

経鼻ワクチンの免疫学

静岡社会健康医学大学院大学

京都大学 iPS 細胞研究所（井上研究室） 研究員

木下 和生

<http://moonbeam.sakura.ne.jp/gene/download>



内容

- 免疫学の基礎
- 経鼻ワクチン
- 経鼻タウワクチンの可能性

免疫の特性

- 自己・非自己の識別 self vs. non-self
- 特異性 specificity
- 多様性 diversity
- 記憶 memory

自然免疫と適応免疫

- 自然免疫 innate immunity
 - 生まれもって備わっている免疫。初回の感染でも迅速に反応する。
- 適応免疫 adaptive immunity
 - 2回目以降の感染時に有効な免疫。病原体特異的で長期にわたり記憶を維持できる。

	自然免疫	適応免疫
自己非自己識別	有り	有り
特異性	決まったパターン	何にでも
多様性	少ない	無限
記憶	なし	有り
血中タンパク	補体・他	抗体
細胞	好中球・マクロファージ・NK細胞	リンパ球

これだけ覚える：タイムスケールに注目

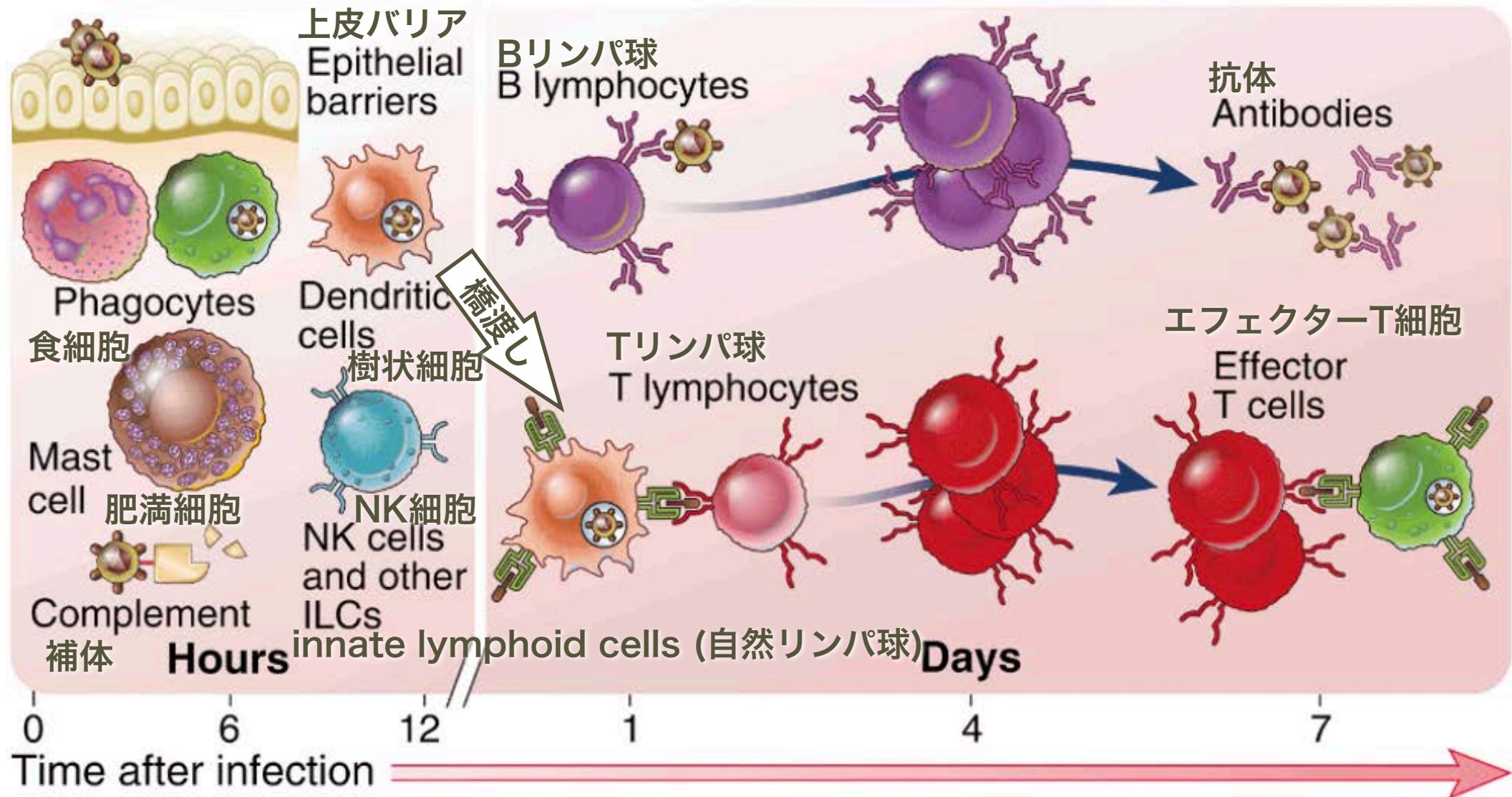
1st line

2nd line

微生物
Microbe

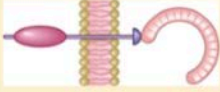






Innate immunity 自然免疫





Adaptive immunity 適応免疫



自然免疫

- パターン認識する受容体
 - Toll-like receptor (TLR), C-type レクチン, scavenger 受容体, cGAS, NLR, RLR など多数
- 構成要素
 - 上皮バリア、貪食細胞と炎症、NK細胞、血中タンパク、サイトカイン
- 適応免疫への橋渡し

Pattern Recognition Receptors	Location	Specific Examples	Ligands (PAMPs or DAMPs)
Cell-Associated			
TLRs 	Plasma membrane and endosomal membranes of DCs, phagocytes, B cells, endothelial cells, and many other cell types	TLRs 1–9	Various microbial molecules including bacterial LPS, peptidoglycans, viral nucleic acids
NLRs 	Cytosol of phagocytes, epithelial cells, and other cells	NOD1/2	Bacterial cell wall peptidoglycans
		NLRP family (inflammasomes)	Intracellular crystals (urate, silica); changes in cytosolic ATP and ion concentrations; lysosomal damage
RLRs 	Cytosol of phagocytes and other cells	RIG-1, MDA-5	Viral RNA
CDSs 	Cytosol of many cell types	AIM2; STING-associated CDSs cGAS	Bacterial and viral DNA
CLRs 	Plasma membranes of phagocytes	Mannose receptor, DC-SIGN	Microbial surface carbohydrates with terminal mannose and fucose
		Dectin-1, Dectin-2	Glucans present in fungal and bacterial cell walls
Scavenger receptors 	Plasma membranes of phagocytes	CD36	Microbial diacylglycerides
N-Formyl met-leu-phe receptors 	Plasma membranes of phagocytes	FPR and FPRL1	Peptides containing N-formylmethionyl residues

Soluble			
Pentraxins 	Plasma	C-reactive protein	Microbial phosphorylcholine and phosphatidylethanolamine
Collectins 	Plasma	Mannose-binding lectin	Carbohydrates with terminal mannose and fucose
	Alveoli	Surfactant proteins SP-A and SP-D	Various microbial structures
Ficolins 	Plasma	Ficolin	N-Acetylglucosamine and lipoteichoic acid components of the cell walls of gram-positive bacteria
Complement 	Plasma	Various complement proteins	Microbial surfaces
<p><i>AIM2</i>, Absent in melanoma-2; <i>CDSs</i>, cytosolic DNA sensors; <i>CLRs</i>, C-type lectin-like receptors; <i>DAMP</i>, damage-associated molecular pattern; <i>DC</i>, dendritic cells; <i>MDA</i>, melanoma differentiation-associated gene; <i>NLRs</i>, NOD-like receptors; <i>NOD</i>, nucleotide oligomerization domain; <i>PAMP</i>, pathogen-associated molecular pattern; <i>RLRs</i>, RIG-like receptors; <i>SP-D</i>, surfactant protein D; <i>STING</i>, stimulator of IFN (interferon) genes; <i>TLRs</i>, Toll-like receptors.</p>			

PAMP / DAMP

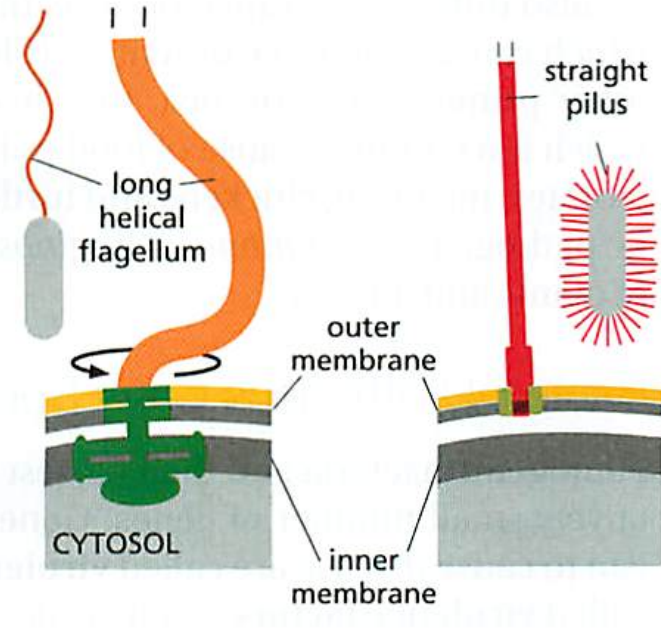
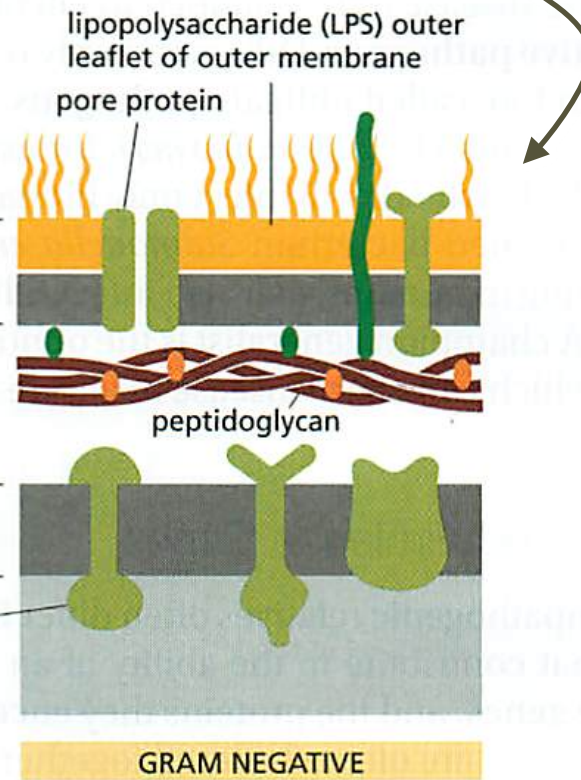
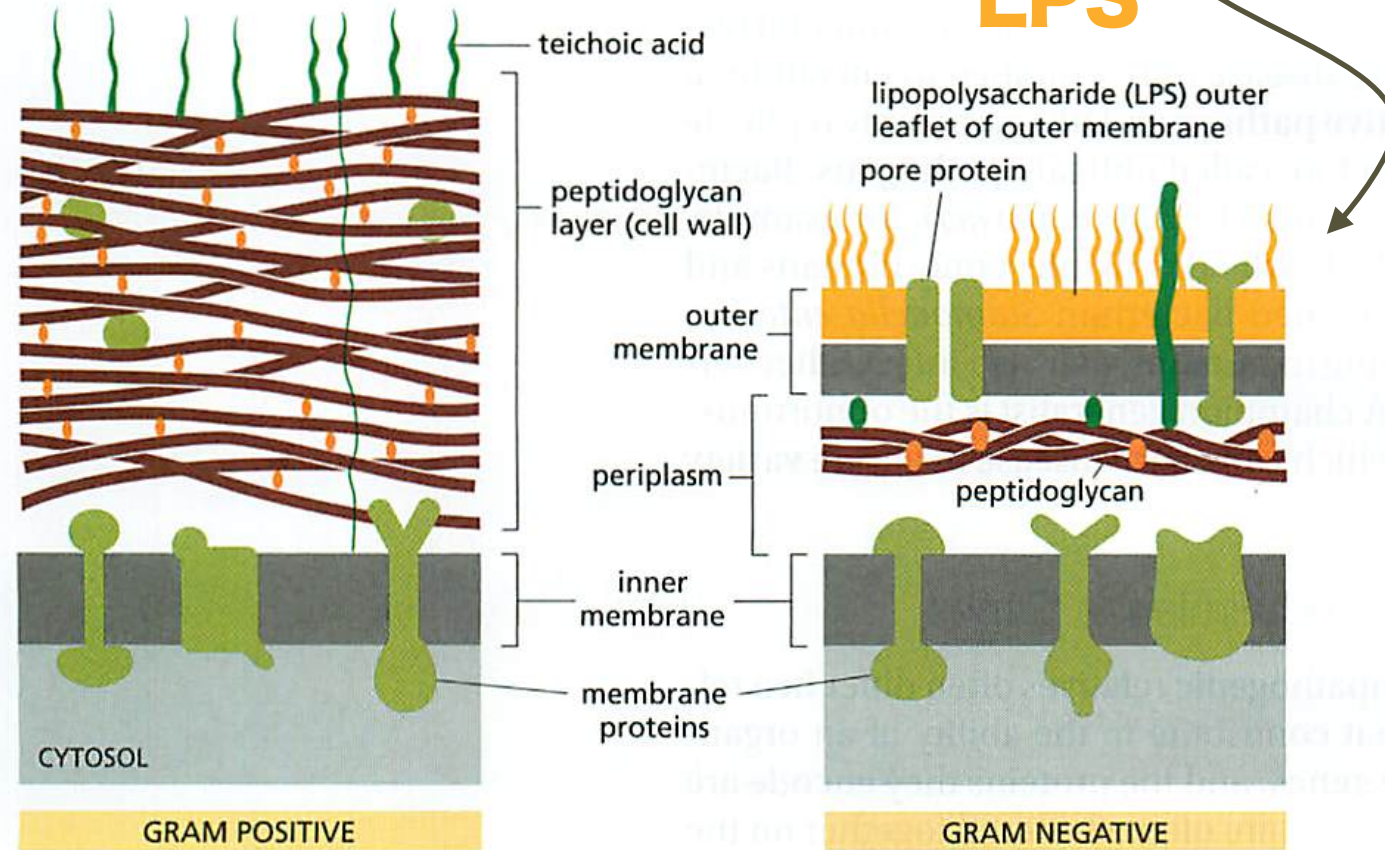
- pathogen-associated molecular pattern
 - バクテリアの DNA, lipopolysaccharide (LPS:細胞壁成分), 鞭毛
 - ウイルスの表面タンパク, RNA, DNA
- damage-associated molecular pattern
 - 細胞破壊にともない流出する自己成分
 - heat shock protein

