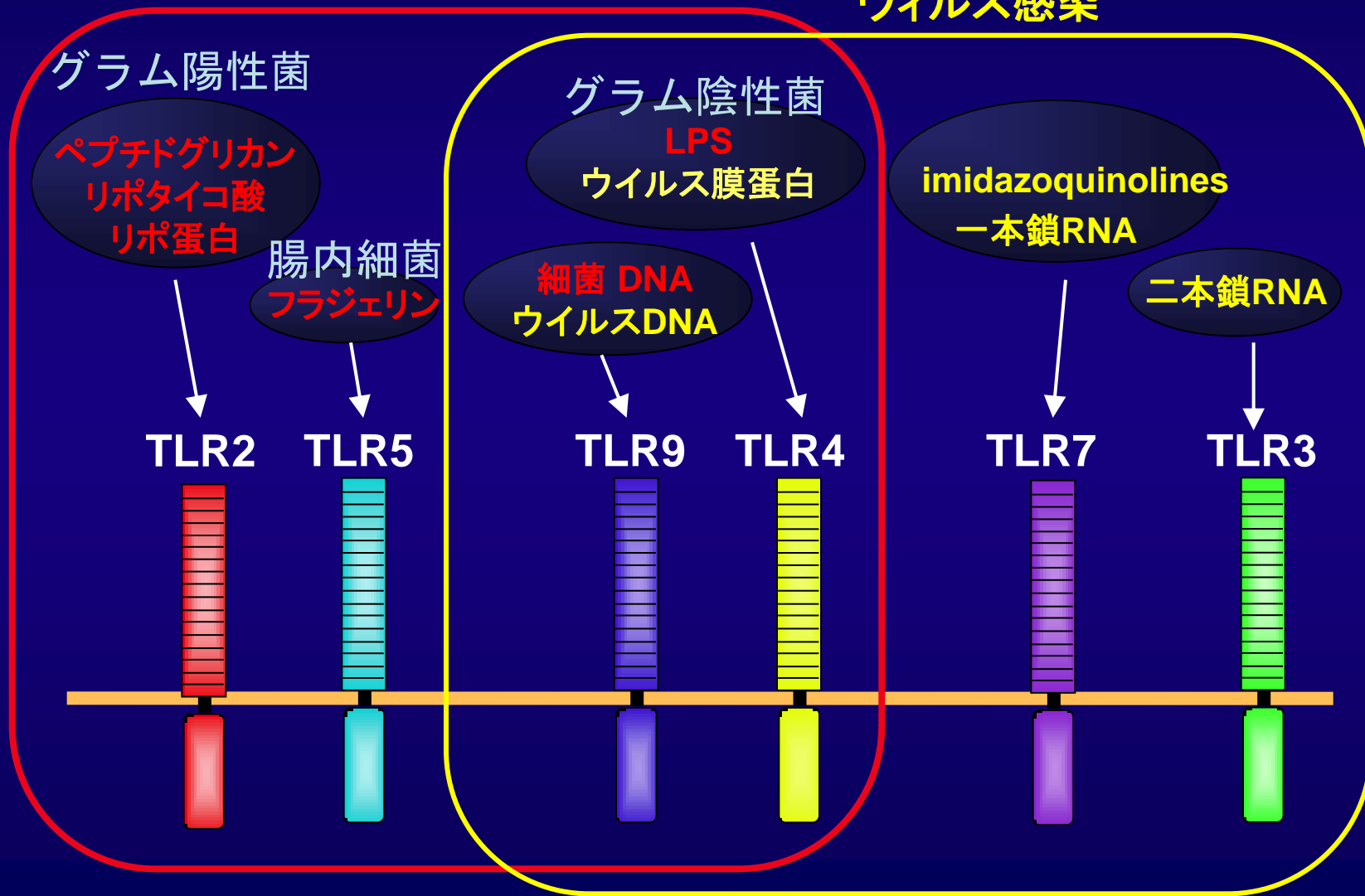
Bropirimine

IFN production
phase 3 trial
(against bladder cancer)

TLRファミリーによる病原体(細菌、ウイルス)の認識

細菌感染

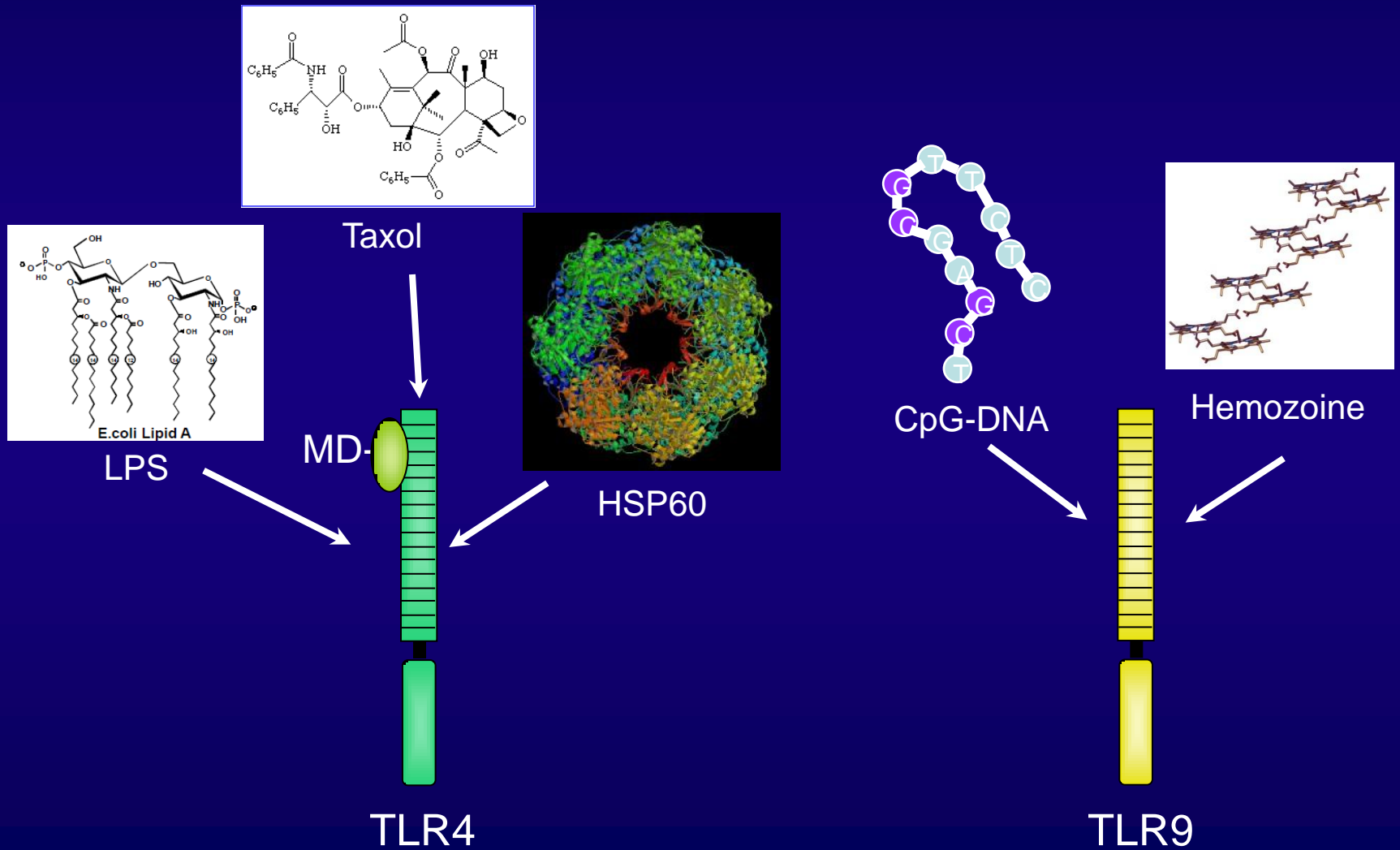
ウイルス感染



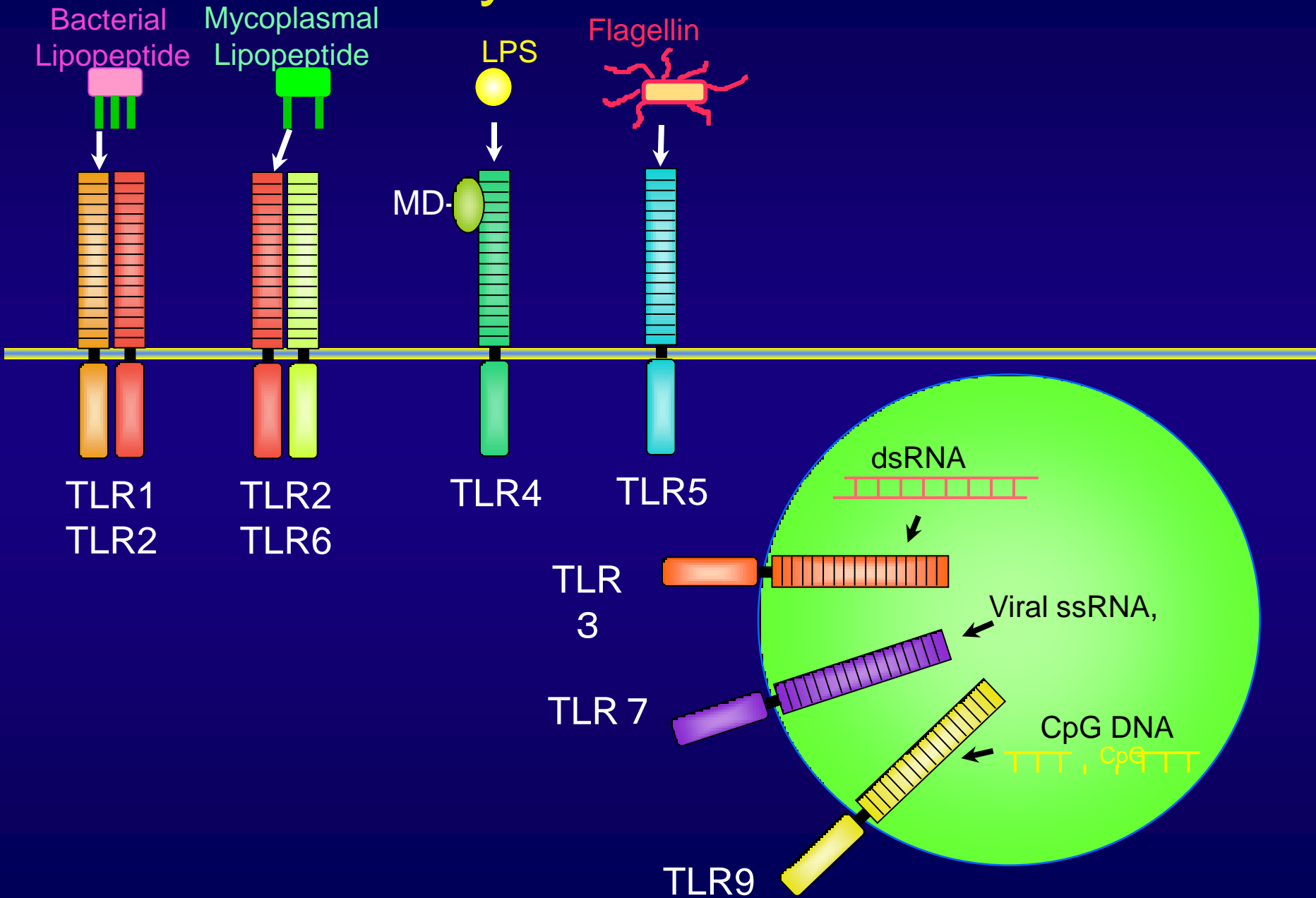
病原体のTLRsによる認識からのエスケープ

- ある種のアデノウイルスはゲノム上のCpG配列を減らしている—TLR9による認識からエスケープ
- ある種の病原体（ウイルス、細菌、原虫など）はTLRシグナル伝達をブロックする蛋白質を産生する。
- *Porphyromonas gingivalis*（歯周菌）や*Leptospira*のLPSは構造を変え、TLR4に対する応答性が低い
- *Helicobacter pylori*のFlagellinはTLR5によって認識されない。

