



Type-1 polarized dendritic cells are a potent immunogen against *Mycobacterium tuberculosis*

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-02-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐竹, 康臣 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3184

博士(医学) 佐竹 康臣

論文題目

Type-1 polarized dendritic cells are a potent immunogen against *Mycobacterium tuberculosis*

(タイプ 1 免疫誘導型樹状細胞は結核菌に対して強力な免疫原性を有する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

結核症は未だに全世界で最も致死的な感染症の一つである。抗結核薬の有効性は比較的高いものの、長期にわたる治療が必要であること、再燃あるいは多剤耐性結核などの問題が生じている。そのため、新たな治療戦略として結核菌の増殖を効率的に制御する免疫を誘導することが有用と考えられる。結核免疫においては、これまでに1型ヘルパーT細胞(Th1)免疫応答(細胞性免疫)の重要性が報告されている。樹状細胞(DC)は生体で唯一ナイーブT細胞を活性化させ、強力な抗原提示能を有する細胞である。DCが産生するIL-12p70は、細胞性免疫誘導に必須のサイトカインでCD4⁺ヘルパーT細胞をTh1へ誘導する。これらより樹状細胞をワクチンとして用いる樹状細胞ワクチン(DC ワクチン)療法が研究されてきた。しかしながら、従来型 DC(sDC)のIL-12p70産生能は一過性であり低下しやすいという限界がある。近年、我々の研究も含め、がん領域において強力なIL-12p70を産生する細胞性免疫誘導型DC(DC1)の検討がなされている。感染症においては、我々はマウスモデルで結核菌と同様の細胞内寄生菌であるリステリア菌に対するDC1が、高い抗原特異的細胞障害性T細胞(CTL)活性を誘導し強い感染防御能をきたすことを報告した。本研究では結核患者からDC1を作成し、免疫応答の解析を行うことにより抗結核治療ワクチンとしての有用性を検討した。

[材料と方法]

本研究は浜松医科大学および協力病院の倫理委員会にて承認され全ての患者から文書による説明と同意を得た。対象は新規に診断された結核患者症例である。患者から採取した末梢血から単球を精製し、単球をGM-CSFとIL-4存在下で6日間培養し未熟樹状細胞(iDC)を誘導した。iDCにDCを成熟させるためのサイトカインを加え(sDCへの成熟刺激としてIL-1 β 、TNF- α 、IL-6、prostaglandin E₂、DC1への成熟刺激としてIL-1 β 、TNF- α 、poly-I:C、IFN- α 、IFN- γ)、さらに2日間培養しsDCとDC1を誘導した。(1)表面マーカーをフローサイトメトリにて解析、(2)遊走能をマイクロチャンバー法にて検討、(3)IL-12p70等のサイトカインならびにケモカインをcytometric beads arrayないしELISA法にて評価した。

次に、結核特異抗原として6-kDa early secretory antigenic target (ESAT-6)タンパク質を添加し作成したDCを患者の末梢血単核球(PBMC)と共培養し、(4)IFN- γ 産生をELISPOT法にて評価、(5)NK細胞の活性化をフローサイトメトリにて解析、(6)制御性T

細胞(Treg)の誘導能をフローサイトメトリにて解析した。

[結果]

(1) sDCおよびDC1は共に成熟マーカー、共刺激分子が高発現していた。sDCとDC1では有意差は認めなかった。

(2) sDCとDC1は共にCCL19とCCL21に対して濃度依存的に遊走能を有した。

(3) DC1はiDCやsDCに比べてIL-12p70、IL-6、IL-10、CCL5、CXCL9、CXCL10の産生能が有意に高かった。またCCL22の産生能はsDCよりDC1の方が有意に低かった。

(4) ESAT-6を添加／非添加したiDC、sDC、DC1とPBMCを共培養しIFN- γ 産生を比較すると抗原を添加したDC1で有意にIFN- γ 産生が高かった。

(5) 実験(3)と同じ環境でNK細胞の活性化を比較すると、抗原添加／非添加どちらにおいてもDC1で最もNK細胞の活性化が強かった。

(6) さらにTregの誘導能を比較すると、抗原非添加のsDCとDC1はiDCに比べてTregの誘導能が低く、さらに抗原を添加するとiDC、sDC、DC1全てでTregの誘導能が低下した。

[考察]

結核患者より作成したDC1はIL-12p70を多量に産生し、抗原を添加したDC1は抗原特異的なIFN- γ を強く誘導した。さらにDC1はNK細胞の活性を高めTregの誘導を低下させた。これらの結果からDC1は効果的に細胞性免疫を誘導し、結核菌に対する免疫応答を強力に賦活してDCワクチンとしての有用性を示す可能性が示唆された。さらに多剤耐性結核や潜在性結核感染に対しても、化学療法や他の免疫療法との併用等によって有効な治療となりうる可能性がある。

[結論]

細胞性免疫誘導型樹状細胞は結核患者に対する新たな治療法の一つとなる可能性が示唆された。