

## 【基調講演】

### 「自然免疫の最近の進歩」

大阪大学免疫学フロンティア研究センター拠点長 審良 静男

渡邊先生、丁寧なご紹介をありがとうございます。

今日は、ワクチンフォーラムの特別講演の機会を与えていただき、大変光栄に存じます。それでは、講演に移らせていただきます。

ご存じのとおり、免疫応答というのは自然免疫と獲得免疫に分けることができます。自然免疫は、これは従来までの考え方でありまして、病原体・異物を貪食して消化するだけ。さらには局所に炎症反応を引き起こすということで、従来までの考え方は、自然免疫は非特異的な免疫応答と考えられておりました。

一方、獲得免疫のほうは、さらに液性免疫と細胞性免疫に分けることができまして、液性免疫のほうは抗体をつくる。体液中で抗体をつくることによって、病原体や異物を中和する。一方、細胞性免疫のほうはさらにキラーT細胞を誘導することによりまして、感染した細胞を直接やっつけるということによりまして、病原体をやっつけるということになります。

これが獲得免疫を担当する主な細胞群、特にT細胞、B細胞でありますけれども、特にT細胞の場合は細胞性免疫にかかわりますし、B細胞の場合は抗体産生にかかります。ワクチンの効果というのは、これらの細胞に免疫記憶を与えることがキーとなります。

この大きな特徴というのは、このT細胞の受容体にいたしましても、抗体にいたしましても、無数の天文学的な数字の数の抗原に対して反応をし得るということでありまして、これはちょうど30年前に利根川（進）先生によって、そのメカニズムが明らかにされました。

例えば、これは抗体でありますけれども、抗体の部分はH鎖とL鎖から成り立っておりまして、このH鎖、L鎖の末端の部分が可変部と言われまして、そこに多様性を生ずることによって無数の抗原に反応するわけでありまして、そのメカニズムといたしましては、ここの可変部の部分が、H鎖の場合は3つの部分から分かれておりまして、その一つ一つの部分が常染色体上におきましてはバラバラに存在する一つのセットの遺伝子群から一つ一つ取り出すことによって、ここに多様性がつくり出されるということでありまして、また、L

鎖の場合は、VとJの2つしかありませんけれども、V、Jの幾つかあるV、Jから一つ一つ取り出すことによって、ここに多様性をつくり出す。

つまり、例えばH鎖の場合の可変部の場合、Vが250あります。その中から1つ取り出します。Dの場合は12種類あります。そこから1つ取り出します。Jの場合は4種類ありますから、そこから1つ取り出すことによって、これの掛け算の数の多様性がここにできるわけになります。

一方、L鎖のほうはVとJ。Vが250種、Jが4種類ありますから、1,000種類の多様性がここにできることになります。抗体の場合は、さらにH鎖とL鎖が合わさって可変部ができるわけでありますから、これとこれを掛けた形、つまり1.2掛ける10の7乗通りの多様性が理論上できることになります。

しかしながら、こういう前もって多様性をつくり出すと、異物に対してだけじゃなくて、自分自身に対してその抗体が反応するわけであります。それは生体の中では、その発生の過程、分化の過程で、T細胞の場合は胸腺、B細胞の場合は骨髄で自己に反応する細胞が除去されるという過程が行われます。その後、最終的に体の中には非自己に反応する細胞のみが体内に存在するようになります。

もう一つ大きな特徴は、免疫の二次応答、免疫記憶と呼ばれるものでありますけれども、これは例えば、これは抗原Aをゼロ日目に入れますとこういう抗体ができます。しかしながら、その後、抗体産生は低下いたしまして、28日目にもう一度同じ抗体を入れてみますと、これは対数でありますから、急速に速くこの抗体産生、著名な抗体産生が誘導されることになります。しかしながら、この同じ28日目にAと違う、全く違うBという抗体を同時に投与いたしましても、Bに対してはこのように、Aの1回目の反応と同じような反応しか誘導いたしません。つまり、初めに抗原Aを投与することによって、2回目には著名な急速な速い抗体産生が誘導されるという、つまり免疫の二次応答、これは免疫記憶と呼ばれますけれども、そういう特徴が獲得免疫には存在いたします。

このメカニズムが明らかになっておりまして、これは例えばB細胞でありますけれども、B細胞上に存在する抗原受容体、それに特異的に結合する抗原が結合いたしますと、B細胞は分化いたしまして、抗体産生細胞になります。それによって多量の抗体ができるわけでありますけれども、一部はメモリーB細

胞となって体の中に存在することになります。メモリーB細胞は、もう一度この同じ抗原が来た際には、さっき述べましたように速やかに反応して、多量の抗体を産生する細胞であります。このメモリーB細胞をふやすことが、ワクチンの原理であります。

これは免疫応答の基本を示していますが、B細胞の場合、免疫グロブリンの遺伝子の再構成によって無数のレパートをまず作り出します。そしてB細胞の場合は、骨髄で自分に反応する細胞が除去されて、病原体だけに反応する細胞が体の中に残ることになります。そして、ある特定の抗原が来ると、ある特定のB細胞が刺激され、特定の抗体ができます。一部はメモリーB細胞となって体の中に残り、もう一度同じ抗原が来た際には速やかに反応するということになるわけであります。

