

## 2021年度東京慈恵会科大学大学間共同プロジェクト研究費成果概要

報告日 2022年4月18日

部署名	細菌学講座
研究代表者氏名	林崎浩史

1. 共同研究テーマ名	ワクチンで誘導される特異的抗体の「Quality」の解析
2. 共同研究の連携先機関名	星薬科大学

## 研究成果の概要

申請者はこれまでに肺炎球菌表面タンパク質であるPneumococcal surface protein A (PspA)をワクチン抗原とし、糖脂質である $\alpha$ -galactosylceramide ( $\alpha$ GalCer)をアジュバントとして組み合わせた新規肺炎球菌ワクチン(P/Aワクチン)を樹立した。 $\alpha$ GalCerは生体内のナチュラルキラーT (NKT)細胞を特異的に活性化させることで強力な免疫賦活化作用を誘導する。当該ワクチンを経鼻接種したマウスは致死性の肺炎球菌感染に対し強力で防御作用を示すのみならず、従来のアジュバント含有ワクチンと比較して、長期にわたってPspA抗原特異的抗体の産生を誘導することが明らかとなった。しかし、抗原特異性に乏しいNKT細胞がどのようにしてPspA特異的抗体の産生を誘導するのか不明であった。本研究では、当該ワクチンによって誘導される抗体の「質:Quality」に関してアプローチすることでその作用機序の解明ならびにワクチンの特徴の詳細な理解を目的とした。

ワクチン接種したマウスより頸部リンパ節を単離し、セルソーターにてPspA抗原特異的なB細胞のシングルセルソーティングを行なった。得られたシングルセルを96穴プレートベースでcDNA合成後にB細胞受容体(BCR)の重鎖、軽鎖各々をPCRにて増幅させ、シーケンス解析を行ない、BCRの可変領域の変異数ならびに個々の抗原特異的BCRのクロノタイプを同定した。 $\alpha$ GalCerの比較対象として、一般的に用いられるアジュバントの1つであるPoly (I:C)を用いた。レパートリー解析の結果、可変領域の変異数はPoly (I:C)含有PspAワクチンで若干多いものの、P/Aワクチンでも明らかな変異を認めた。さらに、BCR重鎖、軽鎖各々のレパートリーに関して解析したところ、重鎖のレパートリーはP/Aワクチンで少ない一方で、軽鎖のレパートリーはむしろ豊富であることが明らかとなった。また高頻度変異BCRでの比較解析ではその現象がより顕著に表れており、抗原特異的抗体の創出には豊富なBCR軽鎖のレパートリーが寄与している可能性が示唆された。

## 今後の展望、成果発表の計画について

本研究で得られた結果により、 $\alpha$ GalCerによって活性化したNKT細胞は、これまでに明らかになっていない、B細胞へのヘルプ機能を介して、BCR軽鎖に多数のレパートリー獲得をもたらすことにより、抗原特異的抗体の産生に寄与している可能性が示唆された。この作用機序は一般的な免疫応答では極めて稀であり、免疫学的に非常に興味深い知見であると言える。多様なレパートリーの獲得は、抗原に対する高親和性抗体の誘導に繋がるのみならず、この反応の応用は多反応性(Poly-reactive)B細胞の発生にもつながるものと考えられる。ウイルスなどのいわゆる抗原変異の多い病原体の感染症に対する防御においても効果的なワクチンの開発にも応用できるものと期待される。今後は、当該現象を明らかにするために、より詳細な解析を行なうとともに、関連学会での発表や国際学術誌への論文発表ならびに臨床応用を目指したトランスレーショナル研究へと繋げていきたい。