One TLR recognizes structurally different ligands

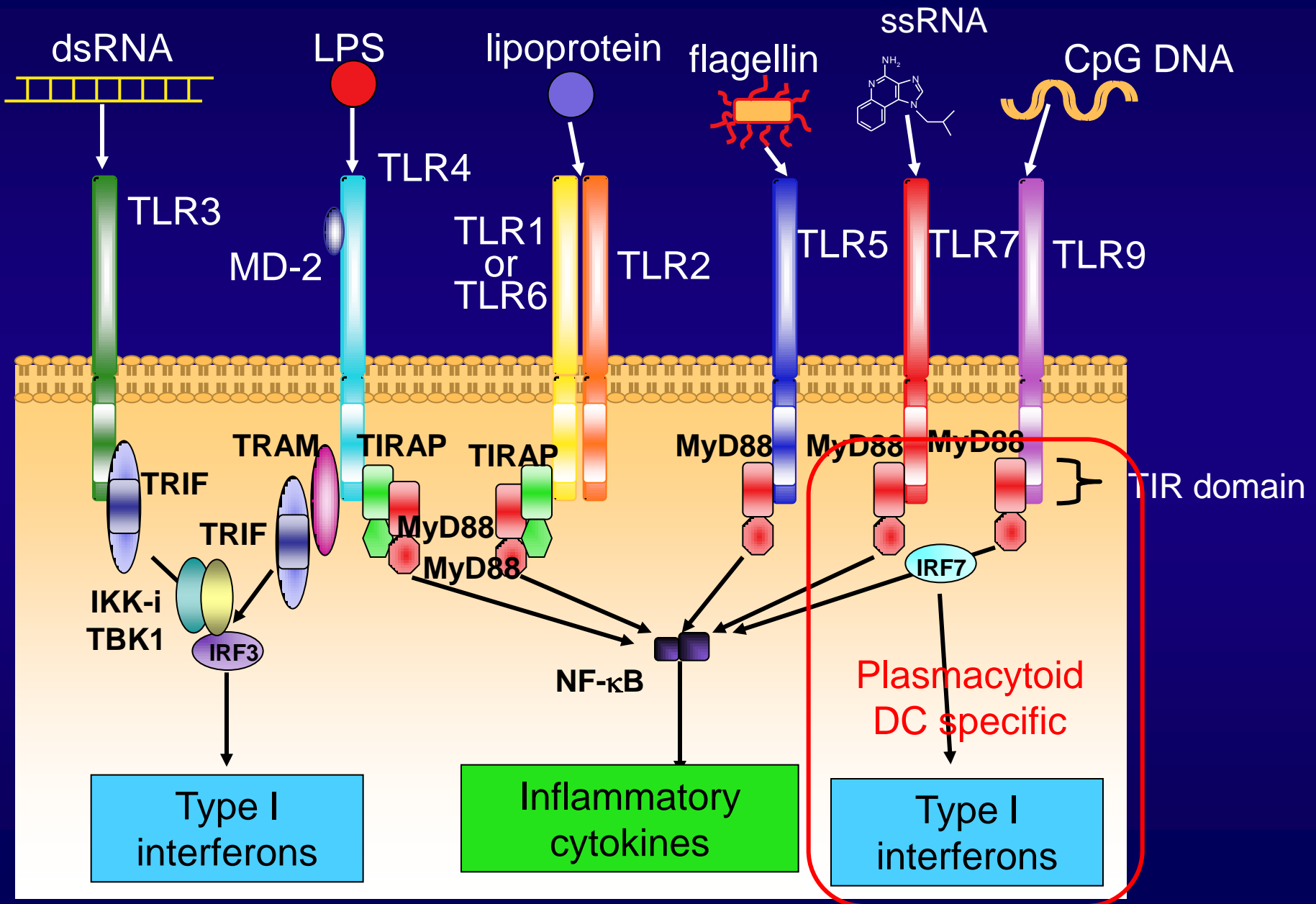


TLR family memberの細胞内局在



Toll-like receptors: ligands and signaling pathways

Imidazoquinolines (anti-viral compounds)