細菌の細胞壁



LPS

鞭毛



Toll-like receptors (TLRs)

- もともとショウジョウバエの胚発生における背腹軸の決定に関わる分子として発見、後に抗菌反応に関与することが示された。
- 脊椎動物にも存在し、自然免疫を司る。
- ヒトでは10種類。

	リガンド	局在
TLR1/TLR2	lipopeptides	表面
TLR2	peptidoglycan	表面
TLR3	二本鎖RNA	細胞内小胞
TLR4	LPS	表面
TLR5	flagellin	表面
TLR2/TLR6	lipopeptides	表面
TLR7	一本鎖RNA	細胞内小胞
TLR8	一本鎖RNA	細胞内小胞
TLR9	CpG DNA	細胞内小胞

ヒトの細胞には無い物質か、本来の場所以外にある物質

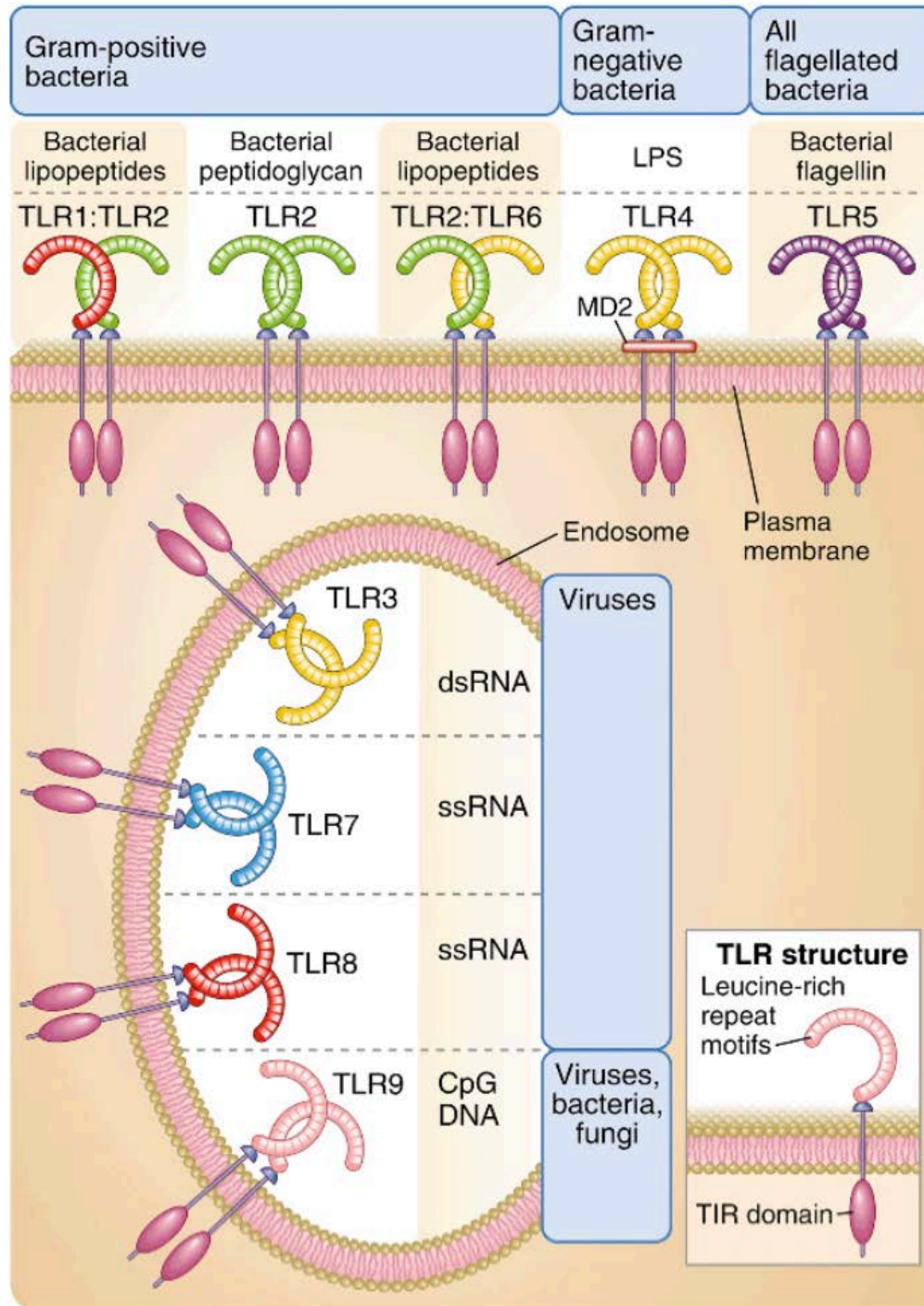


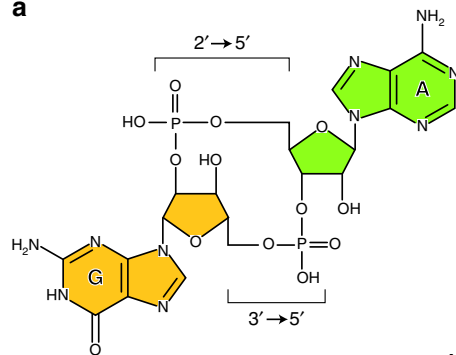
Figure 4.2: Structure, location, and specificities of mammalian Toll-like receptors.

Note that some TLRs are expressed on the cell surface and others in endosomes. TLRs may form homodimers or heterodimers. dsRNA, Double-stranded RNA; LPS, lipopolysaccharide; ssRNA, single-stranded RNA; TIR, Toll IL-1 receptor; TLR, Toll-like receptor.

cGAS-STING 経路

- ウイルス由来 DNA に反応
- 自己 DNA に反応 (自己炎症性疾患)
- cGAS が感知して、cGAMP を生成
- cGAMP を結合した STING が小胞体からゴルジ体へ移動、 インターフェロン経路をオンに

a



2'3'-cGAMP
Cyclic [G(2',5')pA(3',5')p]

2'3' cyclic GMP-AMP (cGAMP)

Kato et al., Nature Communications 9: 4424 (2018)

DOI: 10.1038/s41467-018-06922-7

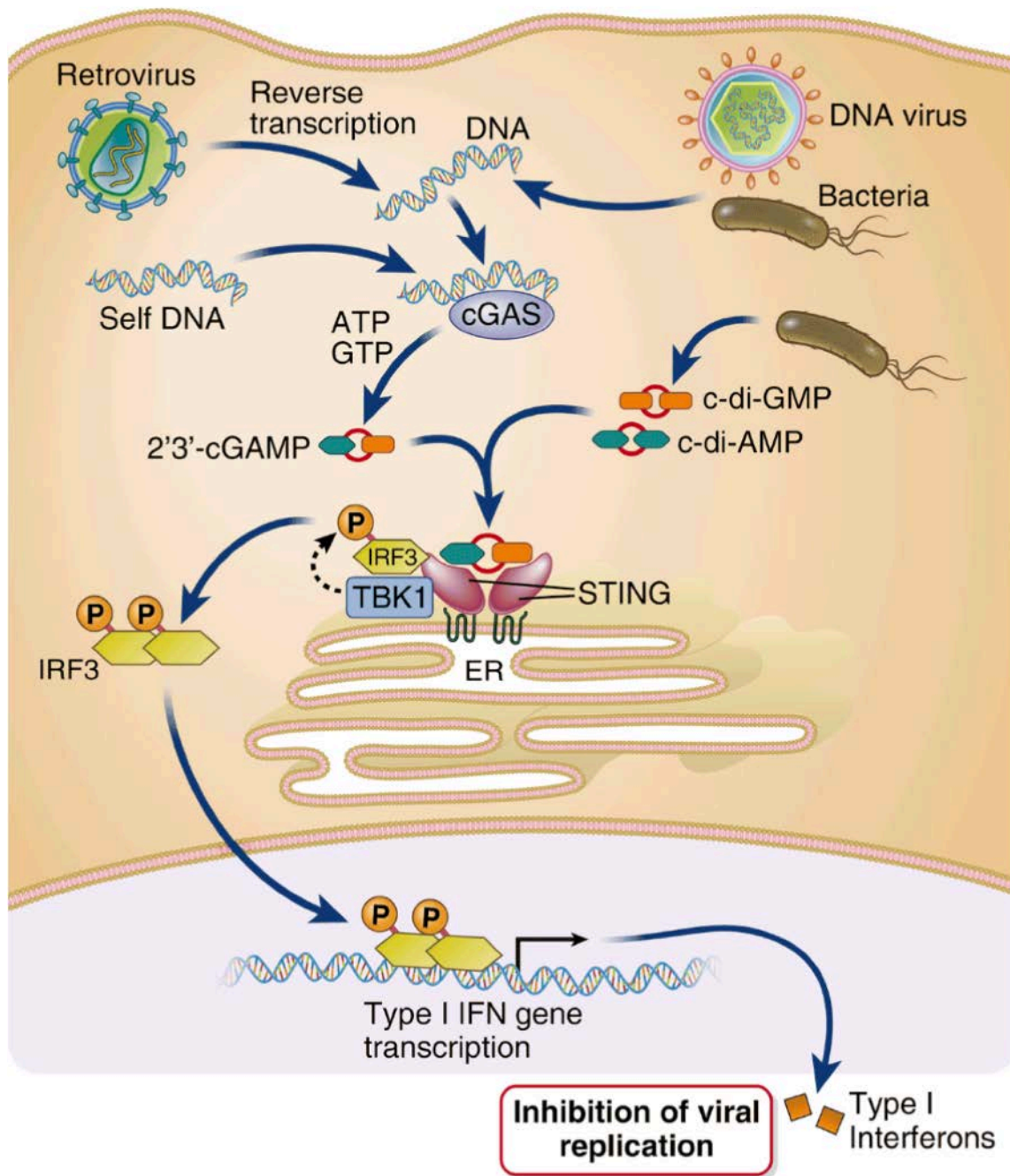


Figure 4.5: The STING cytosolic DNA sensing pathway.