これは自然免疫にかかわる細胞でありますけれども、自然免疫のほうはマクロファージ、これは白血球、樹状細胞が中心的な役割を果たしまして、これは病原体を貪食・消化し、局所に炎症・サイトカインを誘導する。これらはそういう病原体を貪食することから、食細胞と総称されるわけでありますけれども、樹状細胞の場合はこのような貪食・消化・サイトカイン産生以外に、もう一つ、抗原提示という作用を持っております。

これは自然免疫と獲得免疫の関係を模式的に示したものでありますけれども、ここに示しますとおり、まず病原体が体内に入ると、自然免疫系の細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞などがまず病原体を発見するとともに、初期攻撃を行います。貪食して消化します。その中で樹状細胞だけは抗原提示細胞、病原体をばらばらにして、小さくなったペプチドをこの細胞の表面に発現いたしまして、感染組織から所属リンパ節に移動いたします。そして、この病原体由来の抗原をT細胞に伝えまして、この抗原と一致する受容体を持ったT細胞だけが活性化され、その後T細胞とB細胞の間に情報交換が起こりますと、特異的な抗体が産生されますし、一方、T細胞とB細胞の間に相互作用が行われますと、キラーT細胞が誘導されて、最終的に病原体への集中攻撃と防御が引き起こされるということになります。

従来の考え方は、この自然免疫系の細胞の役割がこのように、ただ抗原ペプチドをT細胞に伝えるだけの受け身的な役割しか持たないと考えられていたわけでありますけれども、最近はその考え方が大きく変わってまいりました。

さきのストーリーでいきますと、ただ抗原だけを加えれば獲得免疫が誘導さ

れるということになるわけでありますけれども、実際、免疫を研究している多くの人が気づいていることでありますけれども、幾ら抗原だけを投与しても免疫反応は全く誘導されません。つまり、アジュバントと呼ばれるものをいつも抗原とともに投与する必要があります。

そのアジュバントというのは免疫補助剤と呼ばれるものでありますけれども、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。ウサギで抗体をつくるときに使われますのが、フロイントの完全アジュバントでありまして、これはBCG菌とか結核菌の死菌、フロイントの不完全アジュバント、これは油みたいなものでありますけれども、そういうものを加えることによって初めて抗体ができます。

私たちが20年前、30年前の教科書でいきますと、これは皮下でwater in oilエマルジョンとして蓄積し、少しずつ普通に抗原を入れてしまうと、体の中に散らばってしまいます。しかしながら、こういう状態で体の中に投与してやると、そこに蓄積して少しずつ漏出するため、体内の滞在時間を延長することによって、獲得免疫系に抗原を伝えるというのが教科書的な考え方でありました。

しかしながら、なぜそういうものであるならば、こういうBCG菌とか結核の死菌をわざわざ入れる必要があるのかということに、20年前、アメリカの免疫学者が疑問を持ったわけであります。それが最近明らかになりましたのは、このアジュバントと呼ばれるものは、Toll-like receptorsを刺激することにより、自然免疫系の細胞の活性化にかかわっていたということであります。

従来の考え方は、ただ病原体が入ってきたら、自然免疫系の細胞は非特異的に貪食して消化するだけということでありましたけれども、最近の考え方は少し変わってまして、もちろん同じように病原体を貪食いたします。しかしながら、その際同時に、Toll-like receptorsを介した特異的な認識があって、この自然免疫系の細胞が活性化される必要があるということが明らかになってまいりました。

これが従来の考え方でありますけれども、病原体が体内に入ってまいります。樹状細胞が食べて、ばらばらにして、小さくなったペプチドを樹状細胞の表面に提示いたします。その後、この樹状細胞は感染組織から所属リンパ節に移行いたしまして、この抗原ペプチドと一致するT細胞だけが活性化され、そして獲得免疫が誘導されます。これが従来の考え方であります。

この考え方でいきますと、病原体の認識はこのT細胞の活性化の段階、つまりリンパ節におけるT細胞の活性化の段階で初めて病原体の侵入が感知されるわけでありますけれども、最近はそのじゃなくて、もっと早い時期に病原体の侵入を感知しているということが明らかになってきました。同じように、病原体は樹状細胞によって食べられます。ペプチドが表面に出されますが、その際同時に、病原体の成分によって樹状細胞が活性化される必要がある。活性化された状態で病原体のペプチドがT細胞に伝えられたときのみ、初めて獲得免疫が誘導されるという考え方であります。絶えず体の細胞、さらには病原体などが樹状細胞によって食べられて消化して、抗原がT細胞に提示されてしまう。しかしながら、その状態というのは全くT細胞を活性化することができません。樹状細胞が活性化された状態で抗原がT細胞に提示されたときのみ、初めて免疫細胞、獲得免疫が誘導されます。それには病原体を認識するT<sub>H</sub>1様細胞が樹状細胞の表面に存在しておいて、それによってT<sub>H</sub>1が活性化されると、樹状細胞が活性化され、そして補助機能分子が誘導され、炎症性サイトカインが誘導される。つまり3つのシグナルがT細胞に加わったときのみ初めて獲得免疫が誘導されるということが明らかになってきました。