自然免疫と獲得免疫の橋渡しとしてのTLR

病原体に特徴的な構造（細胞壁構成成分、鞭毛など）

↓
Toll-like receptors（病原体センサー）

自然免疫応答（炎症反応）

↓
自然免疫担当細胞

→ サイトカイン・ケモカイン → 局所炎症反応
（白血球遊走など）
→ 抗菌ペプチド → 抗細菌作用
→ インターフェロン → 抗ウイルス反応

↓
獲得免疫の活性化（樹状細胞による抗原提示）

↓
獲得免疫：病原体特異的蛋白（抗原）に対する受容体（T細胞受容体）
・抗体による病原体への特異的攻撃

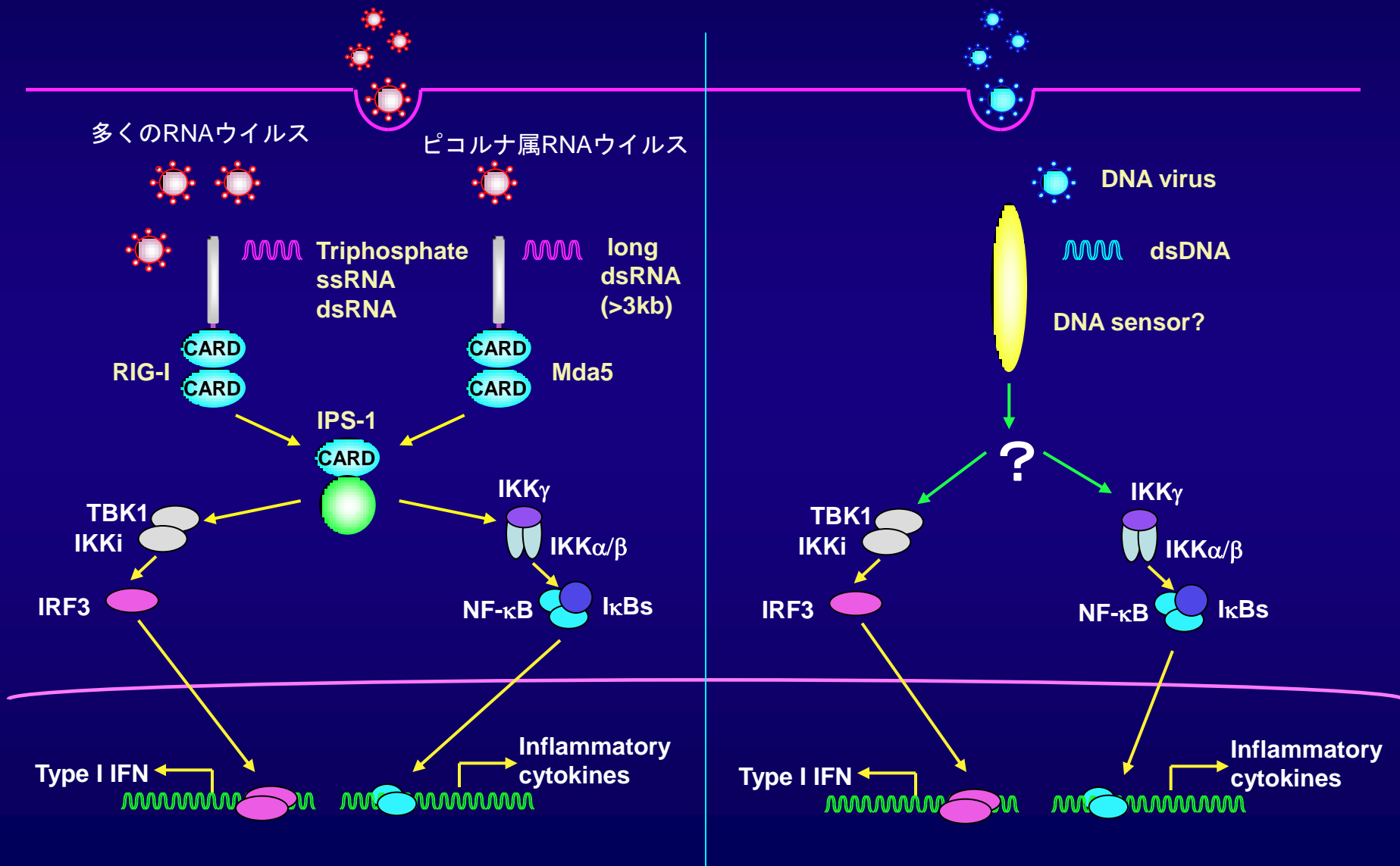
細胞質内病原体認識受容体

細胞質内二本鎖RNAセンサー

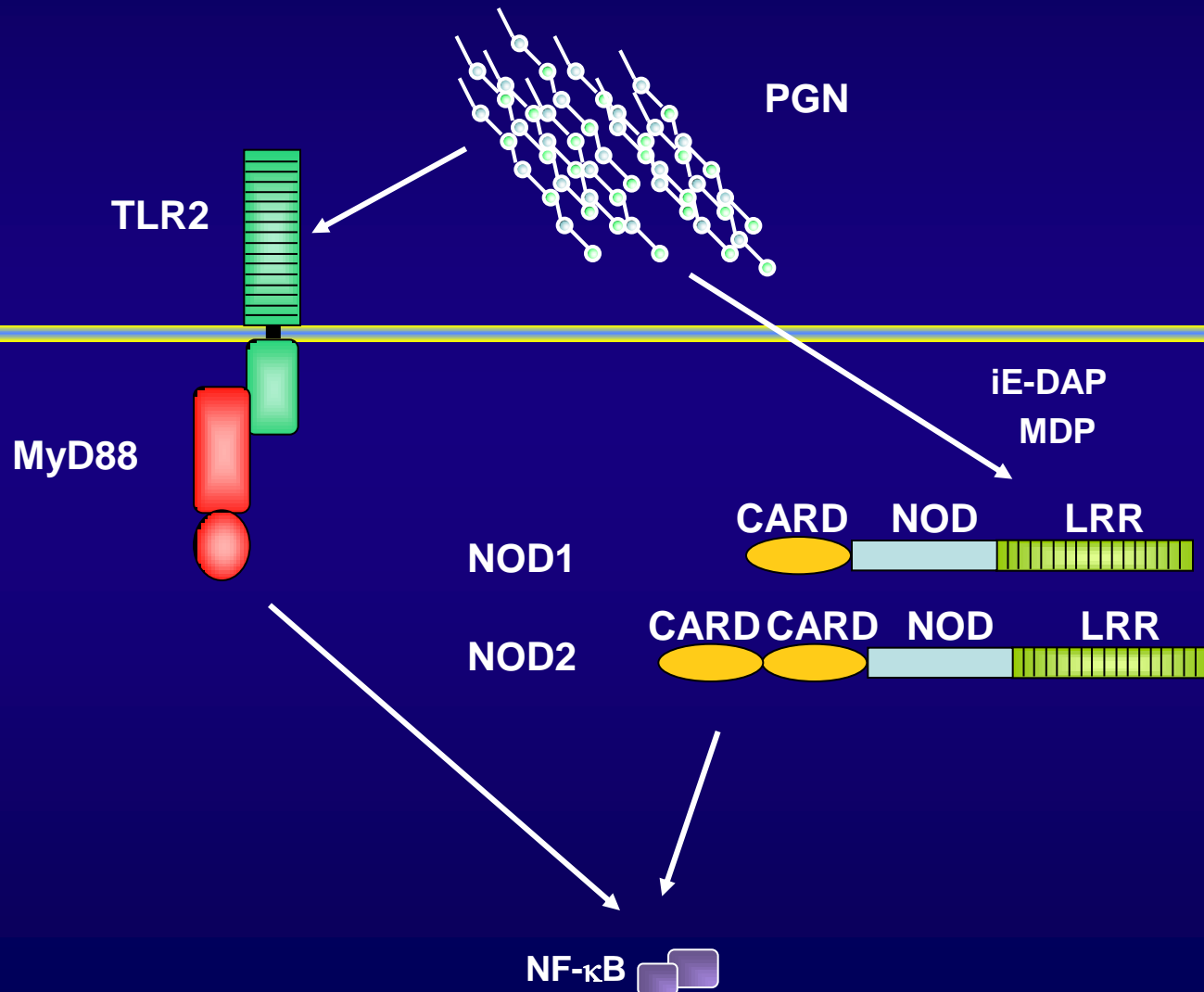
二本鎖RNA



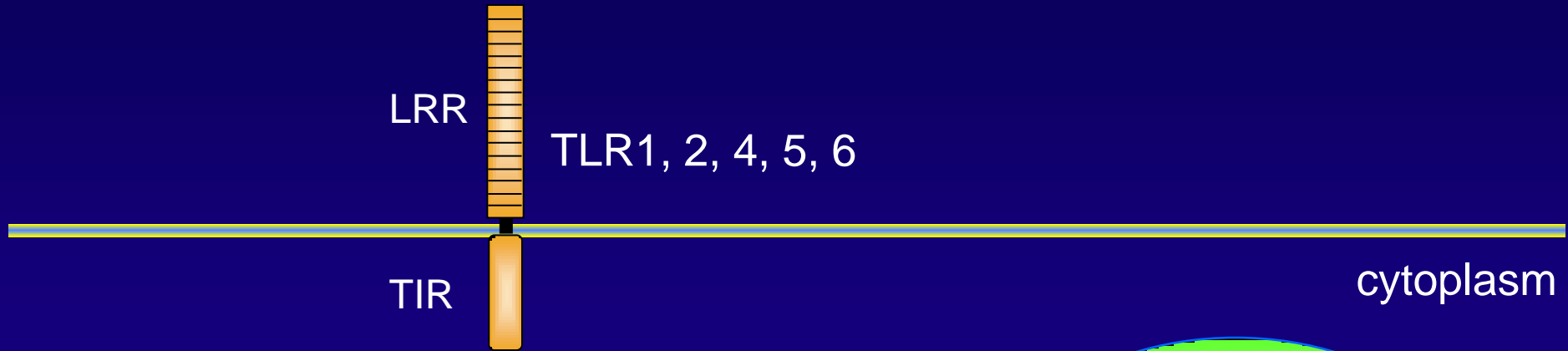
Viral Recognition in the cytoplasm



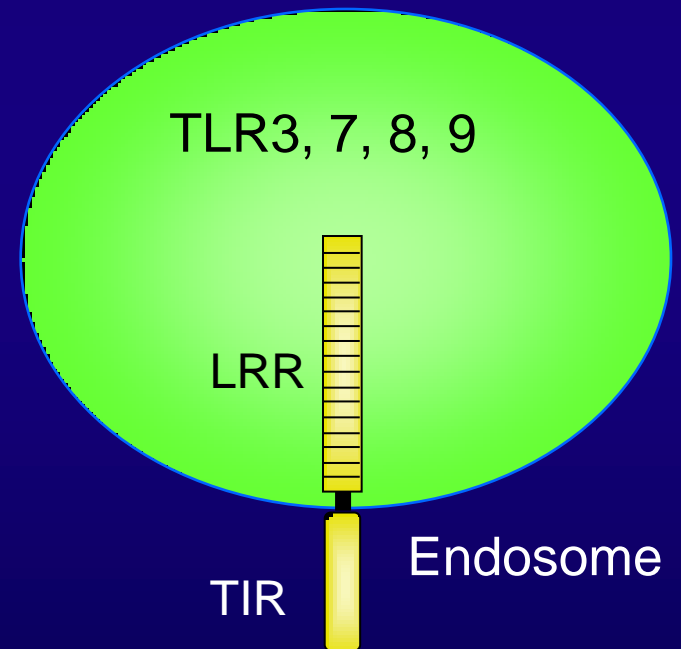
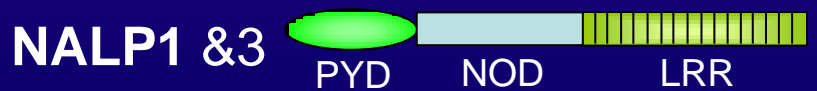
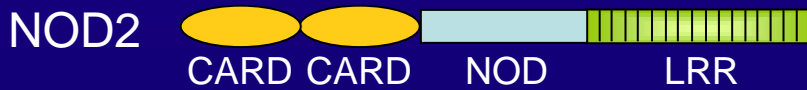
TLR-dependent and -independent recognition of bacterial components