Cytoplasmic microbial DNA and self DNA that accumulates in the cytosol activate the enzyme cGAS, which catalyzes the synthesis of cyclic GMP-AMP (cGAMP) from ATP and GTP. cGAMP binds to STING in the endoplasmic reticulum membrane, causing STING to translocate to the Golgi (not shown), and then STING recruits and activates the kinase TBK1, which phosphorylates IRF3. Phospho-IRF3 moves to the nucleus, where it induces type I IFN gene expression. Self DNA may be produced as a result of genomic or mitochondrial damage or from turnover of DNA. The bacterial second messenger molecules cyclic di-GMP (c-di-GMP) and cyclic di-AMP (c-di-AMP) are directly sensed by STING. ATP, Adenosine triphosphate; cGAS, cyclic GMP-AMP synthase; ER, endoplasmic reticulum; GTP, guanosine triphosphate; IFN, interferon; IRF3, interferon response factor 3.

cGAS-STING 経路

- がん免疫 (STINGアゴニストを抗がん剤へ?)
- 老化における炎症 (transposons?)
- ALS など神経変性疾患 (transposons?)

自然免疫の構成要素

- 上皮バリア
- 血液中エフェクター細胞
- 血液中エフェクタータンパク
- サイトカイン

上皮バリア

- 微生物（外界）と生体
の間の物理的な障壁
- 皮膚と粘膜（消化器・
呼吸器）から成り、上
皮 epithelium で覆わ
れる。
- 抗菌タンパクや上皮内
リンパ球も含まれる。

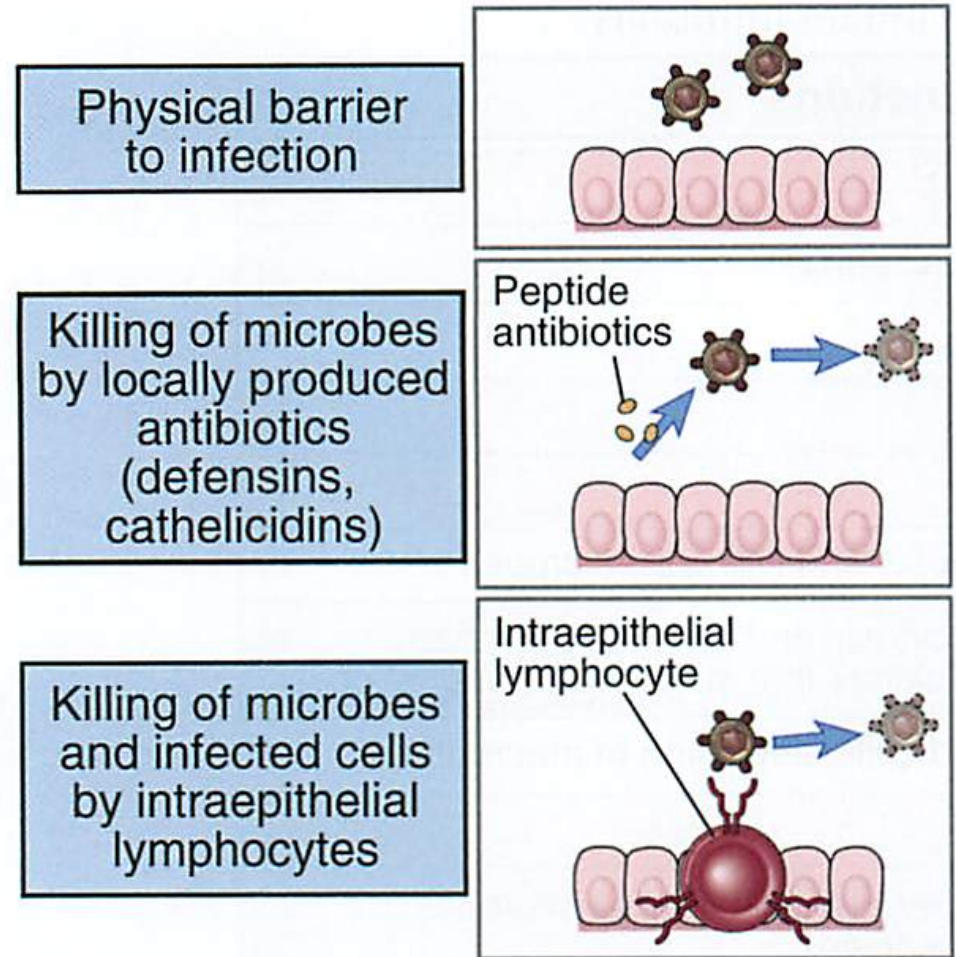


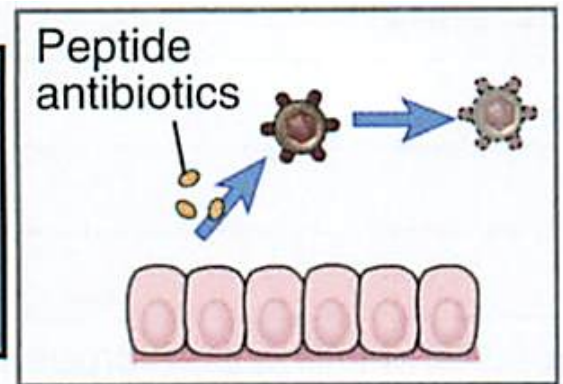
FIGURE 2-3 Epithelial barriers. Epithelia at the portals of entry of microbes provide physical barriers, produce antimicrobial substances, and harbor intraepithelial lymphocytes that are believed to kill microbes and infected cells.

抗菌ペプチド

- 上皮やある種の白血球が産生する抗菌活性があるペプチド。恒常的に産生されているが、細菌の刺激により分泌が亢進するものもある。

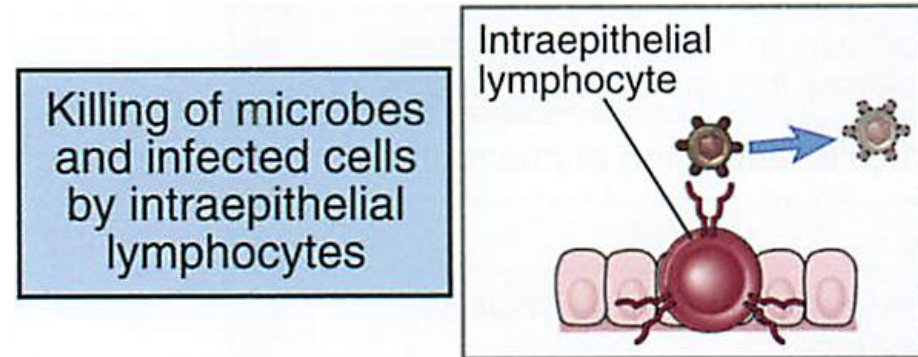
- defensins
- cathelicidins

Killing of microbes by locally produced antibiotics (defensins, cathelicidins)



上皮のリンパ球

- 抗原認識の多様性が限られた特殊なリンパ球が PAMP を認識し、病原体の侵入に備えている。
- 上皮内 T リンパ球 (IEL, intraepithelial lymphocyte)
- B-1 細胞 (腹腔)
- リンパ球ではないが肥満細胞 mast cell も上皮の直下で待機している。



自然免疫のエフェクター細胞

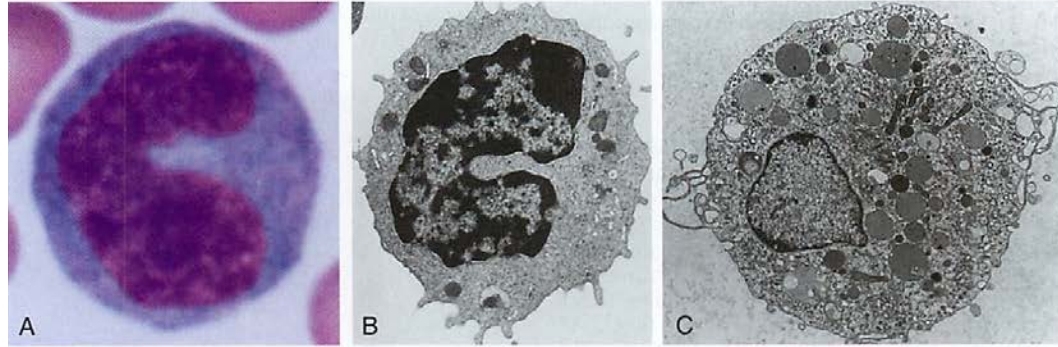
- 好中球 neutrophils
- 単核貪食細胞 mononuclear phagocytes
- 樹状細胞 dendritic cells
- ナチュラルキラー細胞 natural killer (NK) cells
- 自然リンパ球 innate lymphoid cells (ILC)

好中球

- 貪食能を持つ、白血球中最多の細胞。
- 白血球の50-70%。顆粒球の90-95%。
- 分葉した核をもつ。
- 寿命は6時間。毎日 1×10^{11} 個 (100ml) が作られる。
- 細胞質には2種類の顆粒が含まれる。
 - specific granule 塩基性、酸性染料で染まらない。
 - lysozyme, collagenase, elastase etc.
 - azurophilic granule
 - defensins, cathelicidins



単核貪食細胞



- 微生物や死細胞の貪食が主な仕事。
- 単球 monocyte より分化。組織によって様々な名称で呼ばれる。好中球より長生きで、感染後期に活躍。

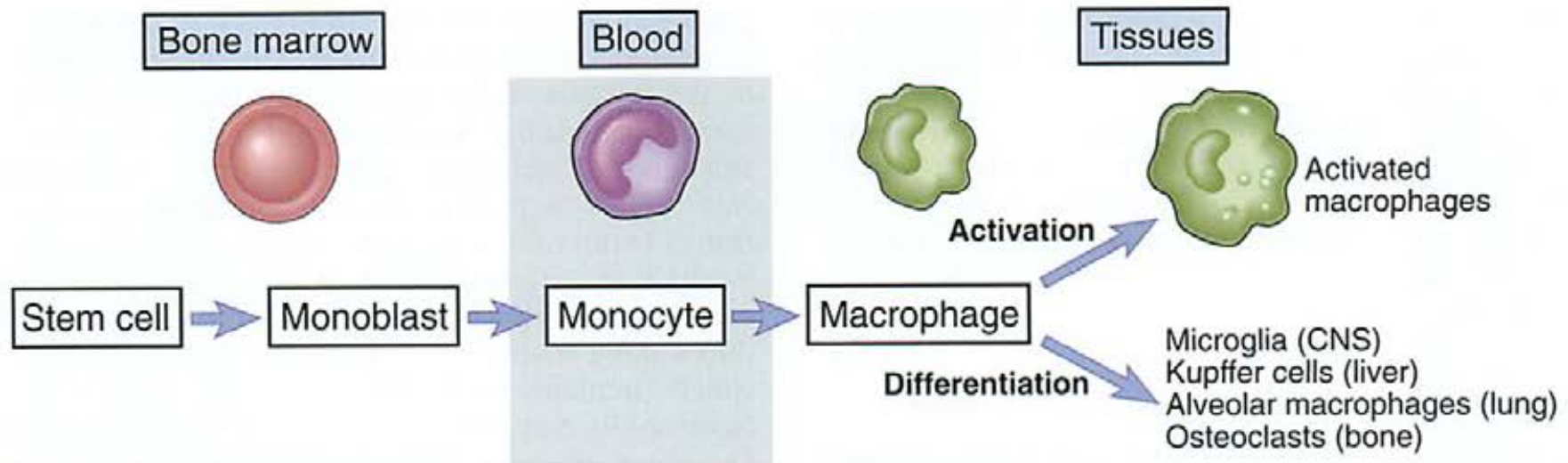
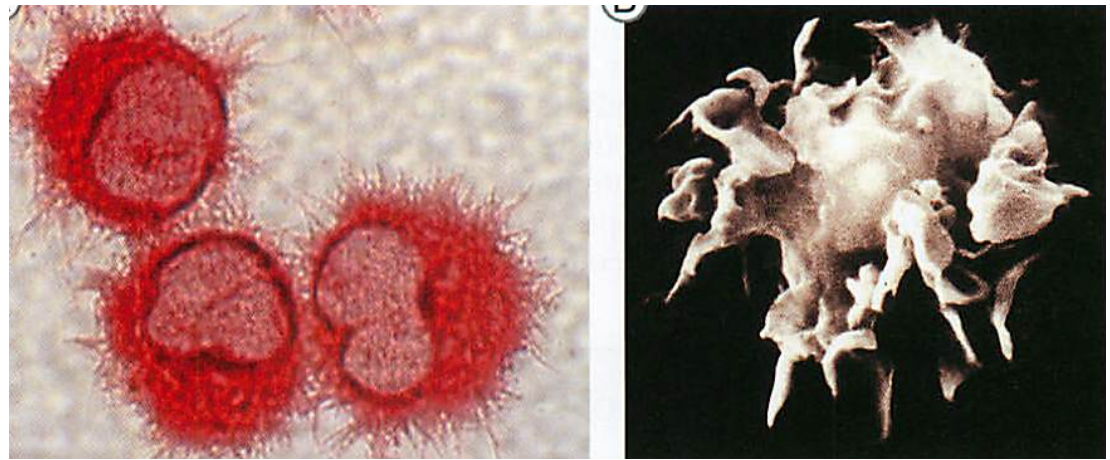


FIGURE 2-5 Maturation of mononuclear phagocytes. Mononuclear phagocytes develop in the bone marrow, circulate in the blood as monocytes, and are resident in all tissues of the body as macrophages. They may differentiate into specialized forms in particular tissues. CNS, central nervous system.