これはもう一度時間軸で書き直したものでありますけれども、細菌、ウイルス、寄生虫が体内に入ってくると、まず自然免疫系の細胞（白血球、マクロファージ、樹状細胞）などが病原体か自己かをまず識別します。病原体のみに存在する分子に対して反応する受容体がこのような細胞に存在するからであります。病原体が入ってきたということがわかりますと、樹状細胞はその病原体由来のペプチドを表面に出しまして、感染組織から所属リンパ節に移行いたしまして、T細胞にその病原体に対する特異的な反応を引き起こすように指令いたします。そして最終的に抗体、キラーT細胞が誘導されるということでありませぬ。

これはがんワクチン、これはちょうど100年以上前、アメリカのウィリアム・コーリーによって、最初にコーリー療法として開発されたものであります。彼は外科医でありますけれども、過去100例の肉腫患者、がんの患者を調べて、がんの手術の後に細菌感染を併発した者は予後良好であることを発見いたしまして、ストレプトコッカスやセラチアの生菌や死菌を投与して、がん免疫療法を開始いたします。現在でも初期の膀胱がんの場合、直接BCGを打つという療法がありますし、山村（雄一）先生が開発されたBCG-CWS、さら

にはピシバニール、丸山ワクチンなどが現在民間療法として使われておりますけれども、この非特異的ながん免疫療法と呼ばれる療法が、最近の研究で、Toll-like receptorsを活性化することによってがんをやっつけていたということが明らかになってまいりました。

これはウィリアム・コーリーでありますけれども、がん免疫療法の祖と言われておりますけれども、最初に投与されたのは巨大な腹部腫瘍16歳の少年でありました。コーリーは数日おきに腫瘍に直接ワクチンを投与いたします。投与後、ワクチンというのは細菌成分そのものでありますけれども、生の菌、死菌も含めてでありますけれども、投与後、強い発熱と悪寒に襲われました。腫瘍は徐々に縮小しました。治療開始4カ月後、腫瘍は当初の5分の1に縮小いたしました。この患者は治療の26年後、心臓発作によって死亡いたしまして、がんは治っていたということであります。

このメカニズムでありますけれども、一般的に腫瘍細胞というのは自己であります。腫瘍細胞も体の中で死にますと、同じように樹状細胞によって食べられて、がん特異抗原がT細胞に提示されます。しかしながら、この腫瘍細胞というのは病原体ではありませんから、樹状細胞を活性化いたしません。活性化しない状態で、幾らがん抗原がT細胞に提示されましても、全く腫瘍に対しては免疫応答は引き起こされません。しかしながら、そのような状況下でも、たまたまこの腫瘍細胞を食べていた樹状細胞がT<sub>H</sub>1を介して、病原体成分を介して樹状細胞が活性化されますと、抗原提示以外に2つのシグナルが同時に加わると。つまり、3つのシグナルが同時にT細胞に加わる状況が生じます。そうしますと、細胞傷害性T細胞が活性化され、最終的に抗腫瘍細胞が誘導されるということが最近明らかになりました。

一番最初のがんワクチンとしては、非特異的ながん免疫療法、これは不活化した病原体微生物で部分生成物を用いておりましたが、その後、これがうまくいかないということで、獲得免疫の研究からがん抗原特異的な免疫療法、つまりがん特異的なペプチド抗原を用いたがん療法がその後発達したわけでありまして、これにおいても必ずしもうまくいかないということが明らかになりまして、現在では抗腫瘍細胞が誘導される理論があきらかになりましたので、ある特定の樹状細胞に腫瘍抗原を提供すると同時に、その抗原を提示する樹状細胞を、T<sub>H</sub>1を活性化することによって、活性化された状態でがん抗原をT細胞に提示するような状況をつくらうという研究が、現在、世界じゅうで進

行しているところであります。

もう一度、自然免疫と獲得免疫を現在の言葉で言い直しますと、獲得免疫はもちろんT細胞、B細胞、リンパ球が再構成を伴う受容体を用いて、この場合詳細な分子構造、個々の一つ一つの病原体を識別する高次の識別システムでありますけれども、自然免疫系のほうもマクロファージ、樹状細胞を用いて、樹状細胞が再構成を伴わないToll-like receptorsを用いて、微生物間で保存された共通の分子パターン、これは後で述べますけれども、それを用いることによって病原体の侵入を感知しているということが明らかになったわけであり、さらにこの活性化があつてこそ、最終的に獲得免疫が誘導されるということが明らかになってまいりまして、自然免疫を活性化することによって、最終的に獲得免疫を誘導していこうという考え方が現在進んでいるわけであり、