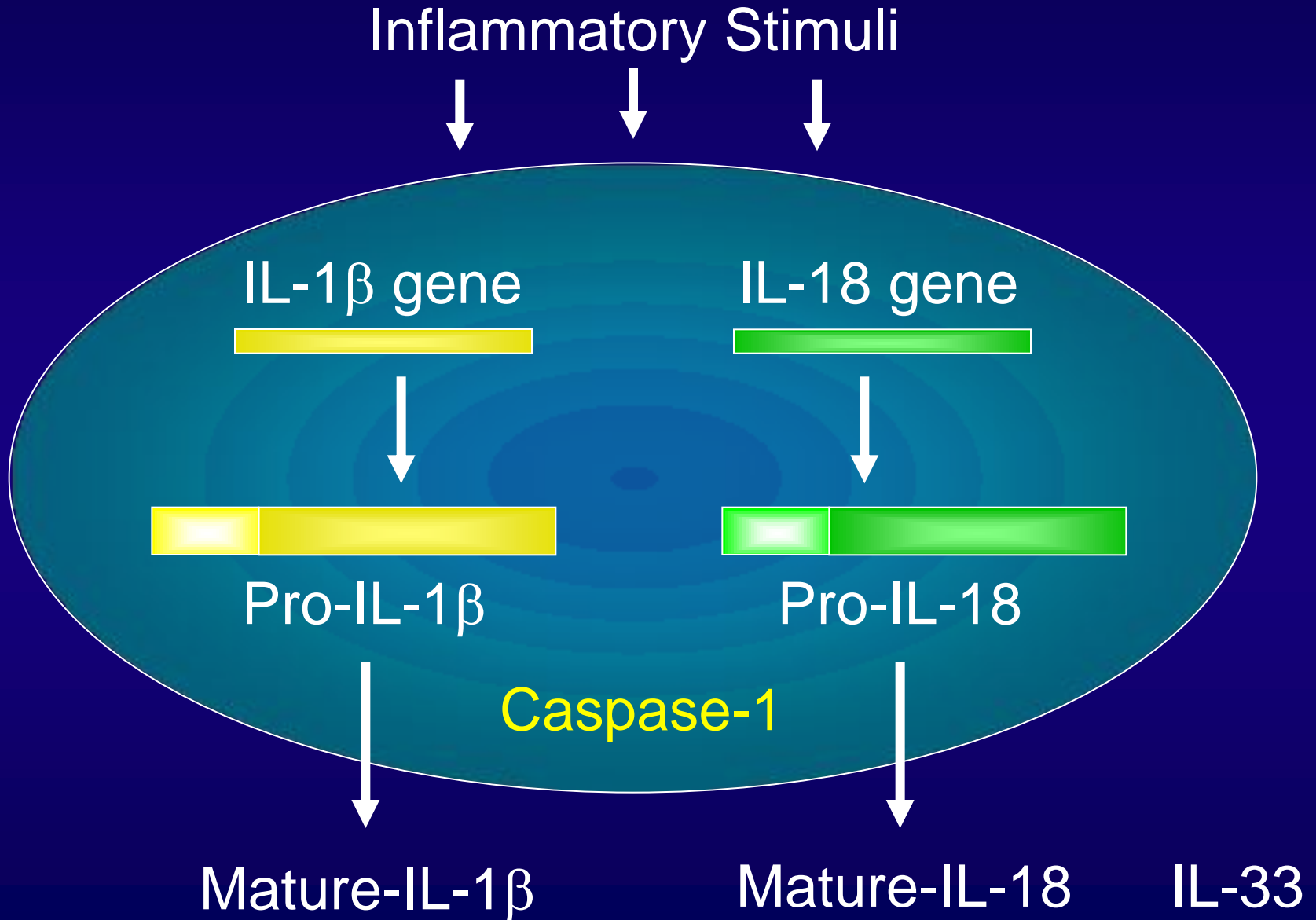
TLRs and NLRs



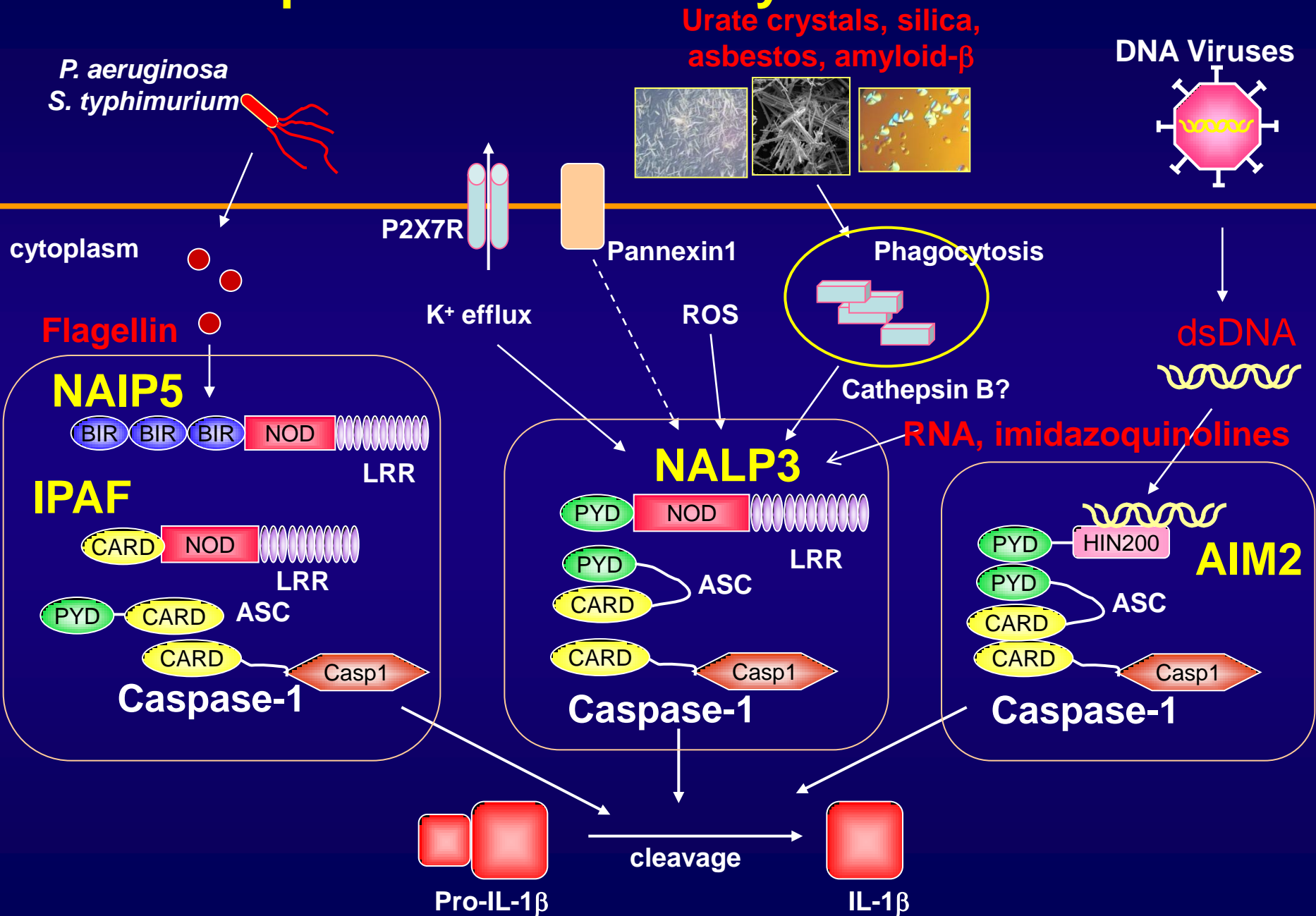
Cytoplasmic receptors



IL-1, IL-18 activation pathways



Caspase-1 activation by Inflammasomes



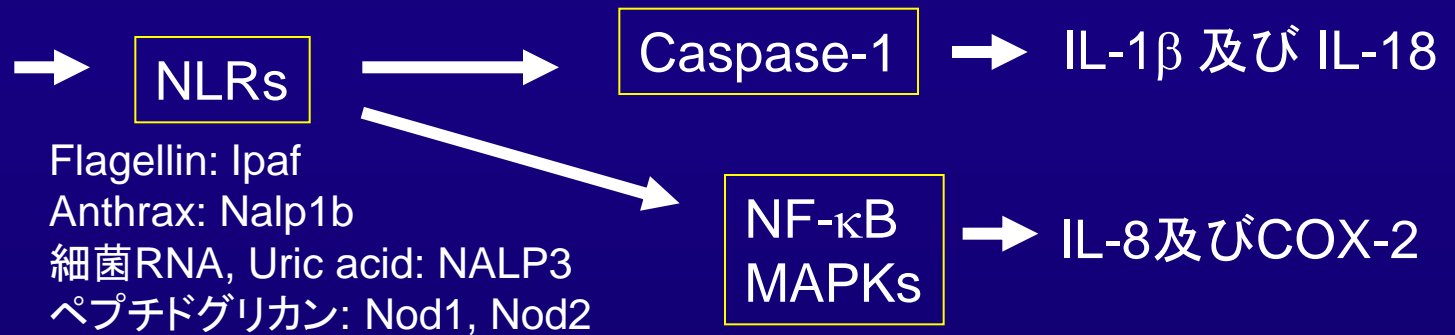
病原体センサー

センサー シグナル分子 反応

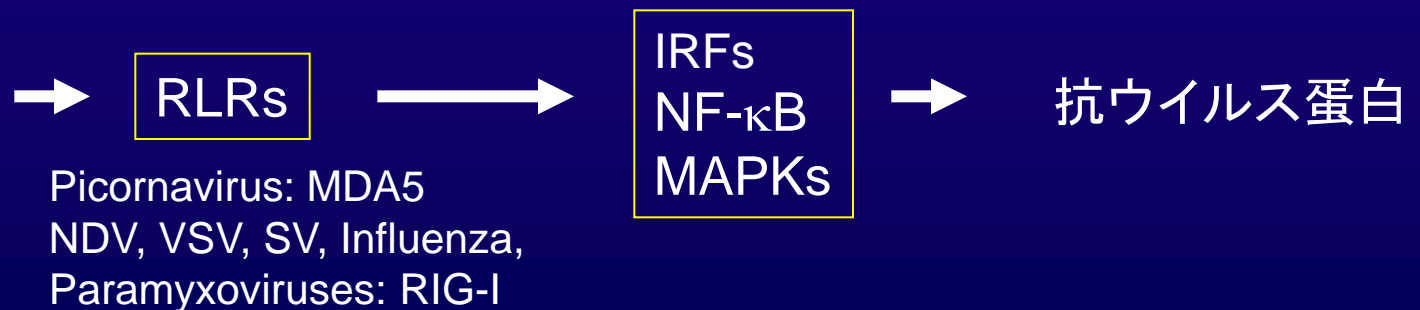
細菌
ウイルス
真菌
原虫



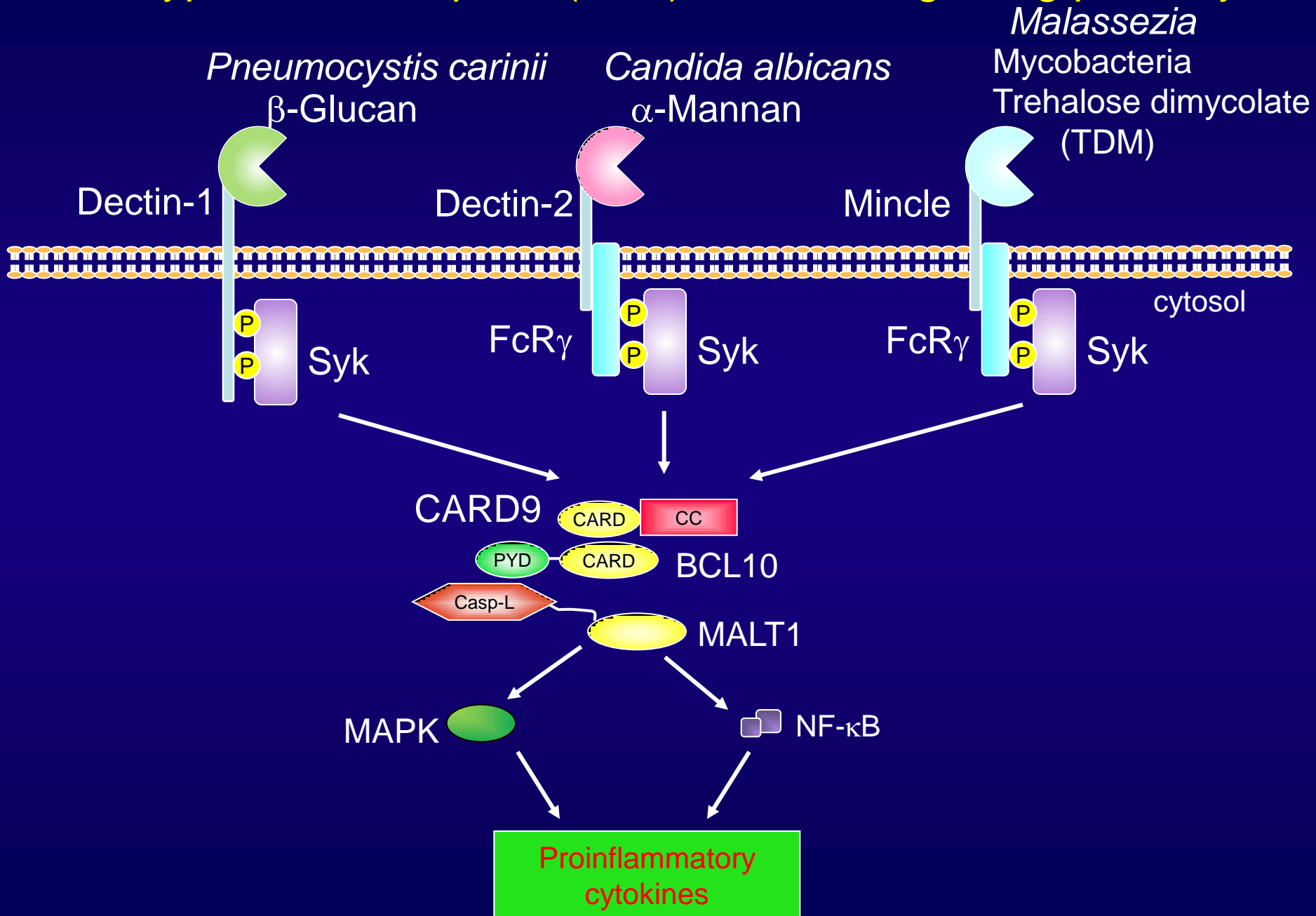
細菌



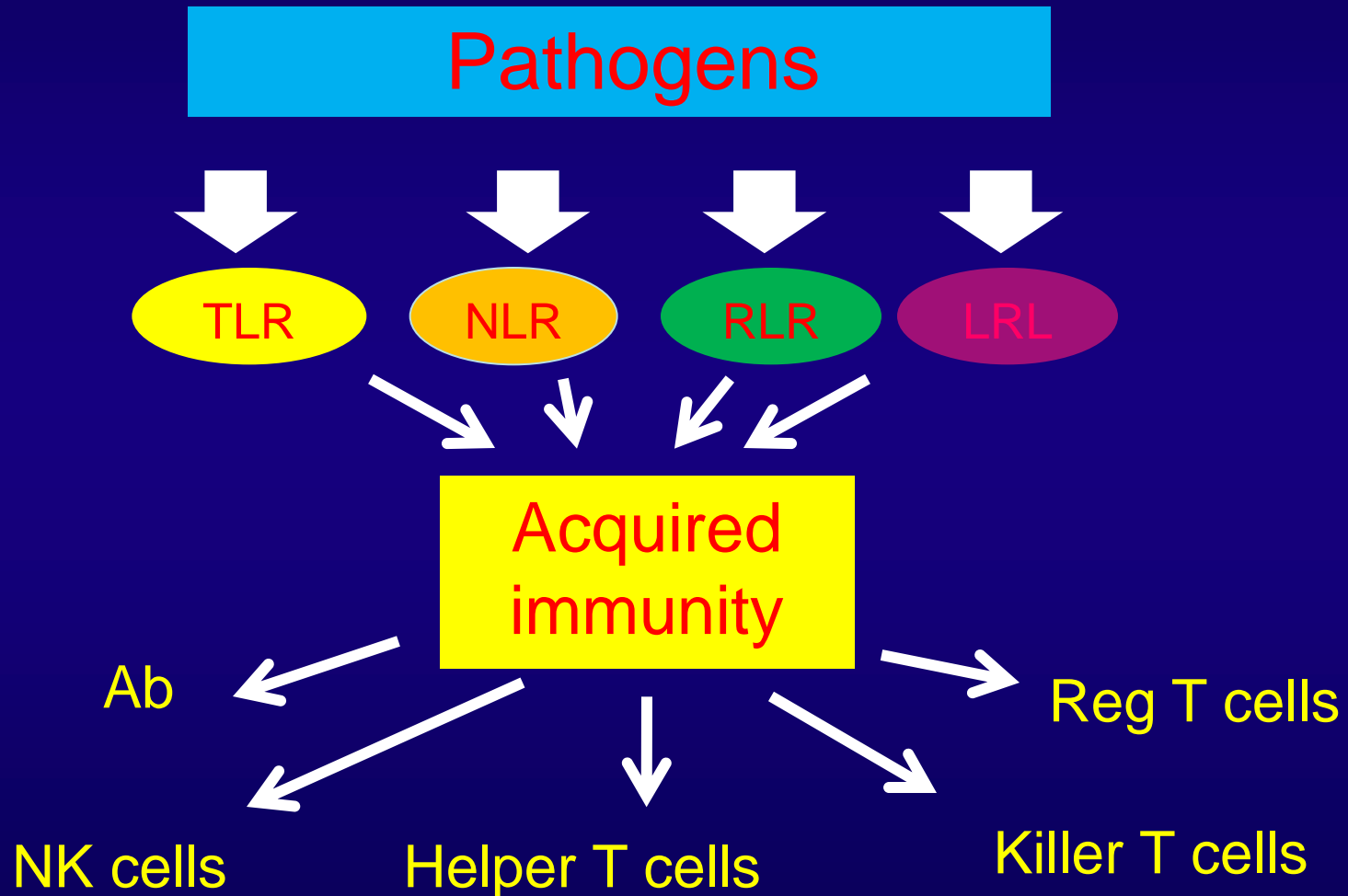
ウイルス



C-type lectin receptors (CLR) and their signaling pathway



Pathogen recognition to development of acquired immunity



自然免疫からみたワクチン開発

ワクチンアジュバントの作用

- 抗原を長時間局所に留まらせ、抗原刺激を持続させる。（例；水酸化アルミニウム）
- 抗原を細胞内に導入し、クロスプレゼンテーションを起こさせる。（例；リポソーム）
- 自然免疫細胞を活性化させ、共刺激因子やサイトカイン産生を促す。（例； CpG-DNAなどTLRリガンド）
- 獲得免疫細胞を活性化させ抗原特異的反応を助ける。（例； IL-12などのサイトカイン）