樹状細胞



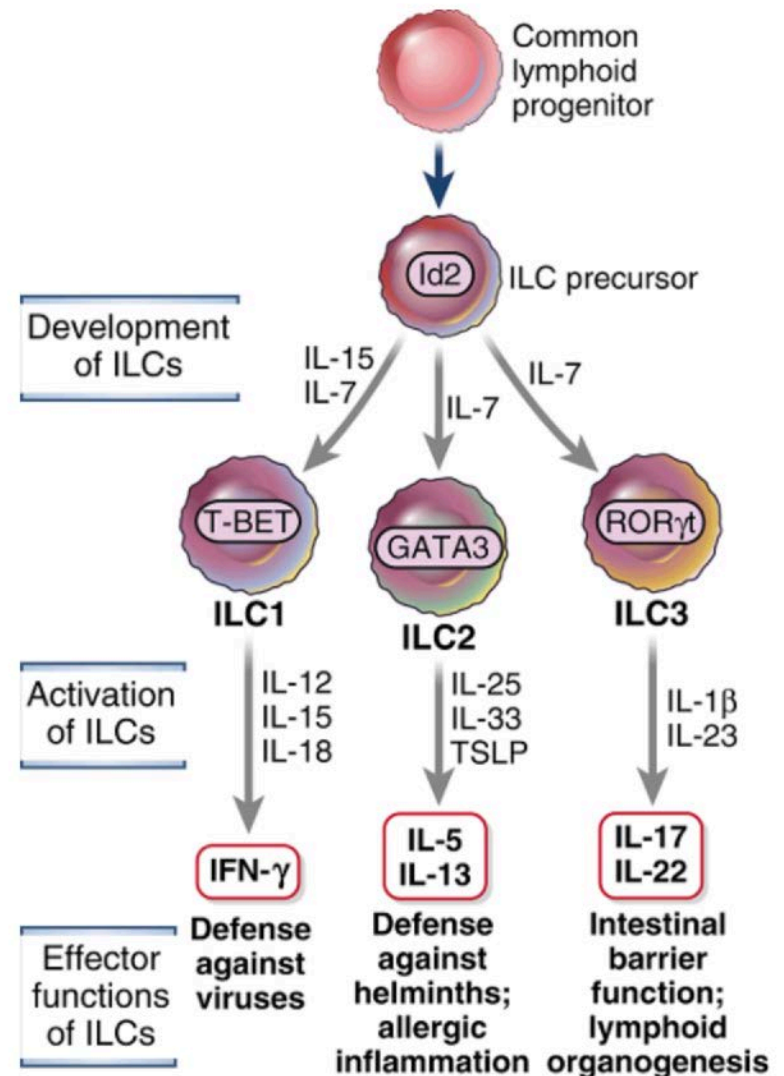
- 単球と共通の前駆細胞から分化。
- 長い突起を多数持ち、貪食能をもつ。
- 微生物を貪食し、サイトカインを分泌。
- 微生物の分解産物を抗原として T 細胞に提示。
- 形質細胞様樹状細胞 plasmacytoid dendritic cell はウイルス感染に特化した細胞。interferon (IFN)を産生。
- 皮膚上皮（表皮）のランゲルハンス細胞は胎児期に移動を終えた樹状細胞。

ナチュラルキラー(NK)細胞

- 感染細胞や腫瘍細胞が発現する様々なリガンドを認識し殺傷する（活性化シグナル）。
- 殺傷には活性化を必要としない。
- 抑制性シグナルを伝える受容体の働きで正常細胞は攻撃しない。リガンドは MHC class I。

自然リンパ球 ILCs

- サイトカインを産生するリンパ球様細胞。
- 抗原受容体を持たない。
- 数が少ない（リンパ球に比して）。
- 3つのサブセット
ILC1, ILC2, ILC3



適応免疫への橋渡し

- 自然免疫からの入力（シグナル2）が無ければ、適応免疫は発動しない。
 - シグナル1：抗原受容体からのシグナル
 - シグナル2：自然免疫反応により誘導されるリガンドを認識する受容体（**補助刺激受容体**）からのシグナル

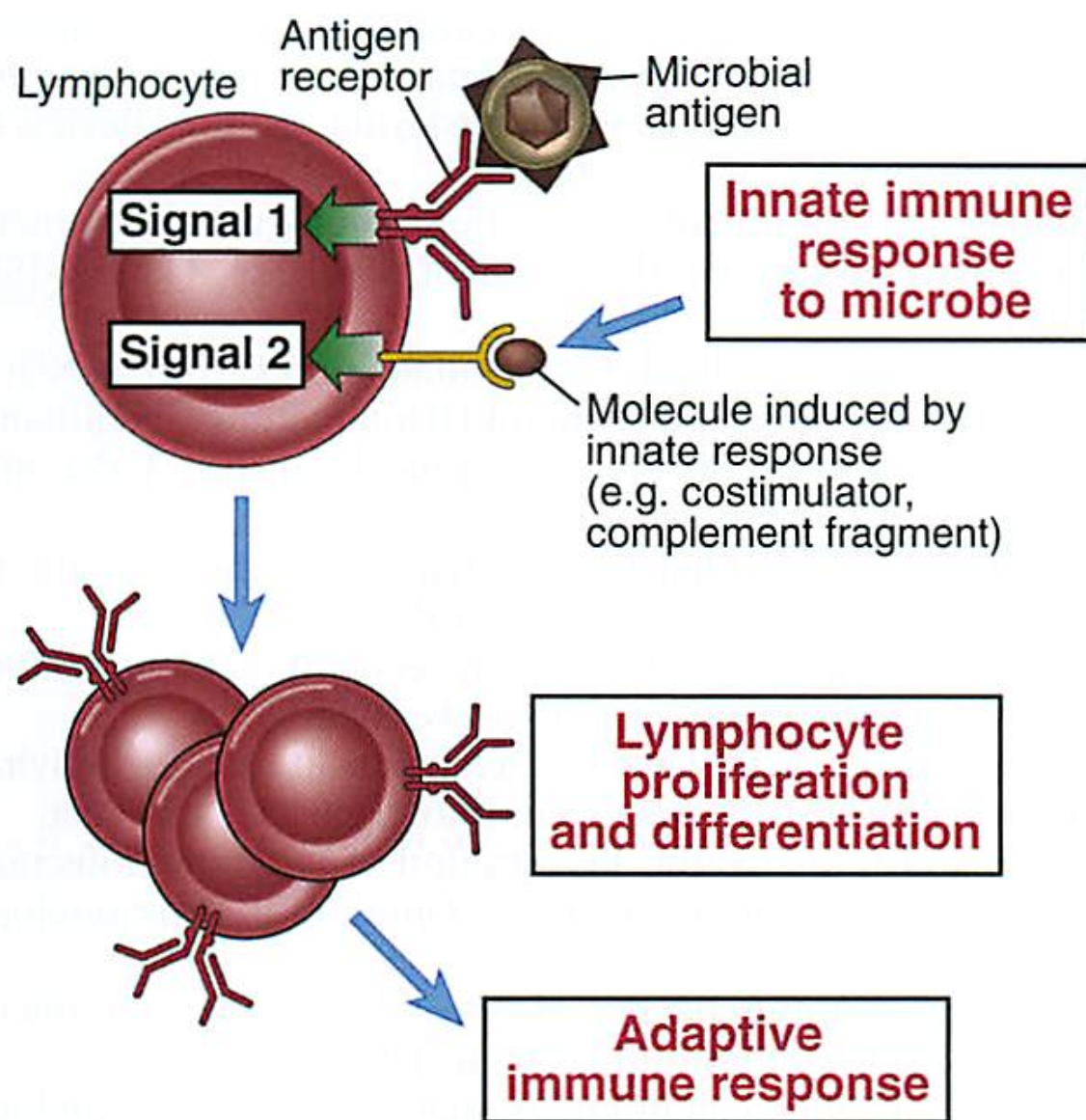


FIGURE 2-13 Stimulation of adaptive immunity by innate immune responses. Antigen recognition by lymphocytes provides signal 1 for the activation of the lymphocytes, and molecules induced on host cells during innate immune responses to microbes provide signal 2. In this illustration, the lymphocytes are B cells, but the same principles apply to T lymphocytes. The nature of second signals differs for B and T cells and is described in later chapters.

Take Home Message

- 免疫は**自然免疫**と**適応免疫**に分けられる。
- 自然免疫は進化的に古く、**感染後即座に**反応する。
- **パターン認識受容体**は限られた多様性を持つ。
- 自然免疫は細菌の**貪食**、補体による**溶菌**、NK細胞による**標的細胞の破壊**が主役。
- 自然免疫と適応免疫は**連携**している。
 - 自然免疫は適応免疫が発動するために必要（シグナル2）。適応免疫が自然免疫を助けることもある（抗体のオプソニン作用）。

適応免疫

- たくさんの種類の病原体に対処
- 侵入ルートは様々
- 侵入部位とは別の場所でも対処
- 一度遭遇した相手を記憶
- 抗体を介してその記憶を母から子へ伝える

適応免疫

- 細胞
 - リンパ球
 - 抗原提示細胞
- リンパ組織
 - 骨髄、胸腺、リンパ節、脾臓、皮膚、粘膜

リンパ組織

- 骨髄 - 造血（免疫細胞もここから）、形質細胞による抗体産生。
- 胸腺 - Tリンパ球の教育器官
- リンパ節とリンパ管 - 樹状細胞に捕捉された抗原の収集。Tリンパ球、つぎに、Bリンパ球の活性化。
- 脾臓 - 血液中の抗原に対する免疫。損傷赤血球の除去。

リンパ組織

- 抗原の濃縮
- 抗原の提示
- リンパ球の抗原認識と活性化
- 免疫記憶

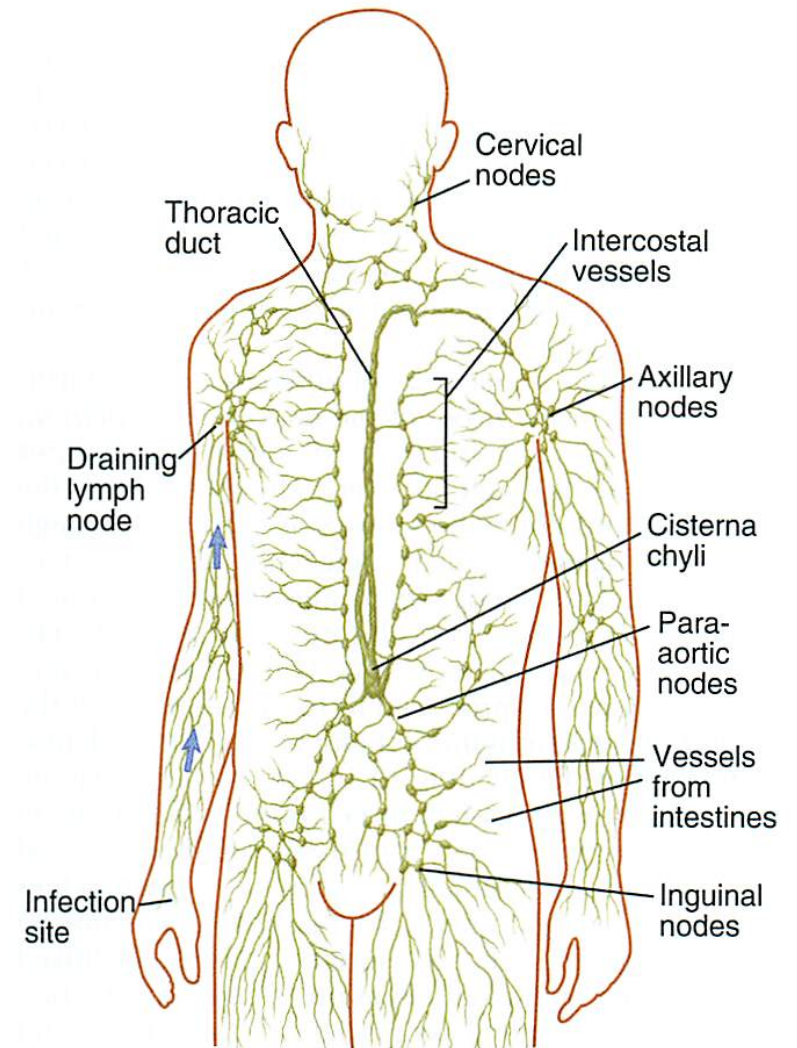
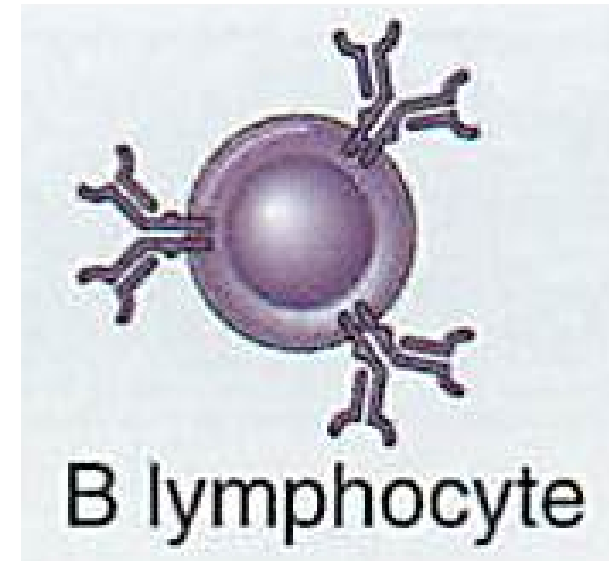


FIGURE 3-8 The lymphatic system. The major lymphatic vessels and collections of lymph nodes are illustrated. Antigens are captured from a site of infection, and the draining lymph node to which these antigens are transported and where the immune response is initiated.