これはToll-like receptorsファミリーメンバーでありますけれども、現在、十数個のToll-like receptorsファミリーメンバーが存在しておりまして、これは大きくIL-1 receptorsファミリーメンバーと、スーパーファミリーを形成しております。それは細胞内領域が極めて類似しておりまして、同じシグナル伝達分子を活性化するからであります。しかしながら、外側の領域は全く異なっておりまして、こちらがイムノグロブリン様ドメインからなるのに対して、こちらはロイシンリッチリピートという構造から成り立っております。これらの個々のToll-like receptorsファミリーメンバーが異なる病原体成分を認識するということが明らかになっておりまして、例えばTLRの4番目はリポ多糖(LPS)と呼ばれるものを特異的に認識いたします。これはグラム陰性菌に存在する、表面に存在する成分であります。一方、リポたんぱく、ペプチドグリカンなどはTLR2と。これも多くの細菌の表面に存在する成分でありまして、これによりまして、TLR2とTLR4を用いて、私たちの体は細菌の侵入を感知しているということになります。

さらに、このリポたんぱくの場合は、より微細な構造、多くのリポたんぱくがこのシステインの部分に3つの脂肪酸を持ったものが多いわけでありましてけれども、マイコプラズマの場合はここに脂肪酸がなくて、2つの脂肪酸しか持たないものがありますけれども、そういうような微細な構造もこのToll-like receptorsを用いて区別しておりまして、Toll-like receptorsの2と1のヘテロダイマー(二量体)を用いることによって、この3つの脂肪酸の部分で認識いたしますし、2と6の

二量体を用いることによって、マイコプラズマ由来の2つの脂肪酸を認識いたします。

さらに、それ以外にも、こういうフラジェリン、これはいろんな鞭毛、これは細菌が動き回る装置でありますけれども、こういう鞭毛の一つを取ってまいりますと、その中にフラジェリンというたんぱく成分でありますけれども、フラジェリンという構成成分が密に詰まっております、このフラジェリン自体が強く免疫細胞を活性化するわけであります。これはTLR5によって認識されます。

さらに、核酸もTLRsファミリーメンバーによって認識されまして、例えばRNAウイルスの中に存在するRNAがあり、一本鎖RNAの場合はTLR7によって認識されますし、DNAウイルスに存在するCpG、CGという配列を含むDNAの場合は、TLR9によって認識されるということでもあります。

これはイミダゾキノリンという化学物質、これはもともとはいろんな細胞からインターフェロン $\alpha$ など、各サイトカインの産生を誘導する化学合成物質であります、ちょうど20年以上前にアメリカの3Mという会社がインターフェロンにかわる物質として、これを開発したわけであります。イミダゾキノリンの誘導體といたしましては、イミキモド、R-848というものが知られておりまして、現在このイミキモドは免疫反応調整剤Aldalaという商品名で、ヒトパピローマウイルスの感染によって発症する尖圭コンジロームの治療薬として現在臨床応用されております。R-848というのはイミキモドの100倍の活性を有します。これらは大体400ぐらいの分子量のものでありますから、軟膏で塗りましても、体の中に吸収されるわけであります。こういうイミダゾキノリンの誘導體がTLR7によって認識されるということ、私たちは最初に明らかにいたしました。

その後で、TLR7が一本鎖RNA、それはこの構造から見てわかりますとおり、核酸に極めて類似しているということから、ナチュラルリガンドとしては一本鎖RNAであるということが後に明らかになりました。

いろんなTLR7リガンドがあります。こういうふうに核酸と似た構造物を持ったものがすべてTLR7のリガンドとして認識されます。つまり、TLR7という一つの受容体が、一本鎖RNAからこういう核酸の成分のようなものまで認識する。つまりほとんど構造が極めて異なる、核酸の場合は物すごく大きいものでありますけれども、こっちは400ぐらいのものであります、



特異的にTLR7によって認識されるということが明らかになっておりまして、つまりTollの場合には人工的にいろんなリガンドをつくっていくことができる可能性があるということを強く示唆しているわけでありまして。

これは、各種のTLRsファミリーメンバーによる病原体の認識を示すものでありますが、TLR2の場合はペプチドグリカン、リポタイコ酸、リポたんぱく、これはグラム陽性菌の壁に存在する成分であります。つまりTLR2はグラム陽性菌の体内への侵入を感知する受容体ということになりますし、TLR5はフラジェリンを認識いたしますから、腸内細菌の体内への侵入を感知する受容体、TLR9の場合はウイルス、細菌以外のDNAを認識いたしますし、TLR4の場合はLPS、さらには幾つかのウイルス膜たんぱくを認識いたします。TLR7の場合はイミダゾキノリン、一本鎖RNAを認識いたしますし、TLR3は二本鎖RNAの認識をいたします。このように、比較的少ないTLRsファミリーメンバーを用いることによりまして、細菌からウイルスまであらゆる病原体の侵入を感知し得るとということが明らかになりました。

もう一つ、大きな特徴は、そういうふうに病原体をTollは認識するわけでありまして、逆に病原体のほうもTollの認識からエスケープしようという傾向がありまして、例えばある種のアデノウイルスはゲノム上のCpG配列を減らすことによって、TLR9による認識からエスケープしよういたしますし、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たんぱくを産生するというものであります。

