

## 結核菌成分を認識して免疫系を活性化する受容体を発見 ～ワクチンの効果をも高めるはたらき～

### 概要

九州大学生体防御医学研究所の山崎 晶 教授と千葉大学真菌医学研究センターの西城 忍 准教授らの研究グループは、Dectin-2 と呼ばれるタンパク質が、結核菌特有の成分、リポアラビノマンナン (LAM) を認識し、免疫系を活性化することを発見しました。このメカニズムを利用することで、結核のみならず、様々な感染症やがんに対するワクチンの効果をも高めることができると期待されます。

本研究成果は、2014年8月28日(木)正午(米国東部時間)に米国科学誌『Immunity』オンライン版に掲載されます。

### 背景

結核は世界人口の約3分の1が感染している脅威の感染症です。近年、「結核の再燃」や、薬の効かない「多剤耐性結核」が問題となっており、先進国の中でも我が国は突出して罹患率が高いことが特徴です。また、今日広く使われている BCG ワクチンは乳幼児には有効ですが、成人に接種した場合の有効性は低いことも知られています。では、本来、健康な私たちの体はどのようにして結核菌を認識し、排除しているのでしょうか。この分子機構を理解することは、結核に対する防御を強化し、感染を防ぐ方法を樹立するために重要ですが、これまで詳細な分子メカニズムは分かっていませんでした。

リポアラビノマンナン (LAM) は、結核菌に最も多く含まれる特徴的なリポグリカン (脂質を含む多糖) です (図1)。従来から、LAM には、免疫系を活性化する働きと、抑制する働きを有することが知られていました。また、丸山ワクチン<sup>®</sup>の主成分としても知られていますが、その多様な機能を説明する受容体の実体は長年不明でした。

研究グループは、既に、Mincle、MCL という2種類のC型レクチン受容体<sup>2)</sup>が結核菌受容体として働くことを見出していました (*J. Exp. Med.* 2009, *Immunity* 2013)。また、この近傍の遺伝子領域の遺伝子は、進化の過程で遺伝子重複によってその数を増やしてきたらしいことも発見していました (*Immunity* 2013)。興味深いことに、Dectin-2 遺伝子は、この2つの遺伝子と同一染色体で、しかも丁度隣に位置しています。

そこで、研究グループは、この Dectin-2 も結核菌受容体として働いているのではないかと考えました。

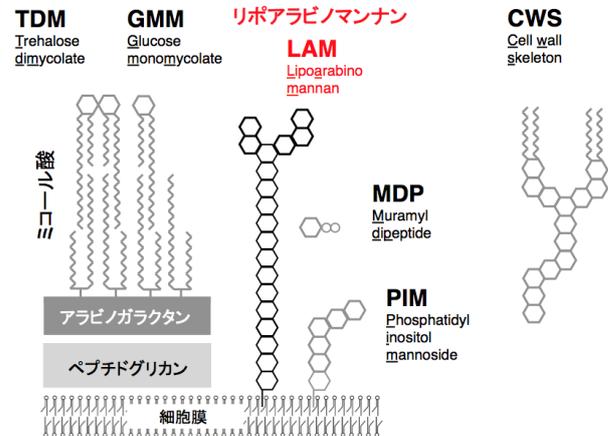


図1 結核菌の細胞壁構造と LAM

### 内容

研究グループは、まず、Dectin-2 がターゲットを認識して細胞が活性化すると蛍光を発するような細胞を開発しました。この細胞に結核菌を加えて培養すると、強い蛍光が検出されたことから、実際、Dectin-2 は結核菌を認識して細胞を活性化させる受容体であることが明らかになりました。ゲノム上で隣接する3つのC型レクチン受容体は全て結核菌成分を認識することが判明し、宿主が強力な結核菌に対抗するために、進化の過程で類似の受容体を複数獲得してきた過程が予想されます。

次に、Dectin-2 が結核菌のどのような成分を認識しているのかを調べるために、水、アルコール、クロロホルムなど様々な溶媒を用いて結核菌を処理し、活性がどの画分に抽出されてくるかを調べました。その結果、Dectin-2 に認識される成分は水に溶ける成分であることが分かりました。LAM は結核菌の成分の中で最も多く含まれる水溶性の成分であり、有力な候補と考えられます。実際、精製した LAM は、単独で Dectin-2 発現細胞を強く活性化できることが判明しました。つまり、Dectin-2 は LAM の直接の受容体であることが明らかになりました。