Bone marrow の B
と覚える

Bリンパ球

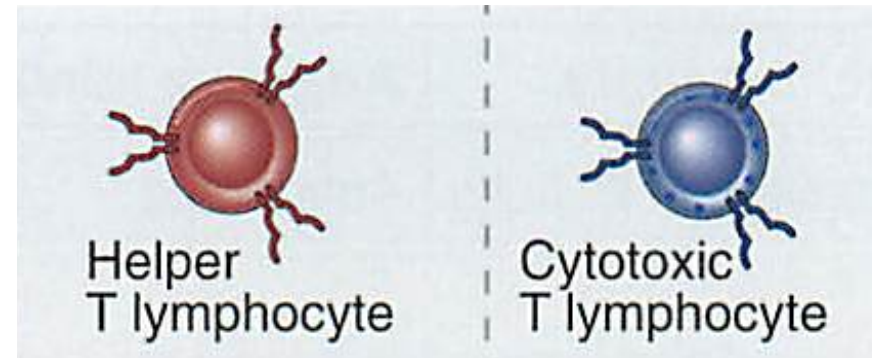


- 抗体を産生する（液性免疫）。
- ニワトリのファブリキウス嚢 the bursa of Fabricius に由来。哺乳類では骨髄 the bone marrow で作られる。
- サブセット
 - follicular, marginal zone, B-1

Thymus の T
と覚える

Tリンパ球

- 細胞性免疫を担当。
- 胸腺 the thymus に由来。
- 抗原受容体に 2 種類。



- $\alpha \beta$ 型

- helper, cytotoxic, regulatory, NKT

- $\gamma \delta$ 型

Bは骨髄で、Tは胸腺で成熟する

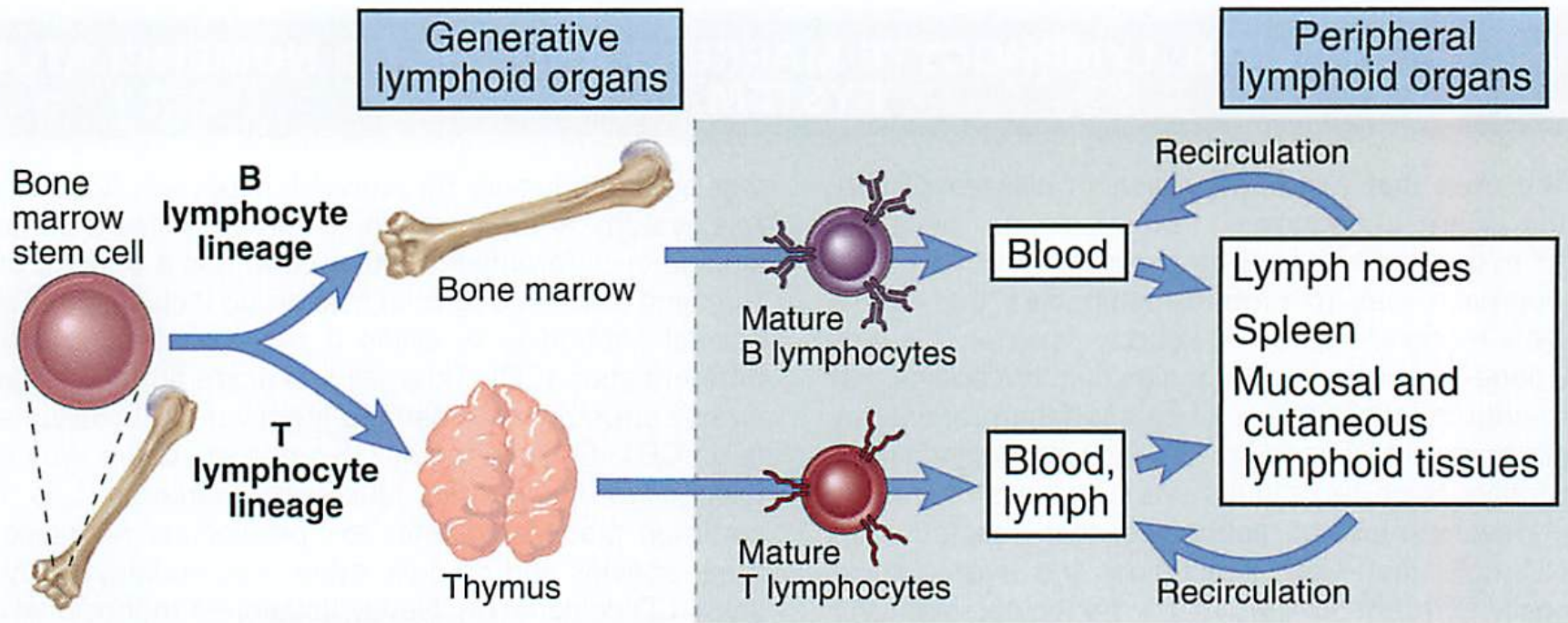


FIGURE 3-2 Maturation of lymphocytes. Mature lymphocytes develop from bone marrow stem cells in the generative lymphoid organs, and immune responses to foreign antigens occur in the peripheral lymphoid tissues.

抗原認識の多様化

- B リンパ球
 - 抗体 antibody (Ab) = 免疫グロブリン immunoglobulin (Ig)
 - V(D)J 組換え
 - 体細胞突然変異
 - クラススイッチ組換え
- T リンパ球
 - T 細胞抗原受容体 T-cell receptor (TCR)
 - V(D)J 組換え

抗体

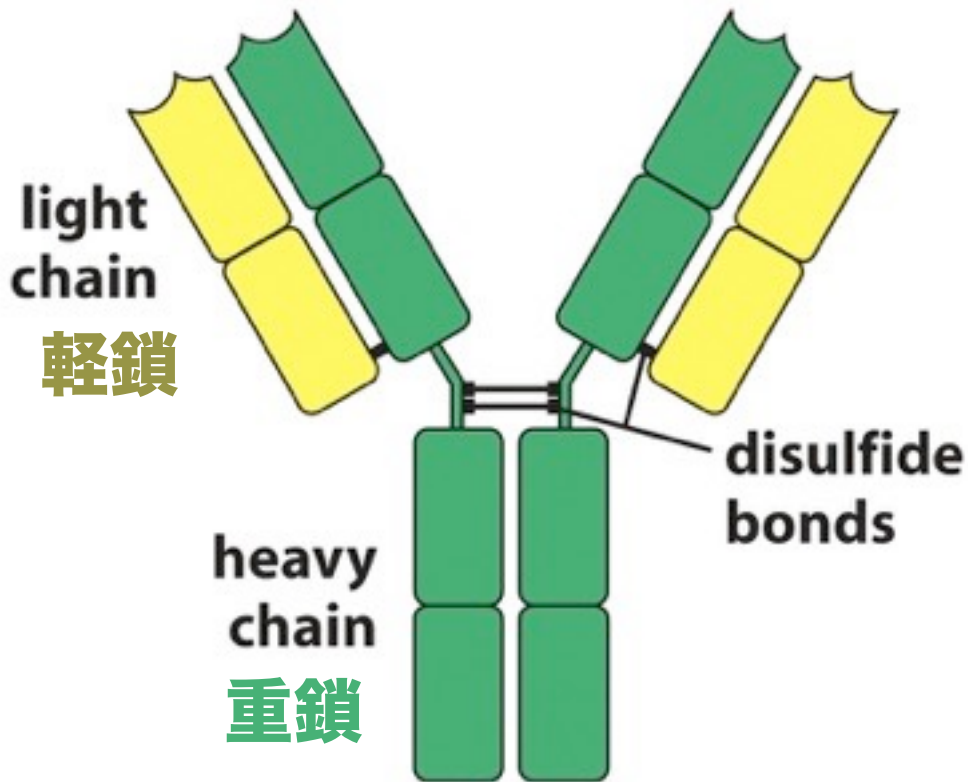
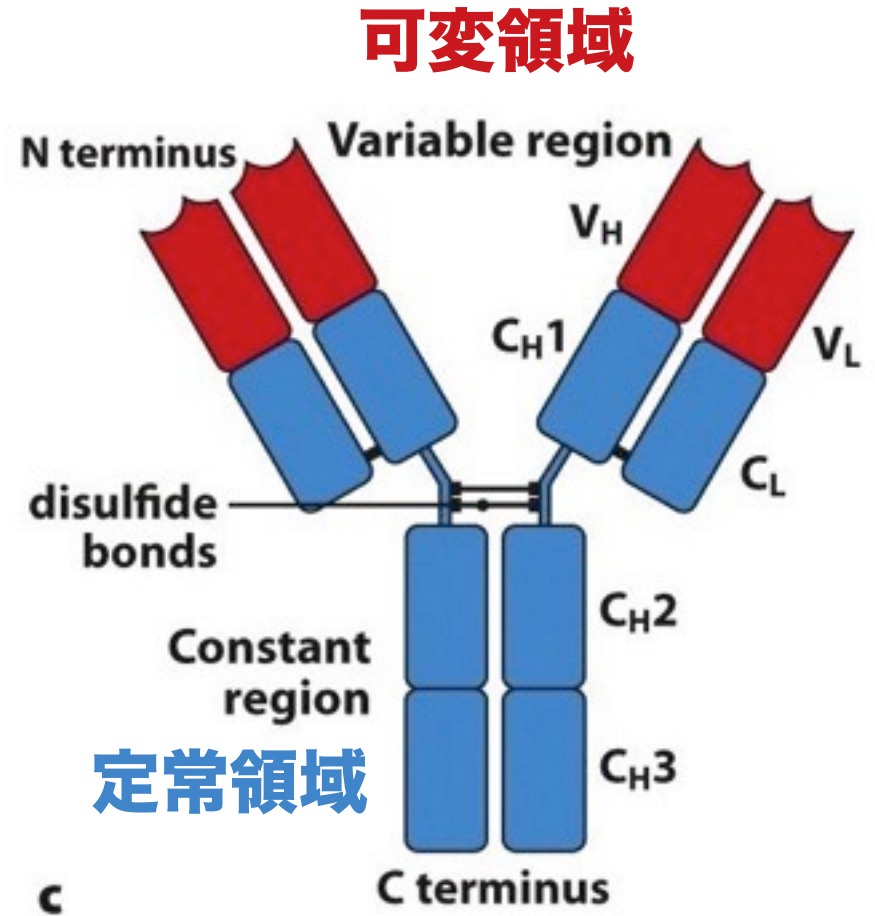


Figure 4.2 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)