つまり、ここは大きな問題でありまして、病原体、特にウイルスの場合は、ほとんど今現在、人にかかっていくウイルスの場合は全くTollを刺激いたしません。ほとんどしないのであります。後で述べる細胞内センサーの場合もありません。つまり、一たんこういう病原体が細胞に感染いたしますと、後から幾らTollを刺激いたしましても、それを除去することができない。つまり、この場合は、予防的ワクチンでないと、現在、強力な病原体に対しては予防できないということを強く示唆しているわけでありまして。歯周菌とかレプロスピラのLPSは、構造を変えることによってTLR4に対する応答性が低くなっています。グラム陰性菌に属する歯周菌が口の中に存在していても、全く炎症を引き起こすことがありません。それはLPSの構造が変わっているからであります。ヘリコバクター・ピロリも胃の中に存在しておりますけれども、そのヘリコバクター・ピロリのフラジェリンは全くTLR5によって認識されな

い、つまりお互いに平和共存しているわけでありませう。

もう一つ大きな特徴が、Toll-like receptorsファミリーメンバーというのは、全く構造が異なるようなものでも、一つの受容体によって特異的に認識されるということでありませう。TLR9の場合はCpGを認識いたしまし、このヘモジンというこういう構造も認識いたしまし。TLR4の場合はヒートショックプロテインという構造、タキソールという構造、LPSという構造を特異的に認識するという特徴があります。

もう一つの特徴は、こういう細菌を認識するToll受容体というのは、細胞の壁に存在いたしましけれども、核酸を認識する受容体と呼ばれるものは細胞の中のエンドソームに存在しておりまして、一たんそういう病原体が食べられて消化して、核酸が出てきてから最終的に認識されるということでありませう。

シグナル伝達経路も個々に異なっておりまして、これはアダプターの使い分けによってなされませう。MyD88アダプターは、TLR3以外のすべてのTLRsファミリーメンバーに必須のアダプターでありまして、その上にNF- $\kappa$ Bが活性化され、最終的に炎症性サイトカインが誘導されませう。つまりMyD88 dependent pathwaysというのは、Tollのシグナル伝達経路においては炎症にかかわるパスウェイということになりませうし、それ以外にTRIFというパスウェイがありまして、このTRIFは続いてIRF3という転写因子を活性化いたしまし、最終的にType I interferonsが誘導される。IKK $\alpha$ 、TBK1というのがIRF3をリン酸化するカキネスが明らかになっておりませう。つまりTRIF dependent pathwaysというのは、抗ウイルス反応にかかわるパスウェイということになりませう。それが幾つかのアダプターがありますけれども、これはMyD88、TRIFの細胞に補助的に働くアダプターでありませう。TLRの7、9もインターフェロンを誘導いたしましけれども、そのメカニズムは全く3、4と異なっておりまして、7と9によるType I interferonsの産生の場合はIRF7という転写因子で直接MyD88と結合することによって活性化され、Type I interferonsが誘導されませう。こちらの7、9のType I interferonsはある特殊なプラズマサイト様、樹状細胞(pDC)と呼ばれるものからのType I interferonsの産生だけに働いておりまして、こちらが多くの細胞からのType I interferonsにかかわるとい、組織的な違いが存在いたしまし。

これはもう一度TLRsファミリーメンバーの役割を示すものでありませう

れども、病原体に特徴的な構造を認識をする病原体センサーとして、Toll-like receptorsが自然免疫系の細胞に存在しております。それによって病原体を認識いたしますと、局所にはサイトカイン、ケモカインを誘導することによって炎症反応を引き起こしますし、抗菌ペプチドを誘導することによって抗細菌作用を誘導いたしますし、インターフェロンを誘導することによって抗ウイルス反応を誘導いたします。この免疫細胞の中で樹状細胞だけが感染組織から所属リンパ節に移行いたしまして、獲得免疫系の細胞に情報を伝え、そして病原体特異的たんぱくに対する応答を引き起こすこととなります。これがいわゆるメモリーという作用でありまして、これを活性化することによってワクチンの作用は誘導される。ここの部分というのは、幾らワクチンを投与いたしましても、この部分は毎回同じ反応しか起こらず、記憶は存在いたしません。

こういうふうにTollの受容体が発見される中で、新たに病原体は細胞内の中でも認識されるということが明らかになってまいりました。例えば、これは二本鎖RNAでありますけれども、これは細胞質内においてはRIG-I、Mda5という分子によって認識されます。

これはまとめたものでありますけれども、多くのRNAウイルスはこのRIG-Iと呼ばれる分子によって細胞質内で認識されますと、その後、IPS-1という分子を介してTBK1、IKKiというカインスが活性化され、そしてIRF3がリン酸化を受け、この受容体が細胞質から核内に移行し、Type I interferonsが誘導されます。

Mda5はこれとよく似た分子でありますけれども、ターゲットとするウイルスはピコルナ属のRNAウイルスだけを認識いたしまして、これによってMda5が活性化され、同じようにType I interferonsが誘導されます。

DNAウイルスの場合もdsDNAを認識する細胞内のセンサーが細胞質内に存在しておりまして、それによってType I interferonsが誘導されます。現在、このDNAセンサーに関しては、現在まだ明らかになっておりません。

同じように、細菌の場合もペプチドウイルス、これTLR2によって認識されると言いましたが、ペプチドグリカンの最小成分は細胞質内でNOD1、NOD2によって認識されて、NF-κBを誘導し、炎症が引き起こされます。