生ワクチンと不活化ワクチン

- 生ワクチンと不活化ワクチンのadjuvant作用は異なる。

不活化ワクチンは、死んだ病原体がファゴサイトーシスにより取り込まれ、ファゴゾーム内でTLRを活性化して樹状細胞を刺激するのに対して、生ワクチンは、それ以外に細胞質内の病原体認識受容体によって認識される。このことが、生ワクチンのほうがワクチン作用が強力であることを説明している。

生ワクチンとサブユニットワクチン

- 生ワクチンは、病原体由来の抗原以外に免疫刺激作用のある成分を含む。

免疫効果は高いが、危険性も高い。生ワクチンはウイルスを人工培養する必要がある。新興感染症にはワクチン開発に時間がかかる。

現在、subunit vaccineに移行しつつある。

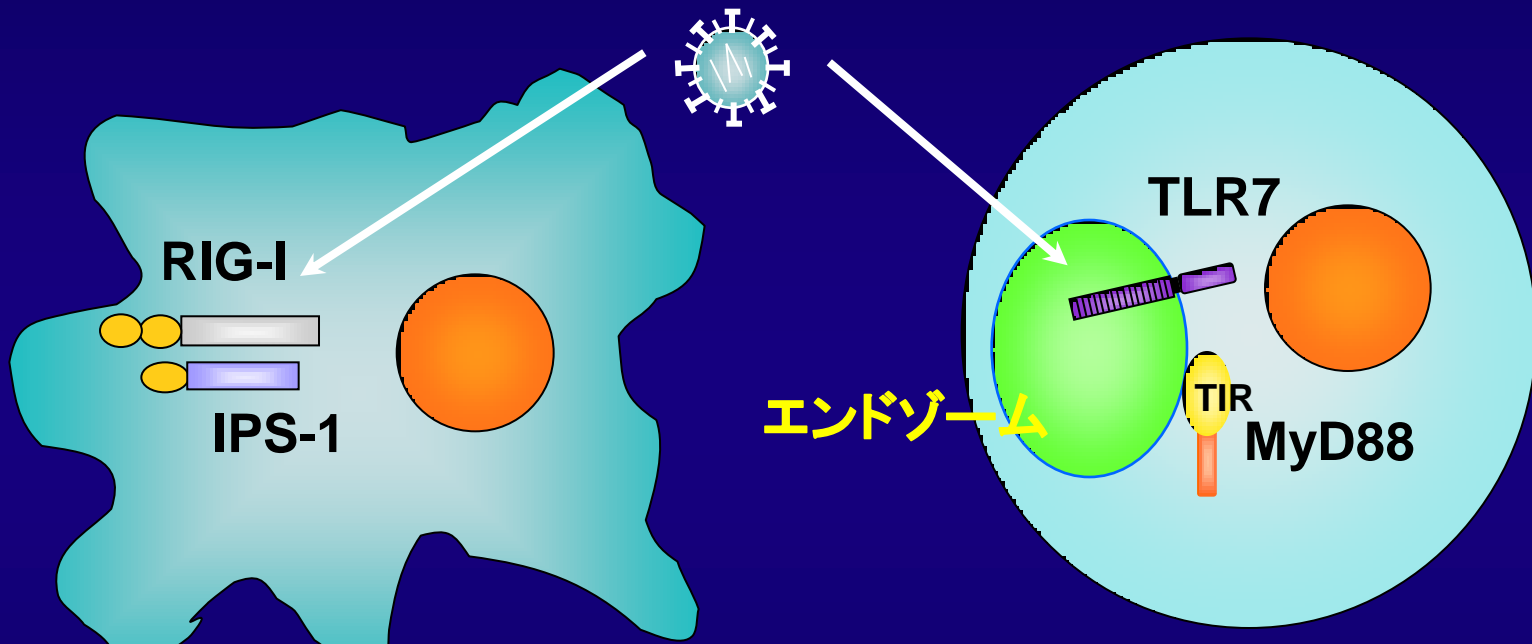
- サブユニットワクチンは抗原性のある部分の純度が高く、安全性も優れているが、免疫原性が弱く、免疫の効果が弱くなる傾向にある。



効果的なadjuvantの開発の必要性

インフルエンザウイルスの自然免疫認識機構は細胞によって異なる

Influenza virus



線維芽細胞、マクロファージ、上皮細胞、
Conventional DC(cDC)など多くの細胞
細胞に感染する必要あり

Plasmacytoid 樹状細胞 (pDC)
感染の必要がない

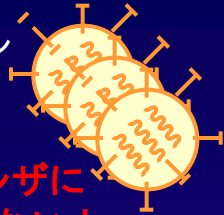
Type I interferons

インフルエンザウイルス

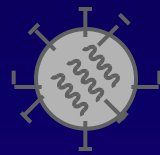
不活化全粒子ワクチン

スプリットHAワクチン (現在日本で使用されているワクチン)