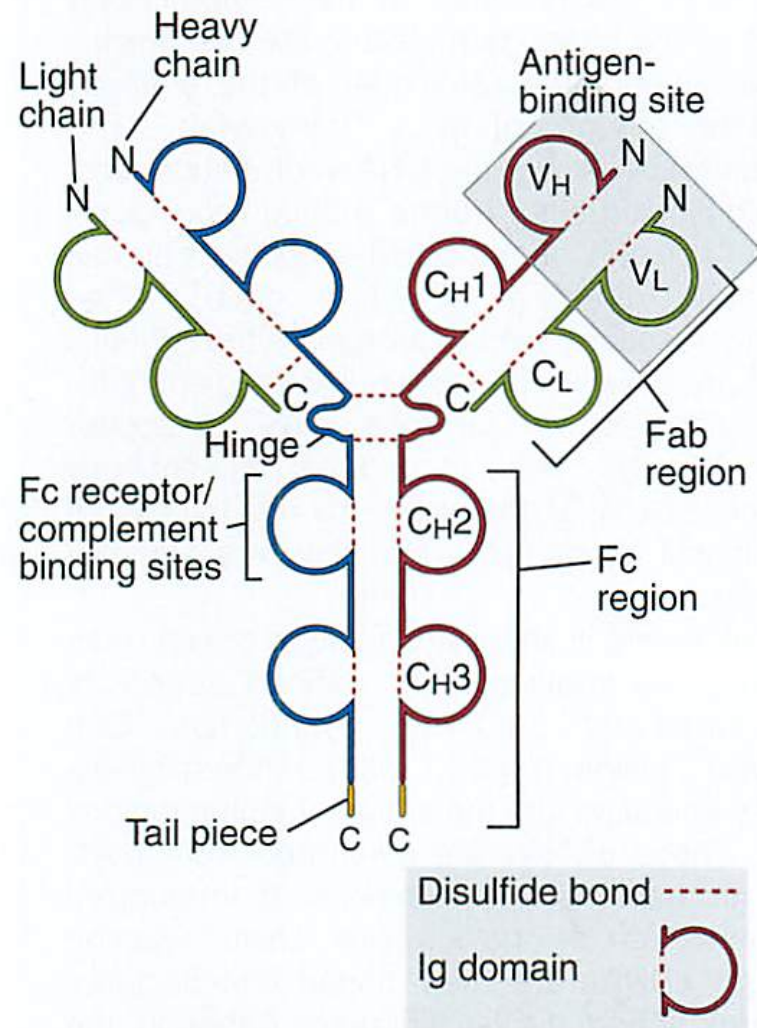


抗体の機能

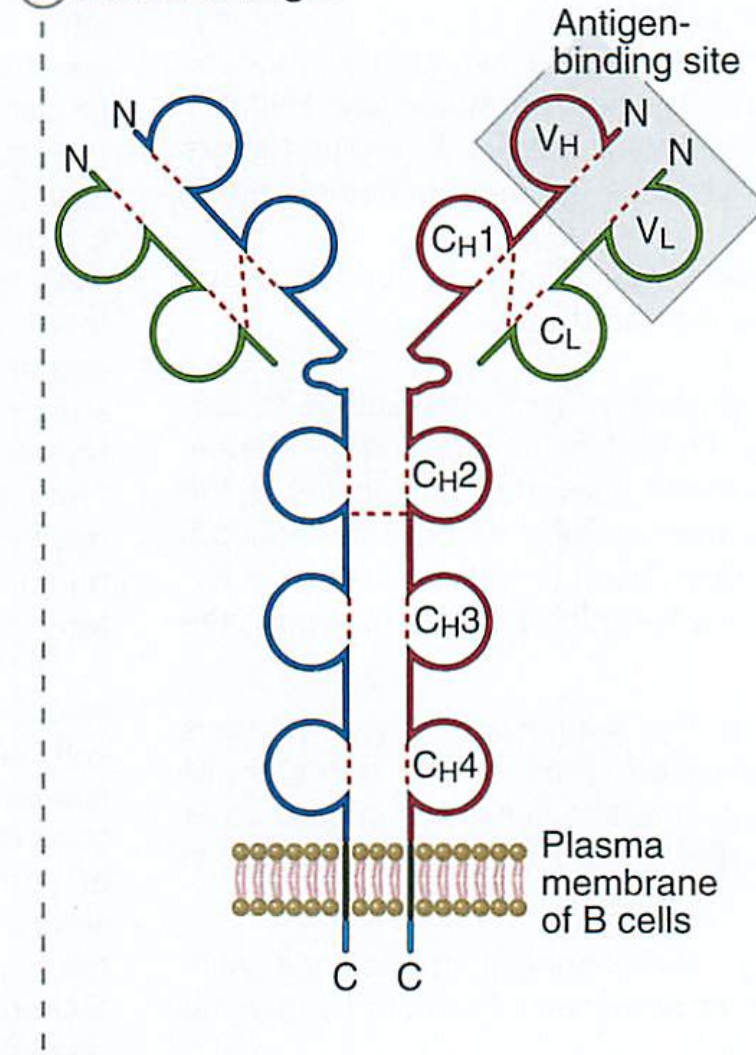
- 可変領域
 - 抗原を結合する。
- 定常領域
 - 抗原の処理方法を決める。
 - アイソタイプ isotype が存在する。
 - 重鎖: $\mu, \delta, \gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4, \epsilon, \alpha_1, \alpha_2$ (クラス、サブクラスとも呼ばれる)
 - 軽鎖: $\kappa(\text{kappa}), \lambda(\text{lambda})$

抗体には膜型と分泌型がある

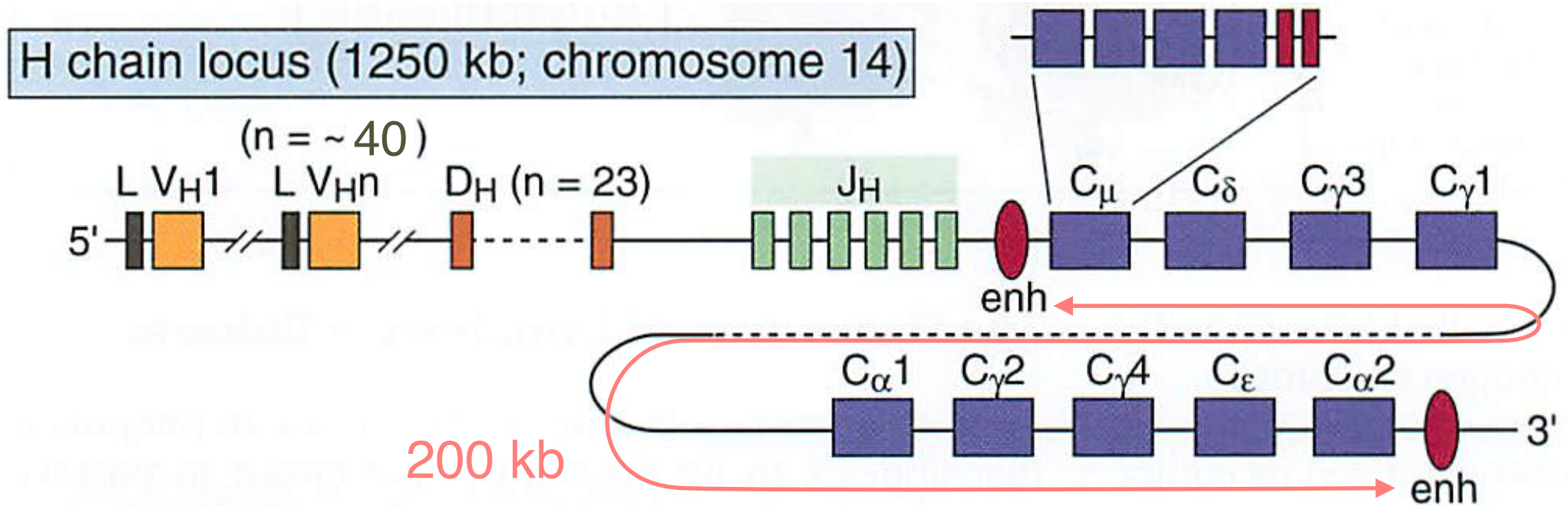
(A) Secreted IgG



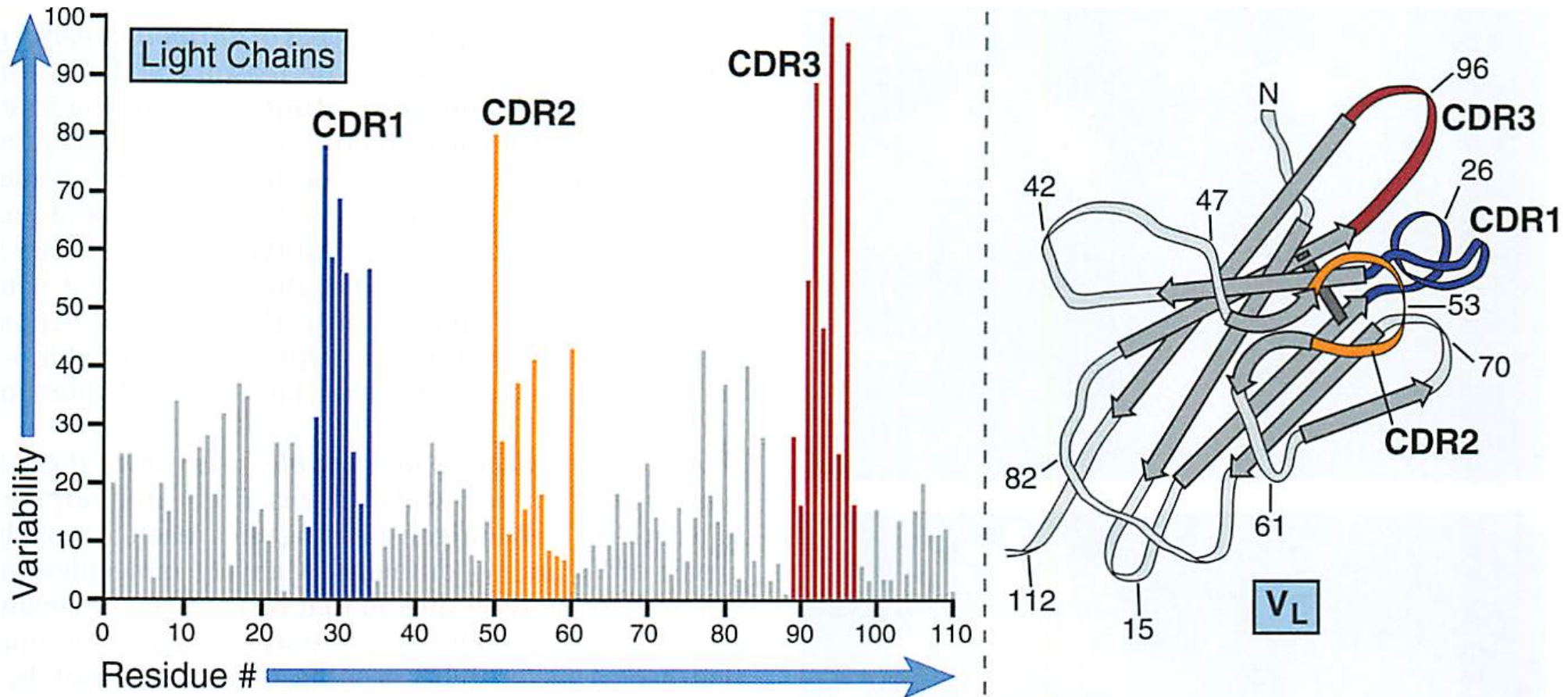
(B) Membrane IgM



重鎖 IgH 遺傳子



体細胞突然變異



complementarity-determining region (CDR)

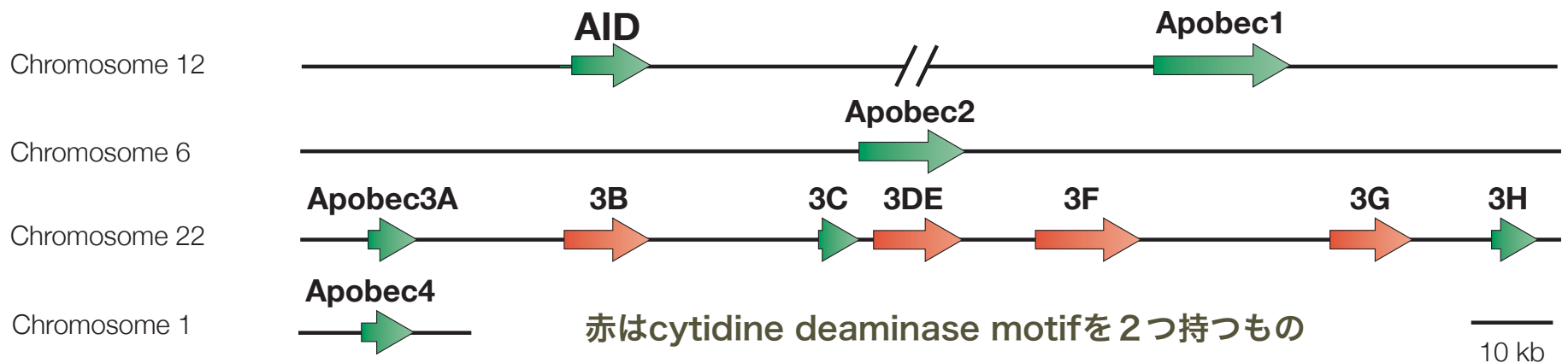
activation-induced cytidine deaminase (AID)