さらに、これとよく似た分子が4つ存在しております。NOD-like receptorsファミリーと呼ばれます。これはいわゆるインフラマソームというものを活性化することによって、IL-1ファミリーメンバーを誘導いたします。I

IL-1とかIL-1ファミリーメンバーのIL-18は転写で制御されているのではなくて、一端Pro-IL-1 $\beta$ 、Pro-IL-18というものが細胞質内にできます。これは不活性化の状態でありますけれども、そこにCaspase-1というものが活性化されて、これが切られて小さくなって初めてMature-IL-1 $\beta$ 、IL-18になって炎症反応が引き起こされますが、そのCaspase-1の活性化に、さきに述べた4つの分子が極めて重要な役割を果たします。

これはインフラソームをまとめたものでありますけれども、ここで示しますとおり、フラジェリンというのはTLR5によって認識されますが、これは細胞質内に入ってまいりますと、NAIP5、IPAFと呼ばれるインフラマソームを形成する分子によって認識されまして、そしてCaspase-1が活性化され、最終的にPro-IL-1 $\beta$ がIL-1 $\beta$ となってIL-1が誘導されるということでもあります。

RNA、イミダゾキノリン、これはTLRの7番目によって認識されますけれども、それが細胞質内に入りますと、NALP3という分子を介してCaspase-1が活性化され、IL-1 $\beta$ が誘導されます。

それ以外にもこういう尿酸結石とか、シリカとか、アスベスト、アミロイドなど結晶構造は、このNALP3を介してIL-1 $\beta$ が誘導され、炎症が引き起こされるということが明らかになっております。

最近になりまして、DNAウイルス由来のdsDNAも、同じように細胞内ではNODファミリーとは異なるんですけども、AIM2と呼ばれる分子によって認識されまして、それを介して最終的にまたCaspase-1が活性化される。つまりインフラマソームが形成され、活性化されて、IL-1 $\beta$ が誘導されるということが明らかになってきました。

これは病原体認識センターをまとめたものでありますけれども、Toll-like receptorsファミリーメンバーというのはあらゆる病原体を認識する受容体であります。それによってNF- $\kappa$ B、IRFsという転写因子が活性化されまして、サイトカイン、ケモカイン、抗ウイルスたんぱくが誘導されます。しかしながら、これは膜型の受容体であります。

一方、同時に細胞質内にも病原体を認識するセンサーの存在が明らかになりまして、細菌の場合は、NOD-like receptorsと呼ばれる、これNOD1、NOD2がペプチドグリカンの最小部分を認識いたしまして、それによってNF- $\kappa$ Bが活性化され、弱い炎症反応を引き起こします。

それ以外に、4つのNOD-likeファミリーメンバーの場合は、Caspase-1を活性化することによってIL-1 $\beta$ 、IL-18を誘導いたします。

ウイルスの場合は、RIG-Iというものが最初に見つかりましたので、現在は、MDA5とともにRIG-I-like receptorsと総称されますが、それは多くのRNAウイルスを認識いたしまして、IRF3という転写因子を主に活性化することによって抗ウイルスたんぱくを誘導いたします。ピコルナ属のウイルスだけはMDA5と呼ばれるものによって認識されて、抗ウイルス反応を誘導するということがあります。

最近になりまして、さらにこのC-type lectinがこのように自然免疫系の細胞に存在して、それを病原体の侵入を感知するだけじゃなくて、シグナルを伝えて獲得免疫を誘導するということが明らかになってまいりました。

ここに示すのがDectin-1、Dectin-2、Mincleという分子でありますけれども、Sykというカキネスを介しまして、最終的にNF- $\kappa$ Bを活性化され、炎症性サイトカインが誘導されます。

現在のところ、こういう病原体を認識するセンサーとしてはToll-like receptorsファミリーメンバー、NOD-like receptorsファミリーメンバー、RIG-I-like receptorsファミリーメンバー、Lectin-like receptorsファミリーメンバー、4つが明らかになっておりまして、これらの4つによって最初に病原体が認識された後、そこから獲得免疫が誘導され、そしていろんな免疫反応が誘導されるということが明らかになってまいりました。今現在、多くのグループが最初の認識から最終的にこの獲得免疫誘導までに至る過程を一つの病原体に関して研究しようとしているところであります。

自然免疫から見たワクチン開発について、今から述べさせていただきますけれども、これワクチンのアジュバントとしての作用は、ここに示した4つの作用があります。

抗原を長時間局所にとどまらせ、抗原刺激を持続させる。従来、水酸化アルミニウムがそういうものであるというふうに言われておりました。

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。これはリポソームなどがそれに当たります。

私たちがさきに述べましたように、自然免疫を活性化させ、共刺激因子やサイトカイン産生を促すことによって、樹状細胞を主に活性化することによって獲得免疫を誘導するというのが病原体センサーの役割であります。