では、Dectin-2 は LAM の働きを担う必要不可欠な受容体なのでしょうか。研究グループはさらに、Dectin-2 を持たないマウス (Dectin-2 欠損マウス) を用いて解析を進めました。LAM は樹状細胞<sup>3)</sup> を活性化し、免疫応答を強く促進させる作用がありますが、その活性化は、Dectin-2 欠損マウス由来の樹状細胞では全く失われてしまうことも明らかとなりました。すなわち、LAM による樹状細胞活性化において、Dectin-2 は他の分子では代替できない重要な機能を持っていることが証明されました。

こうした結果から、LAM-Dectin-2 新機軸は、免疫力が弱っているために感染症やがんに苦しむ患者さんに対して、免疫力、特に獲得免疫<sup>4)</sup> を増強させるような薬剤 (アジュバント<sup>5)</sup>) として有用であると考えられます。そこで、LAM が獲得免疫を活性化できるか否かを、マウスモデルを用いて個体レベルで調べました。マウスにタンパク質と強いアジュバント (完全フロイントアジュバント<sup>6)</sup>) を注射すると、T 細胞<sup>7)</sup> による強い免疫応答が起こることが知られています。この系において、完全フロイントアジュバントの代わりに LAM を用いても、同様に強い免疫応答が観察されました。つまり、LAM は単独でアジュバントとして機能することが分かりました (図2)。この LAM による獲得免疫活性化作用は、Dectin-2 欠損マウスでは完全に消失することも明らかになりました。つまり、Dectin-2 は LAM の免疫活性化能を担う必要不可欠な受容体であったわけです。

これまでにも、完全フロイントアジュバントやリポ多糖<sup>8)</sup> など、アジュバント活性を持つ物質は知られていましたが、作用が強すぎて炎症などの副作用が出るため、ヒトでの使用は許可されていませんでした。そのため、過剰な免疫応答が起きないように仕組みも併せ持つような、安全かつ効果的なアジュバントの開発が待たれていました。そこで、研究グループは、LAM に、免疫活性化のみならず、過剰な免疫応答を抑えるような働きがあるかを調べました。面白いことに、LAM は、樹状細胞に、免疫応答を抑制する機能を持つサイトカイン<sup>9)</sup> IL-10 を産生させることが分かりました。この産生は、Dectin-2 欠損マウス由来の樹状細胞では完全に失われました。すなわち、LAM を認識した Dectin-2 は、樹状細胞を活性化するだけでなく、過剰な活性化を抑制する役割も有する、高度に免疫系を調節する受容体であることが分かりました。LAM の受容体に関してはこれまで様々な候補が報告されていましたが、その複雑な機能を説明するには至らず、真の受容体は何十年もの間、謎のままでした。今回の発見で、Dectin-2 が LAM の多様な機能を説明する真の受容体であったことが初めて明らかになりました。

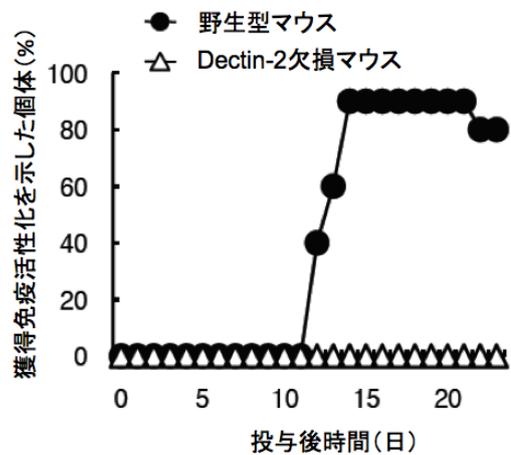


図2 Dectin-2 は LAM による獲得免疫活性化に必須である

## ■効果

結核菌成分、LAM を認識する受容体の発見は、感染症、がんに対する効果的なワクチンの開発に直接貢献することが期待されます。LAM、或はその類似の化合物を免疫力が弱っているヒトに投与すれば、免疫応答を効率的に増強できる可能性があります。さらに、LAM-Dectin-2 は過剰な免疫応答を制御する活性も持っていることから、炎症や発熱などの副作用を軽減できることも期待されます。今回の発見は、様々な感染症、がんに対する、より安全で効果的なワクチンの開発に繋がる成果です (図3)。