- 体細胞突然変異とクラススイッチ組換えに必須の酵素。
- DNAのシトシンを脱アミノ化して、ウラシルを生成する。DNAのウラシルはDNA修復機構によりシトシンに戻されようとするが、一部、修復されずにさまざまな変異を生む起点となる。
- apolipoprotein B-editing complex (APOBEC)ファミリーの一員。
- 発がんの原因にもなる。
- 軟骨魚類以降のゲノムに存在する。

核酸編集酵素 AID/Apobec ファミリー

Apobec = apolipoprotein B editing complex

species	metabolic cytidine deaminase	AID	Apobec2	Apobec4	Apobec1	Apobec3
yeast	■	—	—	—	—	—
worm	■	—	—	—	—	—
fly	■	—	—	—	—	—
fish	■	■	■	—	—	—
frog	■	■	■	■	—	—
bird	■	■	■	■	—	—
rodent	■	■	■	■	■	1
primate	■	■	■	■	■	7
function	代謝	抗体	?	?	脂質代謝	抗HIV



抗体のクラススイッチ

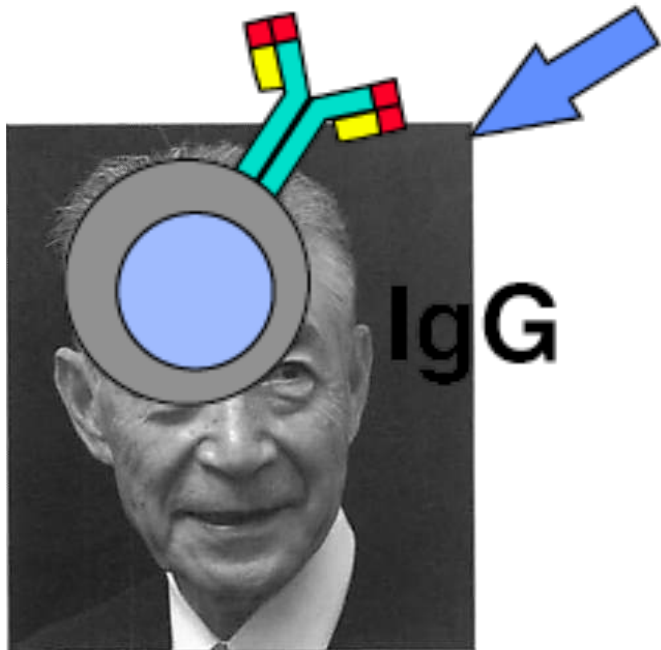
抗原認識

可変領域遺伝子

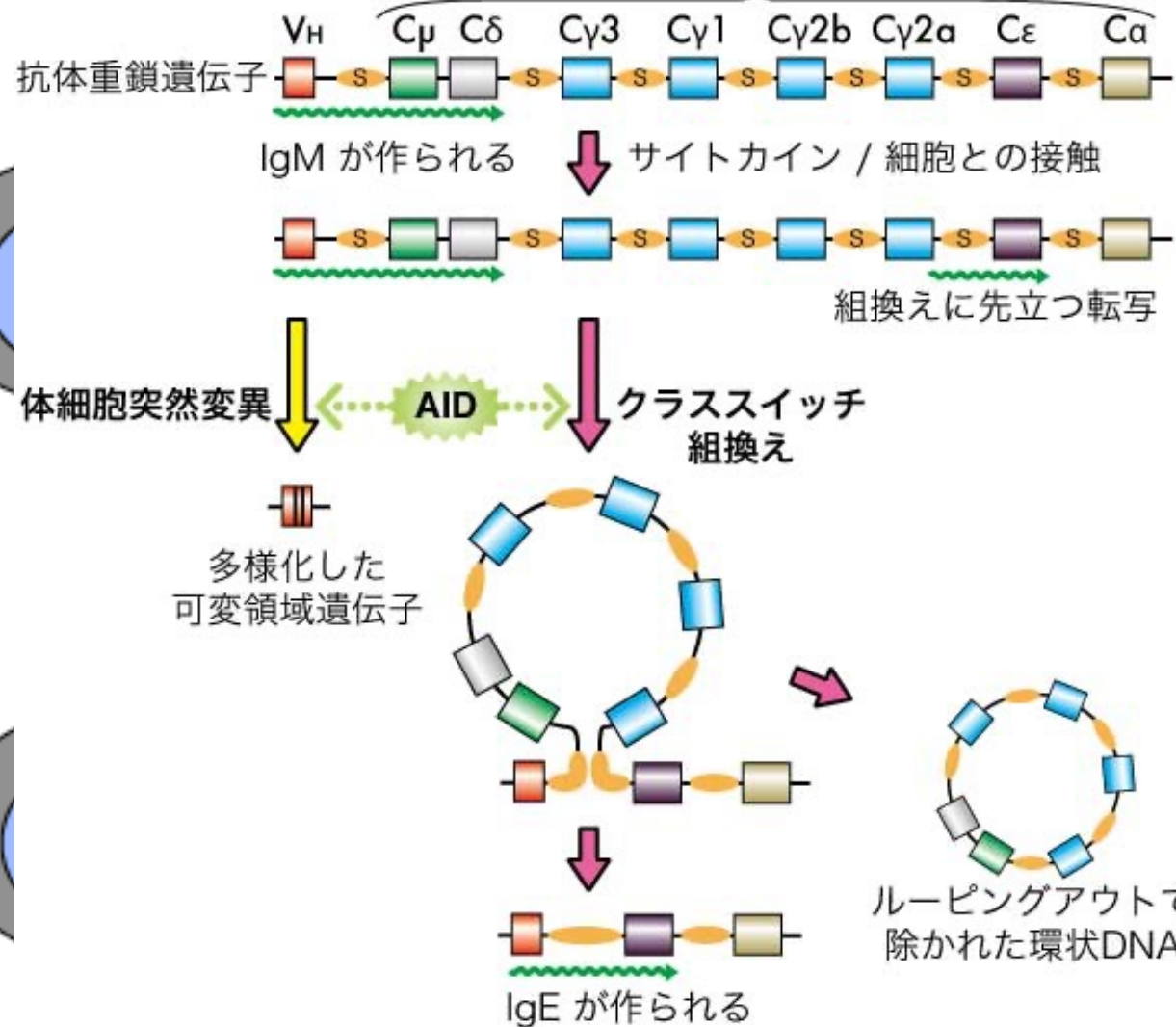
抗原処理の多様化

定常領域遺伝子

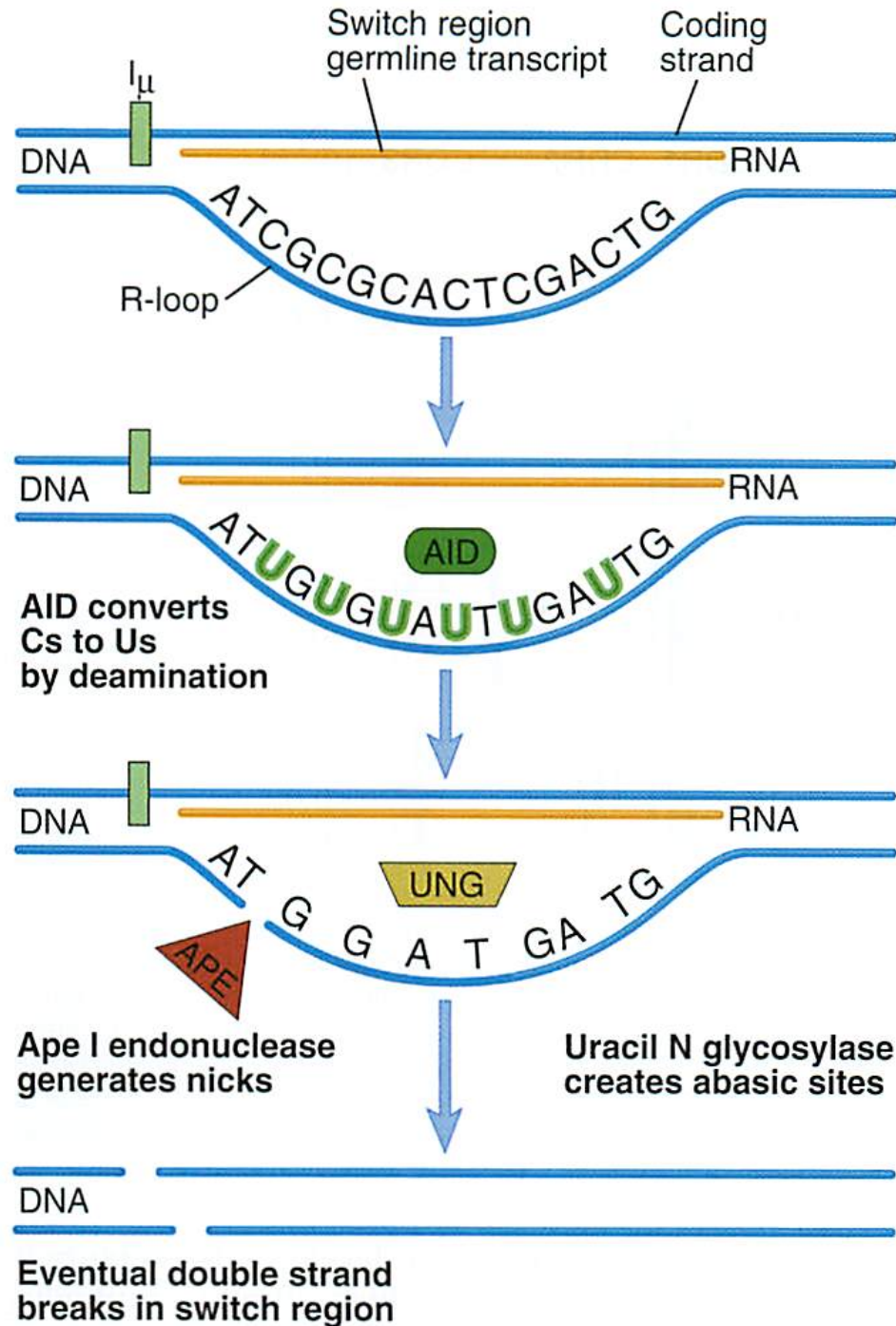
Bリンパ球



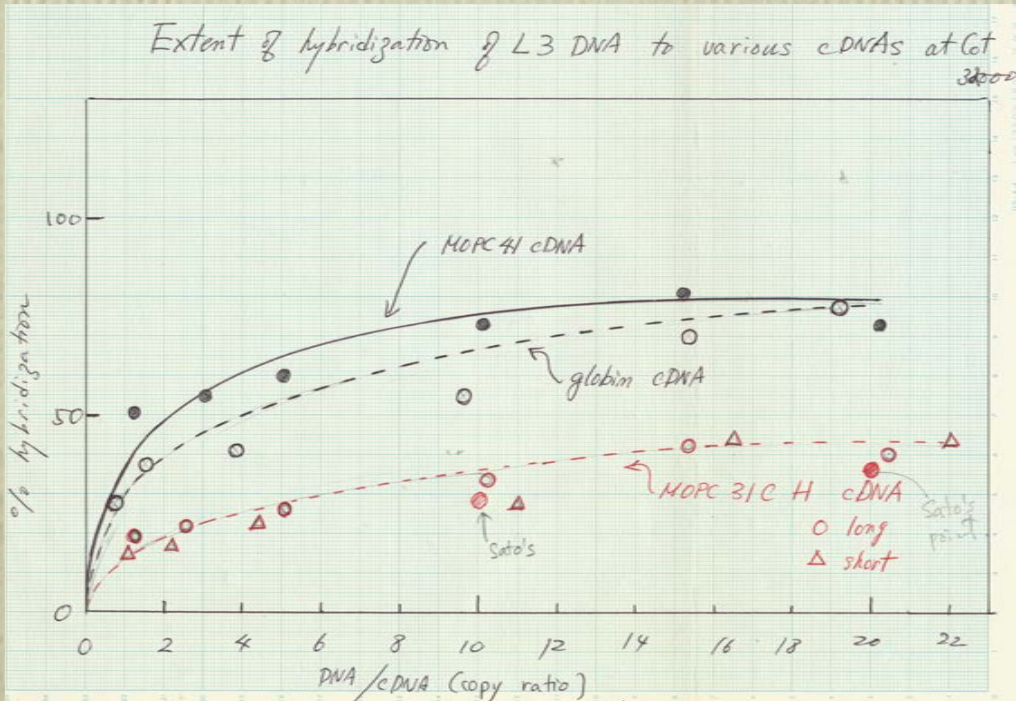
本庶 佑



AIDがDNA二重鎖切断を誘発する



クラススイッチの遺伝子欠失モデル



II-3a

1st Cot	集中	
DNA	δ_3	δ_{2b}
31C	0.5	0.5
90A	0.5	0.5
J606	1.0	1.0
MPC 11 cell	0.5	0.5
MOPC 511	0.5	0.5
liver	1.0	1.0
2nd Cot		
109E	1.0	1.0
31C	1.0	1.0
L3	0.5	0.5
MOPC 315	0.5	0.5
Kidney	1.0	1.0
New Born	1.0	1.0