もう一つは、獲得免疫細胞を直接活性化させて、抗原特異的反応を助けるといふ、幾つかのサイトカインなどはそういう役割も持っております。

現在、生ワクチンと不活化ワクチンが使われるわけでありまして、アジュバントの作用から見ますと、全く2つの作用は異なっておりまして、不活化ワクチンというのは死んだ病原体がファゴサイトーシスによって取り込まれ、ファゴゾームでT<sub>H</sub>1を活性化して樹状細胞を刺激いたします。つまり、これは感染いたしません。しかしながら、生ワクチンの場合は、それ以外に細胞質内の病原体認識センサーによって認識される。つまり、なぜ生ワクチンのほうが不活化ワクチンよりも強いかというと、多分、細胞内センサーのほうも同時に生ワクチンのほうは活性化するからであると考えられます。

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みます。免疫効率は高いが、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りますし、新興感染症にはワクチン開発に時間がかかります。

現在、サブユニットワクチンに移行しつつあります。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、安全性も優れてはいますが、逆に免疫原性が低く、免疫の効果が弱くなる傾向がある。そういうことから、効果的なアジュバントを開発する必要があるということになるわけでありまして。

これはインフルエンザの場合の自然免疫認識機構についてでありますけれども、インフルエンザ菌がまず感染いたしますと、2つの細胞に、主に2つの自然免疫系を活性化いたします。多くの細胞の場合は、インフルエンザが感染することによってRNAができます。そのRNAを直接こういうRIG-Iという分子が認識することによってType I interferonsが誘導されるわけでありまして。

一方、こちらのプラズマサイトイド樹状細胞というのは感染の必要がなく、ほとんどこの細胞は感染されないわけでありましてけれども、インフルエンザウイルスを取り込んで、そしてToll-likeの7番目によってRNAを認識することによって、そしてインターフェロンを誘導いたします。

このように、インフルエンザの初期の自然免疫機構で2つの細胞の異なる作用が明らかになっておりますけれども、これが最終的に獲得免疫にも大きな違いが出てまいります。

これは石井（健）先生がなされた仕事でありますけれども、例えば生きたインフルエンザを感染させますと、あらゆる細胞で自然免疫系のレセプターが活

性化されます。pDCはTLR7を活性化いたしますけれども、他の細胞の場合は細胞内センサーであるRIG-I、またNOD-like receptorsを活性化するわけでありまして、これによってインターフェロンが出たり、炎症サイトカインが出ることによって、あらゆる獲得免疫が活性化されます。

しかしながら、不活化全粒子を使いますと、これは感染性をなくしておりますから、こういう細胞内に感染することはない。しかしながら、pDCと呼ばれるものには取り込まれて、TLR7を介してインターフェロンが出て、そして獲得免疫が誘導されると。それによって不活化ワクチンはインフルエンザの感染を防御できるということでありまして。

最近よく使われていて、現在市販されているスプリット型のHAワクチンになりますと、これは物すごくピュアになっており、ほとんどウイルスのRNAを除去しております。pDCの場合はRNAを認識することによって、インターフェロンが出て、獲得免疫を誘導するわけでありましてけれども、スプリット型ワクチンの場合は全く自然免疫の反応を誘導いたしません。そのために、子供の場合には、全くこういうインフルエンザにかかったことのない人の場合には、全く免疫が成立しないこととなります。インフルエンザに感染したことのある人の場合は、こういうものを加えますと、直接メモリーCD4+T細胞が刺激されて、そしてウイルスに対する反応が誘導されるということとなります。

アジュバントでありますけれども、水酸化アルミゲル、これは臨床で最もよく用いられるアジュバントでありまして、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ります。局所に抗原をとどめ、DCとの接触時間を長くすると言われております。

最近、これがNOD-like receptors 3を介してインフラマソームを形成して、Caspase-1を活性化し、IL-1、IL-18を産生させるということが明らかになりまして、インフラマソームを活性化するという作用がある。しかしながら、この経路はどうも獲得免疫の誘導にはかかわらないと思われまして、現在まだこの水酸化アルミゲルがどのように作用して獲得誘導するかは不明であります。

現在、こういうアラムがTh2反応を誘導いたしますし、また余り免疫反応を誘導しないということから、このアラムに幾つかのこういうTollのリガンドを加えるという傾向が出ておりまして、こういうTollのリガンドを加えることによって、ワクチンの回数と抗原量を下げることができるということ

で、現在多くのワクチンの中に、特にこのMonophosphoryl lipid A、これですけれども、lipid A自体では物すごく毒性がありますけれども、それを少しモディファイしたMonophosphoryl lipid Aになりますと毒性が低下いたしまして、アジュバント効果だけが残りますけれども、これを多くのワクチンの中に現在投与されています。特にB型肝炎の場合は、Fendrixという商品に、アジュバントとしても使われていますし、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もすべてこのMPLを添加されている状況であります。

フラジェリンは唯一のたんぱく性リガンド。多くのTollのリガンドというのはたんぱく成分以外のものが多いわけがありますけれども、唯一、たんぱく性リガンドでありまして、これを利用して免疫活性を上げようという工夫がなされています。例えば、これはたんぱくでありますから、フラジェリンと抗原たんぱくとのフュージョンたんぱくをつくることができます。さらにはDNAワクチンとして、このフラジェリンを細胞内で抗原とともに発現させることができます。