## ■今後の展開

近年、結核菌を認識する受容体が次々に明らかになってきていますが、結核菌に対するヒトの免疫応答にはまだまだ不明な点が多くあります。これだけ多くの受容体を備えていても、結核菌はなお我々の免疫系の隙をついて感染し、病気を起こします。この結核菌と宿主との攻防の全貌はまだ明らかではなく、今後の研究課題です。しかし、今回発見された新たなメカニズムを、ヒトの免疫賦活に応用することは大いに可能性があります。LAM の活性を維持したまま低分子化し、体内動態を最適化することにより、さらなる効果も期待できます。

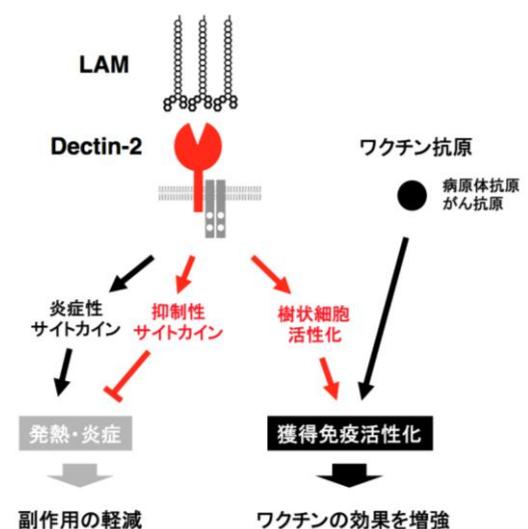


図3 Dectin-2 を介する LAM の免疫活性化機構と期待される効果

今回発見した LAM-Dectin-2 は、免疫賦活活性のみならず、免疫系を抑制する IL-10 をも産生することも特徴です。Mincle や MCL にはその能力がありません。なぜ Dectin-2 が特異的に IL-10 を産生させることができるのでしょうか。このメカニズムは全く分かっていません。この機構が明らかになれば、過剰な免疫活性化を人為的にコントロールできるようになることが期待されるため、今後の研究で取り組むべき重要な課題のひとつです。

## <用語解説>

- 1) **丸山ワクチン**: 故丸山千里博士らによって開発された皮膚結核の治療薬。結核菌由来成分であるリポアラビノマンナン、リポ多糖を主成分とする。その後、がんに対する治療効果があるとの世論が高まったが、詳しい作用メカニズムは未だに不明である。
- 2) **C 型レクチン受容体**: Toll 様受容体、Nod 様受容体、RIG-I 様受容体に続く、第 4 の自然免疫受容体ファミリーであり、特に「糖」を有する病原体成分を選択的に認識する特徴がある。「C」は認識にカルシウムが必要であることを示す頭文字である。
- 3) **樹状細胞**: T 細胞<sup>7)</sup>に抗原を提示し、活性化を促す重要な細胞。この細胞の発見は、2011 年のノーベル医学生理学賞の対象となった。
- 4) **獲得免疫**: 病原体を特異的に排除する高度な免疫システム。「特異性」「記憶」を有する特徴を持ち、ワクチンはこの獲得免疫を活性化させるのが目的である。
- 5) **アジュバント**: 免疫応答を活性化する作用を持つ物質。ワクチンの効果を高めるためにしばしば用いられる。古くから様々な微生物由来成分がアジュバントとして知られていたが、近年その多くの受容体が明らかになってきた。
- 6) **完全フロイントアジュバント**: 結核死菌に油を混ぜた混合物。古くから免疫応答を高める実験に用いられてきた。
- 7) **T 細胞**: 白血球の一種。免疫応答を司る中心的な細胞で、異物に対する「特異性」と「記憶」を担う。ワクチンの主な作用機序は、T 細胞に異物を覚えさせることである。
- 8) **リポ多糖**: 細菌の細胞壁に含まれる特徴的な内毒素。脂質と多糖から構成され、強い免疫活性化作用を有する。リポポリサッカライド (lipopolysaccharide, LPS) とも呼ばれる。
- 9) **サイトカイン**: 主に免疫細胞から放出され、免疫系を調節する液性因子。

本研究は、日本学術振興会最先端・次世代研究開発支援プログラム (NEXT) の支援による成果です。

### 【お問い合わせ】

生体防御医学研究所 教授 山崎 晶 (やまさき しょう)

電話: 092-642-4614

FAX: 092-802-4614

Mail: yamasaki@bioreg.kyushu-u.ac.jp