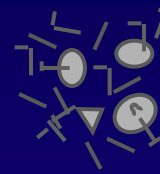
インフルエンザワクチンの種類



化学的な不活化



ウイルス表面抗原 (HA抗原) の精製



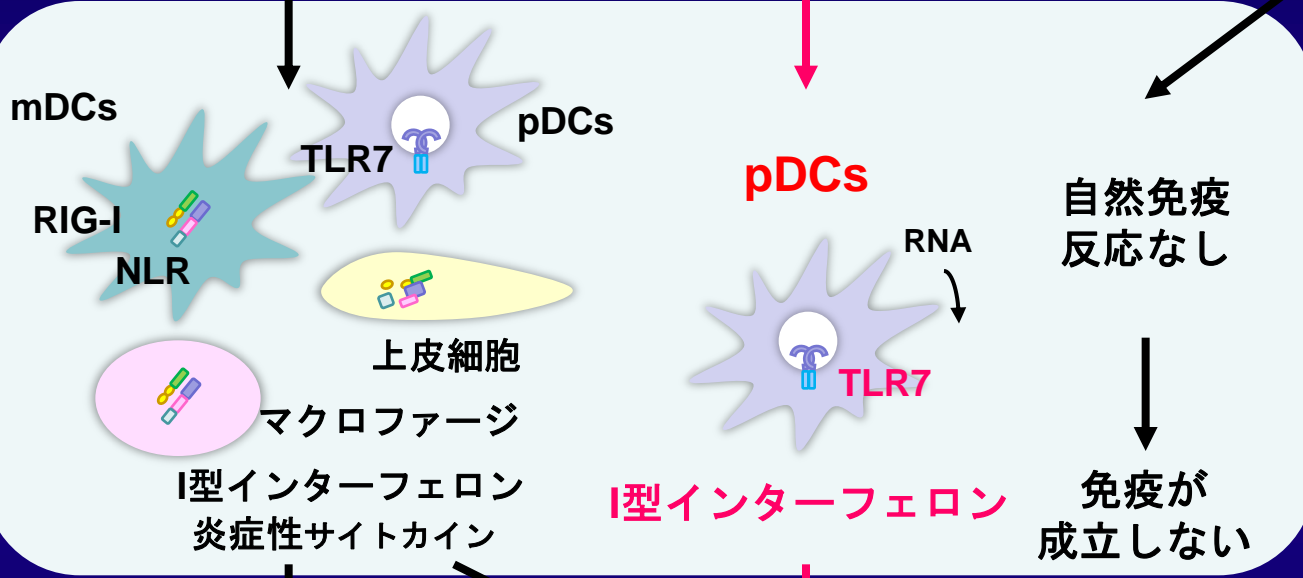
インフルエンザに罹ったことがない人

感染性をなくした

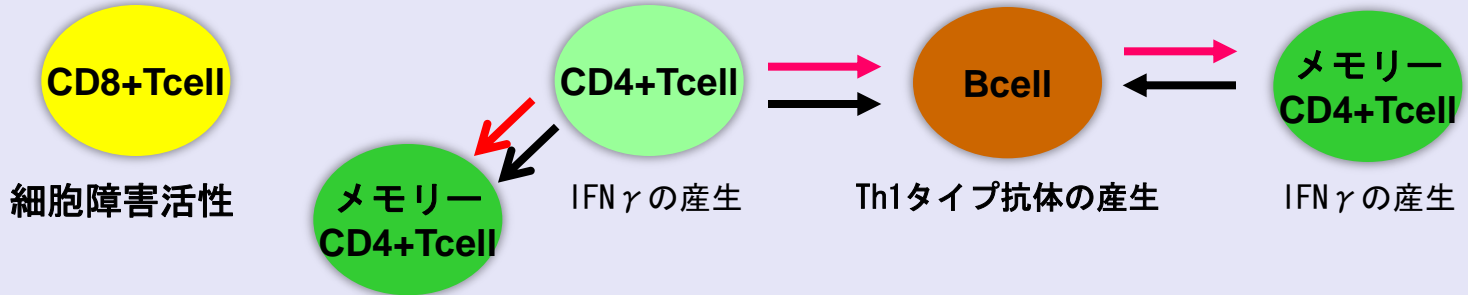
ウイルスRNAを除去した

インフルエンザに暴露されたことがある人

自然免疫反応



獲得免疫反応



自然免疫反応は必ずしも必要ではない

アジュバント：水酸化アルミゲル

臨床で最も良く用いられるアジュバント
70年以上前から使用され、米国では最近まで唯一の承認されたアジュバントであった。

局所に抗原を留め、DCとの接触間を長くする。NLRP3を含むInflammasome形成を介して、caspase 1を活性化し、IL-1, IL-18を産生させる。しかしながら、この経路は、獲得免疫誘導にはかかわらないと思われる。作用機序の詳細は不明。

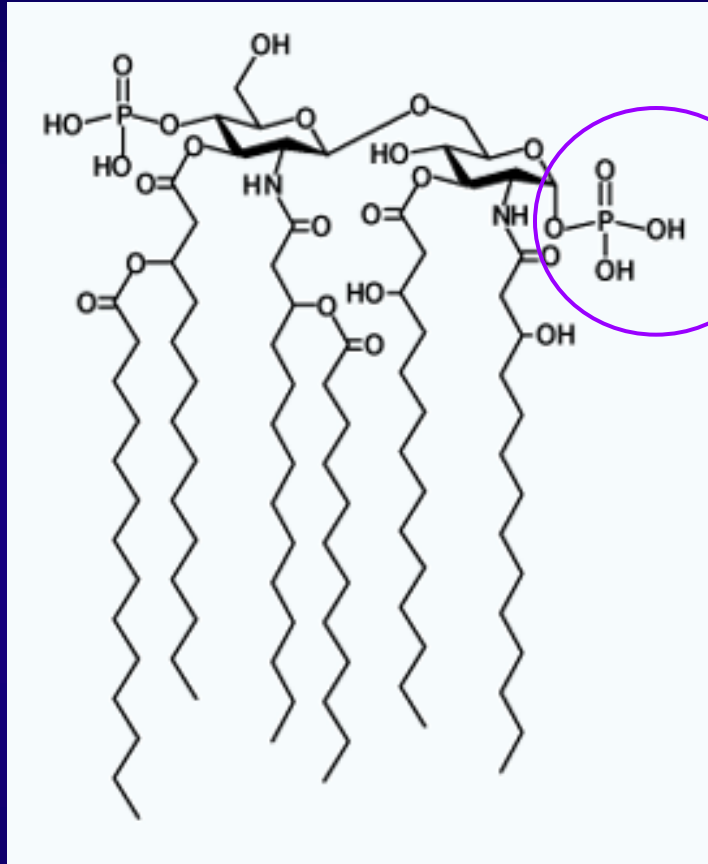
液性免疫（Th2反応）を誘導する傾向がある。

アラムと他のアジュバントの併用

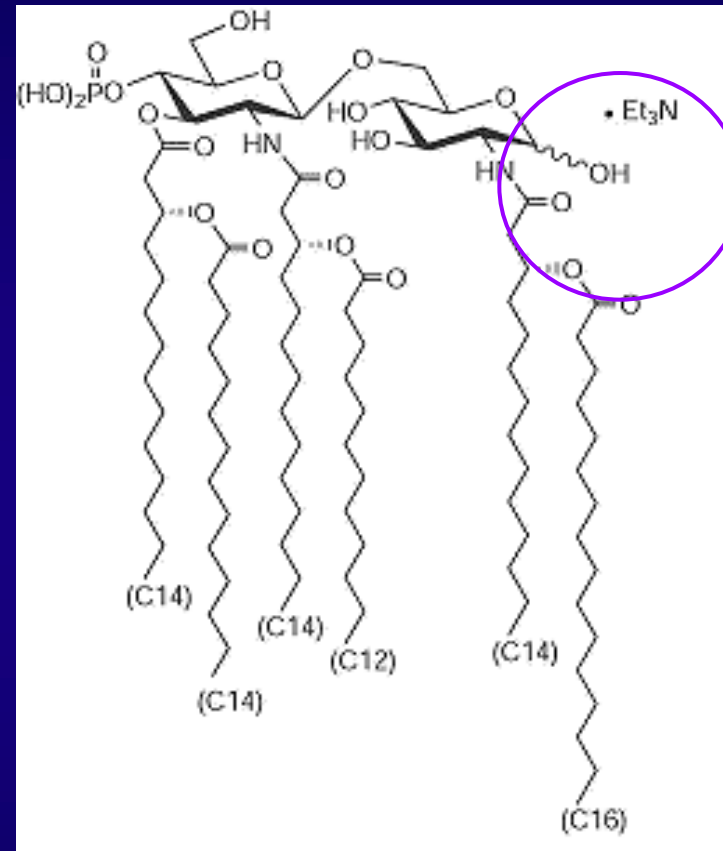
- Alum プラス MPL(monophosphoryl lipid A) (GlaxoSmithKline)
- Alum プラス CpG DNA
- Alum プラス MF59(スクワレンを含むオイルエマルジョン)
- Alum プラス QS21

ワクチンの回数と抗原量を下げることができる

lipid A (LPS活性中心)と その誘導體



大腸菌由来lipid A

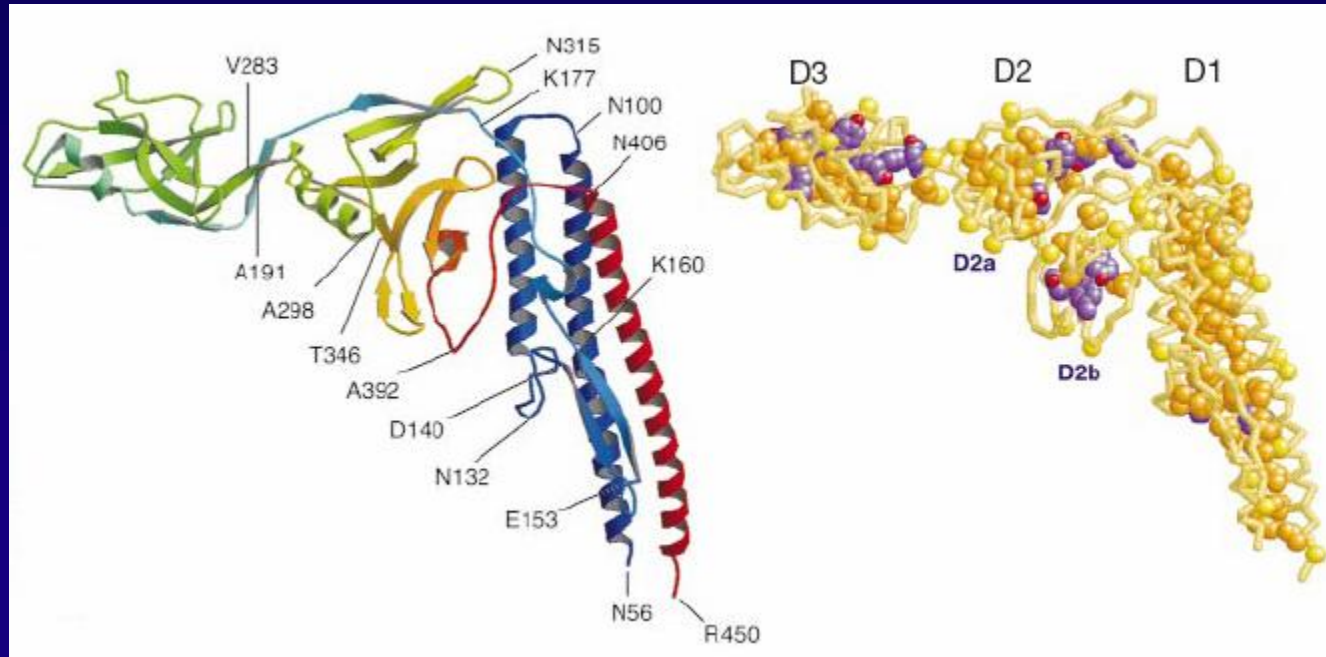


Monophosphoryl lipid A
(RC528)

Monophosphoryl lipid A(MPL):TLR4アゴ ニスト

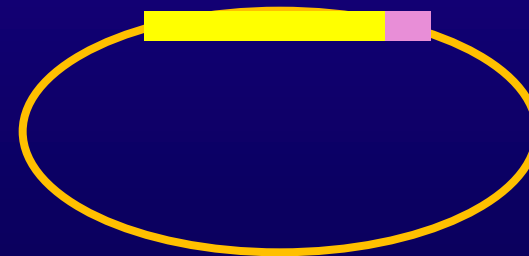
B型肝炎ワクチン Fendrix（商品名）でアジュバントとして使われている。パピローマウイルスや性器ヘルペスに対するワクチンに添加されている。マラリアや結核の予防や癌の治療ワクチンとしても臨床試験に入っている。