しかしながら、この2つの作用は少し違っておりまして、さきに言いましたとおり、フラジェリンの場合はTLR5によって認識されますし、同時に細胞内センサーによって認識されます。その場合、認識部位が異なります。フラジェリンのこの部分はTLR5によって認識されますけれども、この部分は細胞内センサーのこの部分によって認識される。融合型のたんぱくをつくって、ただ投与するだけだったら、TLR5によって認識されますけれども、DNAワクチンの形で投与いたしますと、多分この2つの受容体によって同時に認識されると期待されます。

同じように、このCpG DNA、これはCpGオリゴヌクレオチドと抗原を同時に投与いたしますと、CpGオリゴはTLR9を活性化し、抗原がT細胞に伝わって獲得免疫が誘導されるということでもありますけれども、従来まではDNAワクチンを用いた場合、プラスミド上に存在するCpG配列がTLR9を介して樹状細胞が活性化されると考えられていたわけがありますけれども、さきに言いましたように、細胞内にも二本鎖DNAを認識する受容体の存在が明らかになりまして、こういうDNAワクチンでプラスミドを投与した場合は、TLR9よりもむしろ細胞内センサーによって樹状細胞が活性化されるということが明らかになってきております。

これは例えば、二本鎖DNAを体内に投与いたしますと、このような各種の



受容体によって細胞が活性化されます。もちろん dsDNA はファゴサイトされますと、TLR9 によって活性化されますし、細胞内に入ってまいりますと、AIM2 と呼ばれる分子によって認識され、インフラマソームを形成し、IL-1 が出てきますし、これはまだわからないんですけども、細胞内に存在します DNA センサーによって認識されますと、Type I interferons が誘導されます。

この dsDNA というのは、もしこれが ATリッチでありますと、ポリメラーゼ 3 によって転写されて、二本鎖 RNA ができて、それが二本鎖 RNA として RIG-I によって認識されて、最終的に Type I interferons が出るという、こういう二本鎖 DNA を体内に投与した場合、いろんな受容体によって活性が誘導されるということが明らかになりつつあります。

Poly I : C、これは二本鎖 RNA でありますけれども、これを体内に投与して血中でサイトカインをはかってみました。PolyIC は MDA5 によって認識されますし、TRIF というのは TLR3 の下流に存在するアダプターでありますから、これは TLR の 3 番目とさせていただければいいのですけれども。そういうノックアウトマウスを使いまして、Poly I : C を投与した後の血中のサイトカインを見てみますと、このインターフェロンの場合は、ここに示しますとおり、この赤の部分、MDA5 によってもうほとんど消えてなくなっております。しかしながら、TRIFKO の場合、TRIF は TLR3 と同じであります、インターフェロン産生の場合は、全く TLR3 がなくても正常であります。

しかしながら、IL-12 の場合は逆でありまして、MDA5KO では誘導されますけれども、TRIF、つまり TLR3KO を使う場合は低下すると。IL-6 の場合は、ほぼ同じ値をとるということでありまして、まとめますとこういうことになります。

つまり Poly I : C を体内に投与いたしますと、TLR3 を介して刺激された場合は、主に IL-12 を出す。もちろん IL-6 も出すけれども、12 を中心に出す。逆にこれが細胞質内に入ってくると、MDA5 によって認識されて、Type I interferons が誘導されるということから、この同じ Poly I : C を認識するセンサーの存在がありましても、TLR3 の場合と MDA5 の場合は最終的な効果が違うということになります。

液性免疫と細胞性免疫の問題は非常に重要でありますけれども、生ワクチン

と異なり、成分ワクチンは液性免疫、特にTh2反応を誘導できますが、細胞免疫は誘導されにくい。ウイルスとか結核菌、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細菌に対しては感染防御には細胞性免疫（Th1）が必要となる。細胞性免疫を誘導できるアジュバントの開発が必要であると。現在、TLR7と9はTh反応を誘導しやすいと言われておりますけれども、それでも実際の生ワクチンと比べますとTh反応の誘導は極めて弱いものでありますから、これから必要なのはこの細胞性免疫を誘導するアジュバントを見出すことであろうと思われまます。

これが最後でありますけれども、今後のワクチンの開発の問題点といたしましては、各Toll-like receptors刺激剤の機能の差、個々に異なっております。活性の違いもありますし、分解の違い、いろいろなことがあります。Toll-like receptorsの発現細胞の差もありますし、異なるToll-like receptors刺激剤の組み合わせはどうか。Toll以外の病原体認識受容体の存在も明らかになってまいりましたので、それも考慮する必要があると。

デリバリーシステムや抗原とアジュバントの結合などの点。さらに投与ルートによって大きく違ってきます。同じアジュバントを使いましても、皮下に入れるか、筋肉に入れるか、経口にするか、静注するか、また経粘膜にするかによって、最終的な獲得免疫の誘導が大きく違ってまいります。

さらには、そういう病原体の感染をブロックするために細胞性免疫のほうが必要なのか、抗体産生だけで十分なのかという点も考慮してワクチンを開発する必要があるのではないかと考えております。

ご清聴どうもありがとうございます。以上で講演を終わらせていただきます。  
(拍手)