フラジェリンは、唯一蛋白性リガンドである



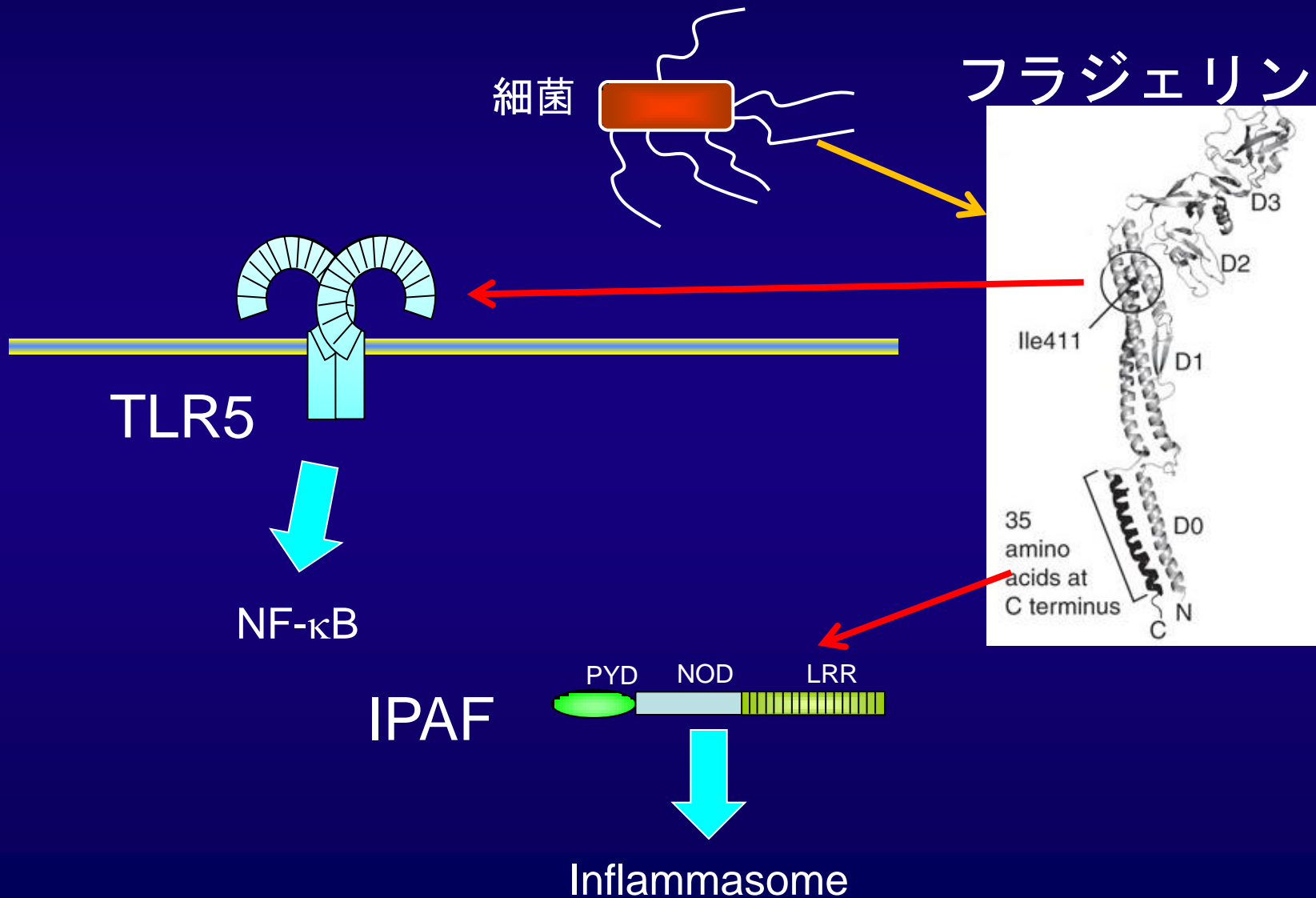
融合蛋白

DNAワクチン

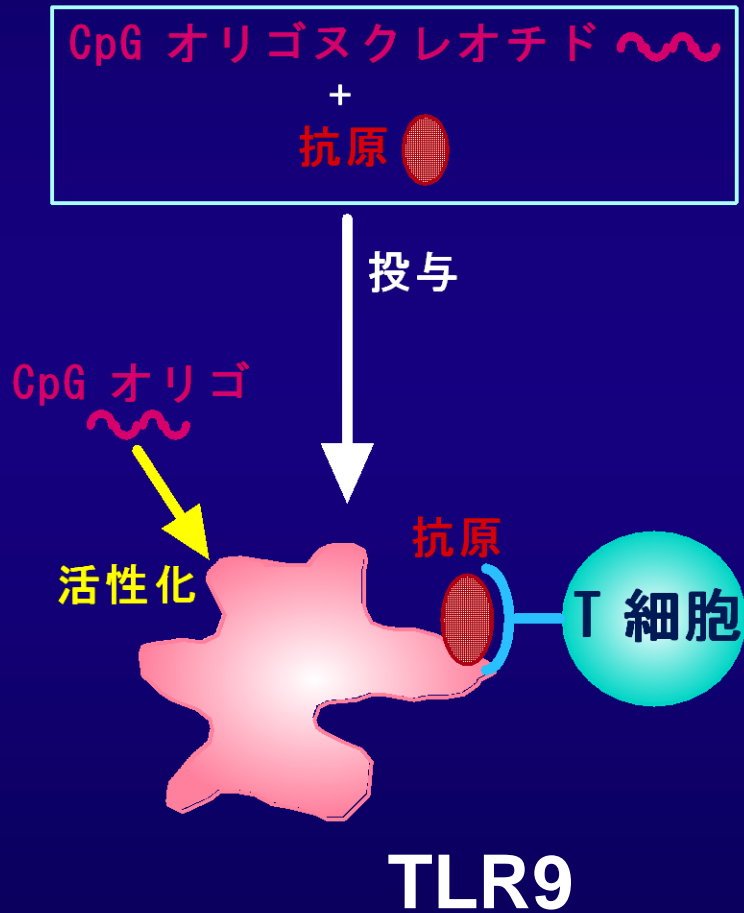


DNA-encoded flagellin + antigen

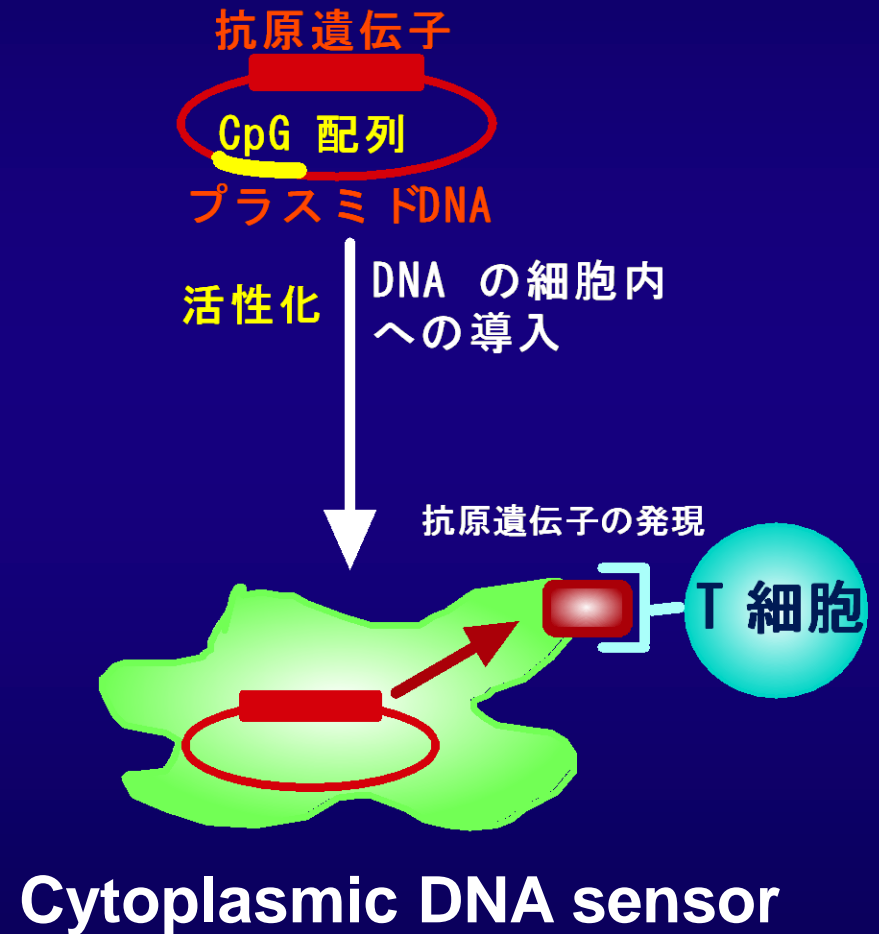
細菌鞭毛蛋白質フラジェリンの細胞外、細胞内受容体による認識



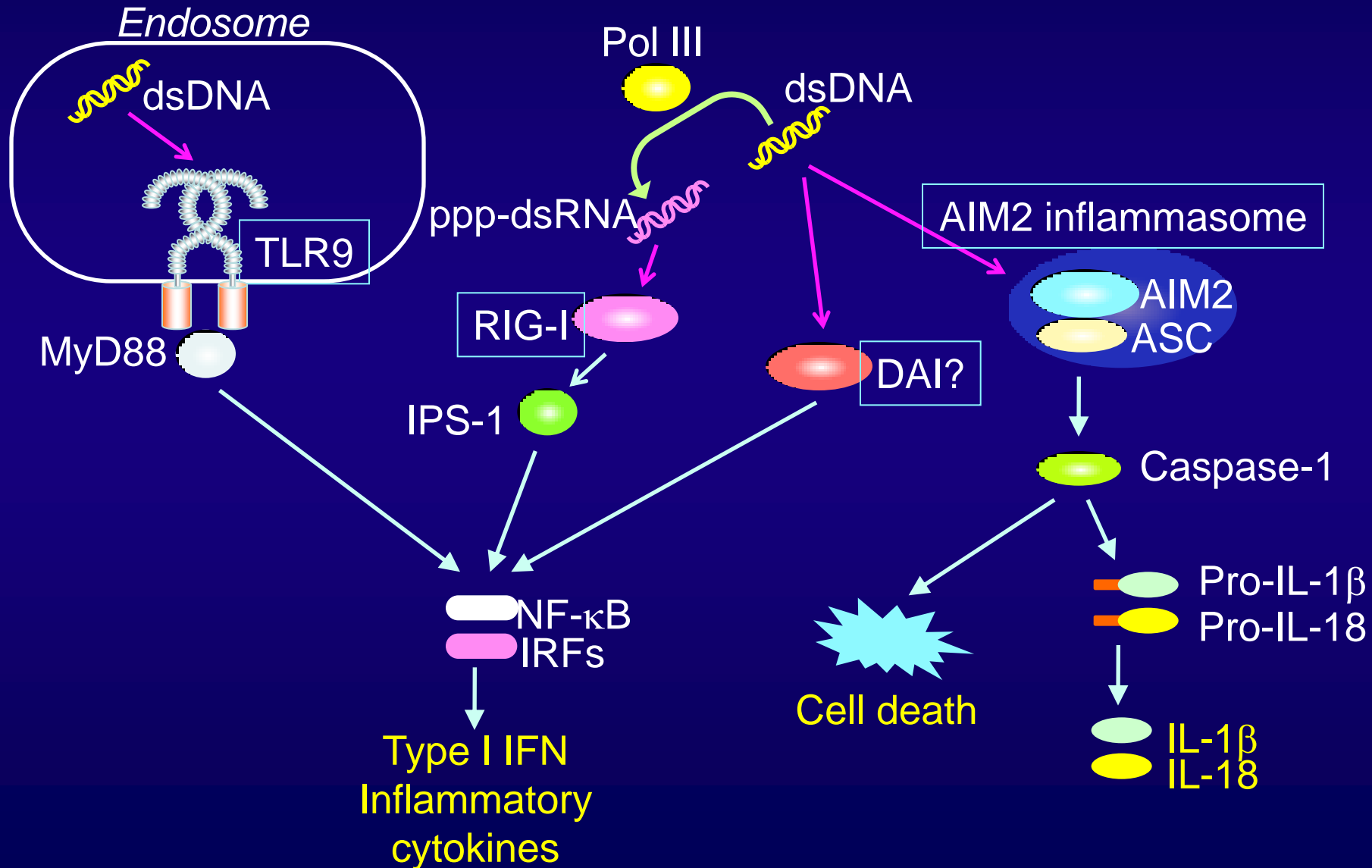
CpG DNA をアジュバントとして用いる免疫



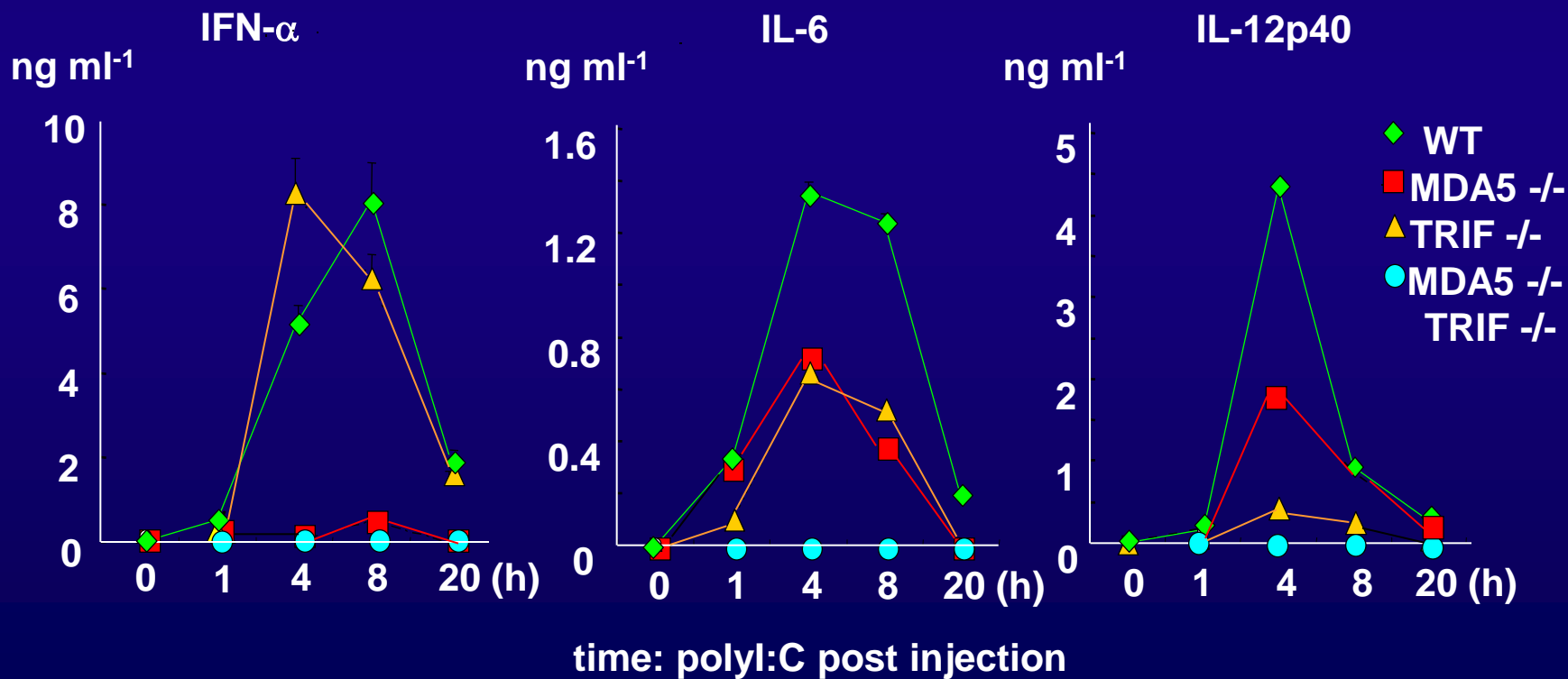
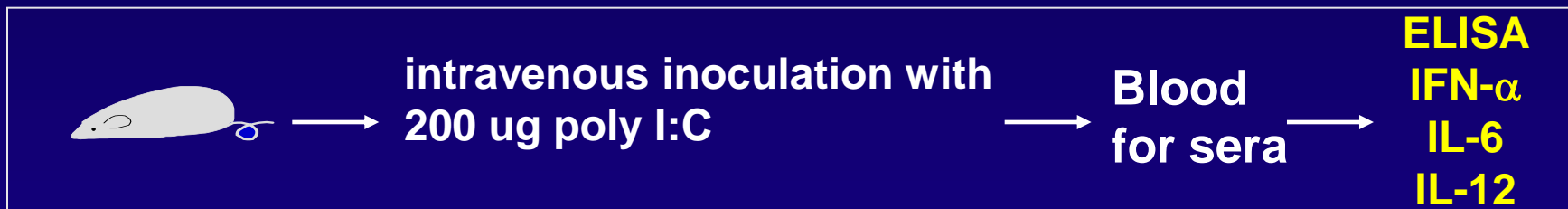
DNA ワクチン



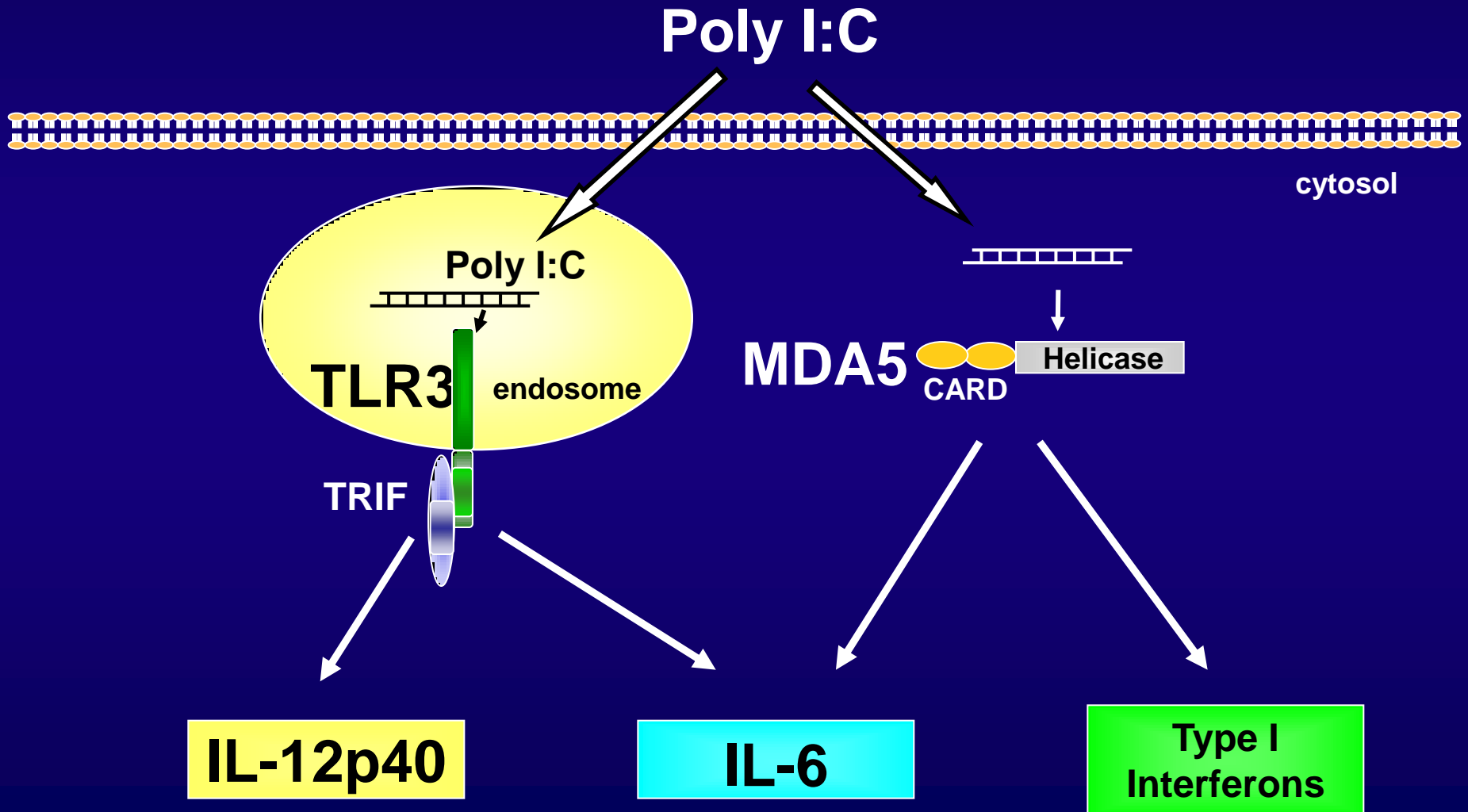
Innate immune sensors for dsDNA



Production of interferon and cytokines in response to poly I:C



Role of TLR3 and MDA5 in the response against poly I:C



液性免疫と細胞性免疫誘導

生ワクチンと異なり、成分ワクチンは液性免疫(Th2反応)は誘導できるが細胞性免疫は誘導されにくい。ウイルス、結核菌、サルモネラ、クラミジア、リケッチア、原虫などの細胞内寄生体に対する感染防御には細胞性免疫(Th1反応)が必要となる



細胞性免疫を誘導できるadjuvantの
開発の必要性

TLR2,TLR5刺激は、Th2反応を誘導する。
TLR7, 9刺激は、Th1反応を誘導しやすい。

今後のワクチン開発の問題点

- 各TLR刺激剤の機能の差（活性の違いや分解の違いなど）、TLR発現細胞の差、異なるTLR刺激剤の組み合わせ、TLR以外の病原体認識受容体の存在。
- Delivery systemや抗原とadjuvantの結合など
- 投与ルートの問題（皮下、筋、経口、経粘膜）
- 細胞性免疫か抗体産生か