from notebook by Honjo
 in 1974
 "before cloning" (BC) era

クラススイッチの遺伝子欠失モデル

	relative copy number			
	$\gamma 1$	$\gamma 2a$	$\gamma 2b$	$\gamma 3$
IgG1 producer	1	1	1	0.5
IgG2a producer	0.5	1	0.5	0.5
IgG2b producer	0.5	1	1	0.5
IgG3 producer	1	1	1	1
IgM producer	1	1	1	1
IgA producer	0.5	0.5	0.5	0.5

in 1974

クラススイッチの遺伝子欠失モデル

	relative copy number			
	$\gamma 1$	$\gamma 2a$	$\gamma 2b$	$\gamma 3$
IgM producer	1	1	1	1
IgG3 producer	1	1	1	1
IgG1 producer	1	1	1	0.5
IgG2b producer	0.5	1	1	0.5
IgG2a producer	0.5	1	0.5	0.5
IgA producer	0.5	0.5	0.5	0.5

in 1974

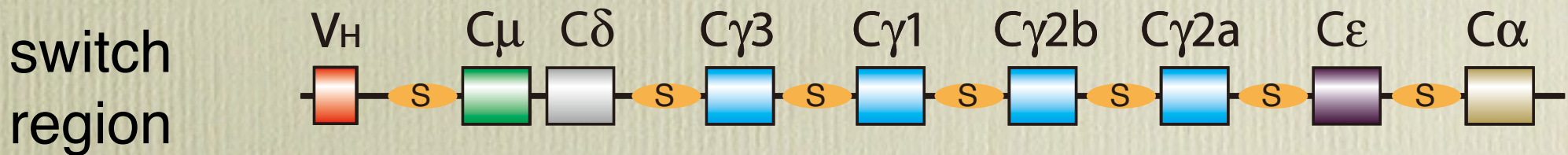
クラススイッチの遺伝子欠失モデル

	relative copy number			
	$\gamma 1$	$\gamma 2a$	$\gamma 2b$	$\gamma 3$
IgM producer	1	1	1	1
IgG3 producer	1	1	1	1
IgG1 producer	1	1	1	0.5
IgG2b producer	0.5	1	1	0.5
IgG2a producer	0.5	1	0.5	0.5
IgA producer	0.5	0.5	0.5	0.5

in 1974

クラススイッチの遺伝子欠失モデル

	relative copy number			
	$\gamma 3$	$\gamma 1$	$\gamma 2b$	$\gamma 2a$
IgM producer	1	1	1	1
IgG3 producer	1	1	1	1
IgG1 producer	0.5	1	1	1
IgG2b producer	0.5	0.5	1	1
IgG2a producer	0.5	0.5	0.5	1
IgA producer	0.5	0.5	0.5	0.5

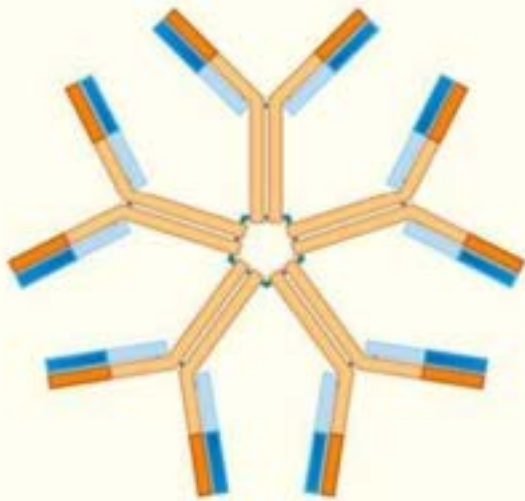


Honjo & Kataoka in PNAS 75: 2140 (1978)

in 1974

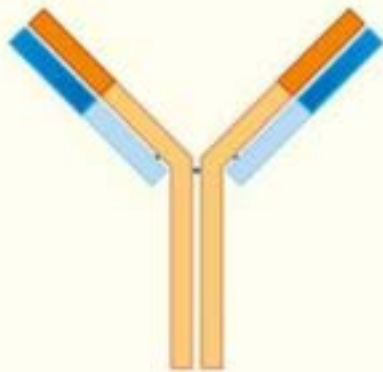
Shimizu & Honjo in Cell 36: 801 (1984)

抗体のクラス



IgM

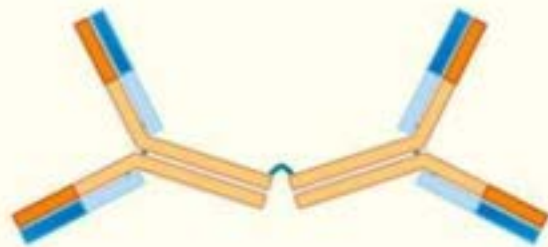
ウイルスや細菌に感染したとき、最初につくられる抗体。全体の約10%を占める。IgMは5つの抗体が結合し合った5量体として存在し、抗原に結合しやすくなっている。IgMがつくられた後にIgGがつくられる。



IgG

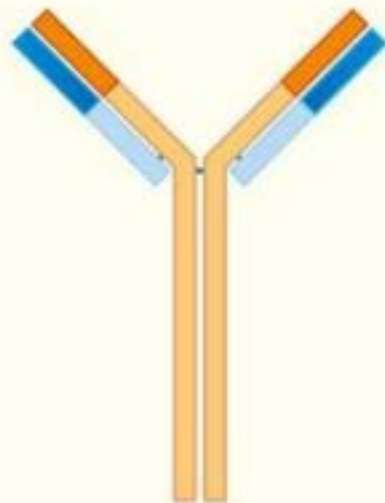
血液中の免疫グロブリン全体の約75%を占め、もっとも多く含まれる。ウイルスや細菌に感染すると、排除するよう攻撃。感染初期にはIgMが攻撃するが、その後、IgMからIgGに産生が変換されて攻撃が続く。

抗体のクラス



IgA

免疫グロブリン全体の約15%を占める。消化管や気道などの粘膜や唾液中に存在し、ウイルスや細菌の感染を予防するように働く。分泌型IgAとして初乳にも含まれる。血液中のIgAは通常の1量体だが、粘膜や初乳中に存在するIgAは2量体である。



IgE

全体の0.001%以下という、もっとも含まれる量が少ない抗体。アレルギー抗体とも呼ばれる。花粉やダニ、食物の一部などの抗原に結合し、喘息やかゆみなどのアレルギー反応を引き起こす。もともとは寄生虫などに対する抗体であると考えられている。

選択的スプライシングによる分泌型/膜型の転換

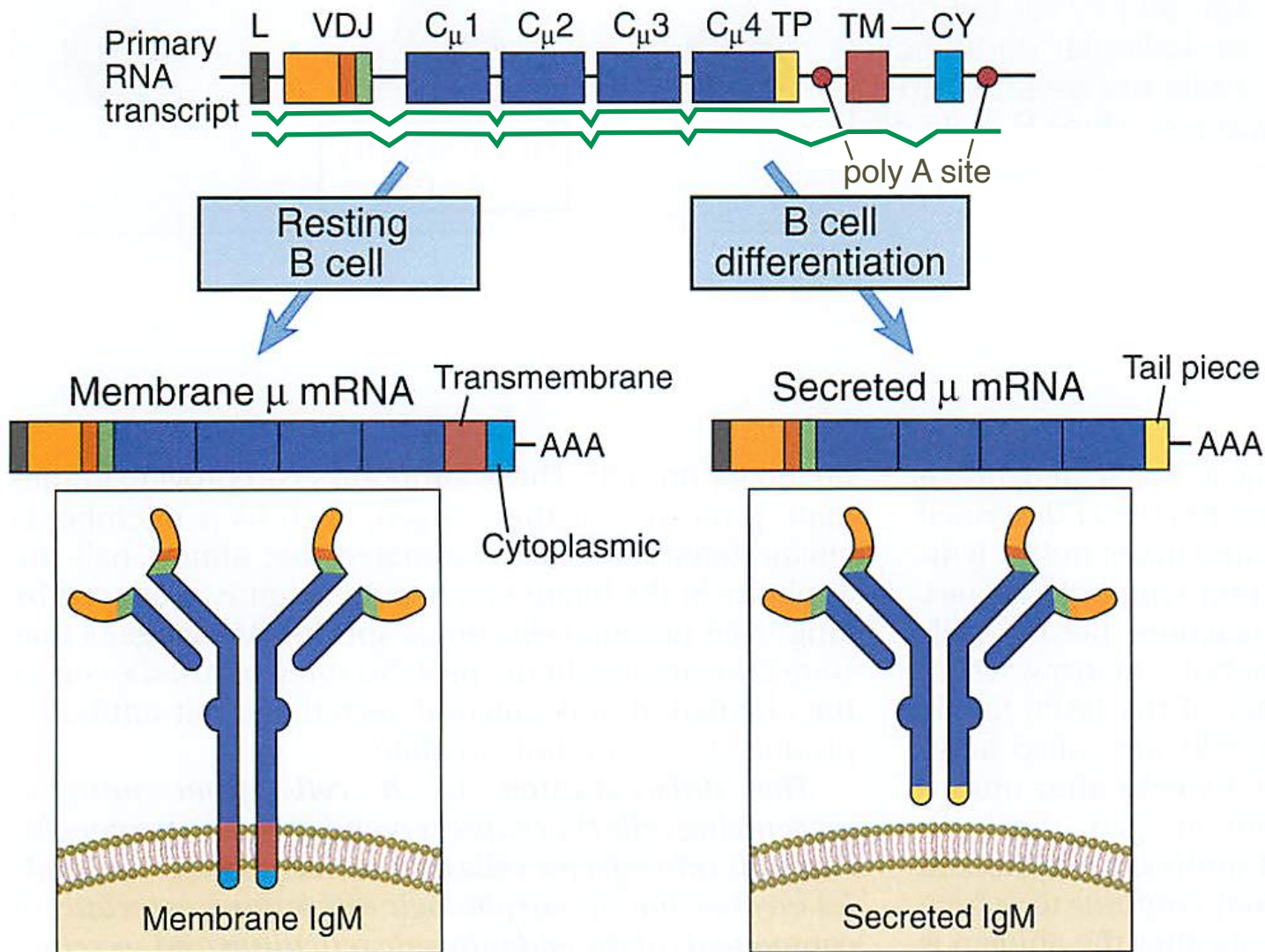
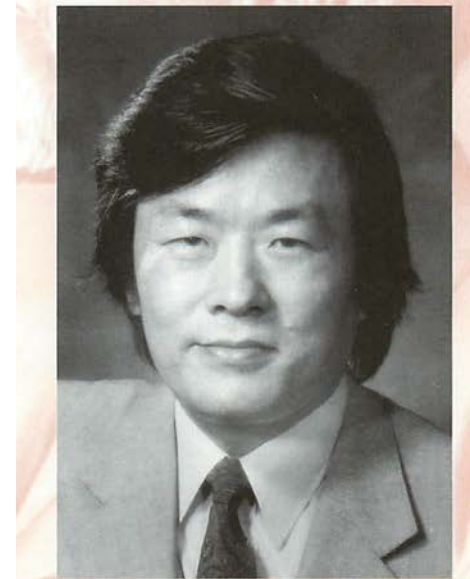


FIGURE 10-18 Production of membrane and secreted μ chains in B lymphocytes. Alternative processing of a primary RNA transcript results in the formation of mRNA for the membrane or secreted form of the μ heavy chain. B cell differentiation results in an increasing fraction of the μ protein produced as the secreted form. TP, TM, and CY refer to tail piece, transmembrane, and cytoplasmic segments, respectively. $C_{\mu}1$, $C_{\mu}2$, $C_{\mu}3$, and $C_{\mu}4$ are four exons of the C_{μ} gene.

抗体の多様化まとめ

- V遺伝子の組換えは RAGタンパク
- V遺伝子の突然変異は AID タンパク
 - 無限種類の抗原認識を可能に
- C遺伝子のクラススイッチも AID タンパク
 - 抗体機能は複数種類のモジュールを付け替えることで変換できる



Susumu Tonegawa (1939~)
1987 年度ノーベル生理学・医学賞受賞
©The Nobel Foundation



本庶 佑 (1942~)

2018年度ノーベル生理学・医学賞受賞

T 細胞抗原受容体

- お皿(MHC)の上に抗原を載せて認識する。
- 体細胞突然変異、クラススイッチはない！
- 分泌型もない！

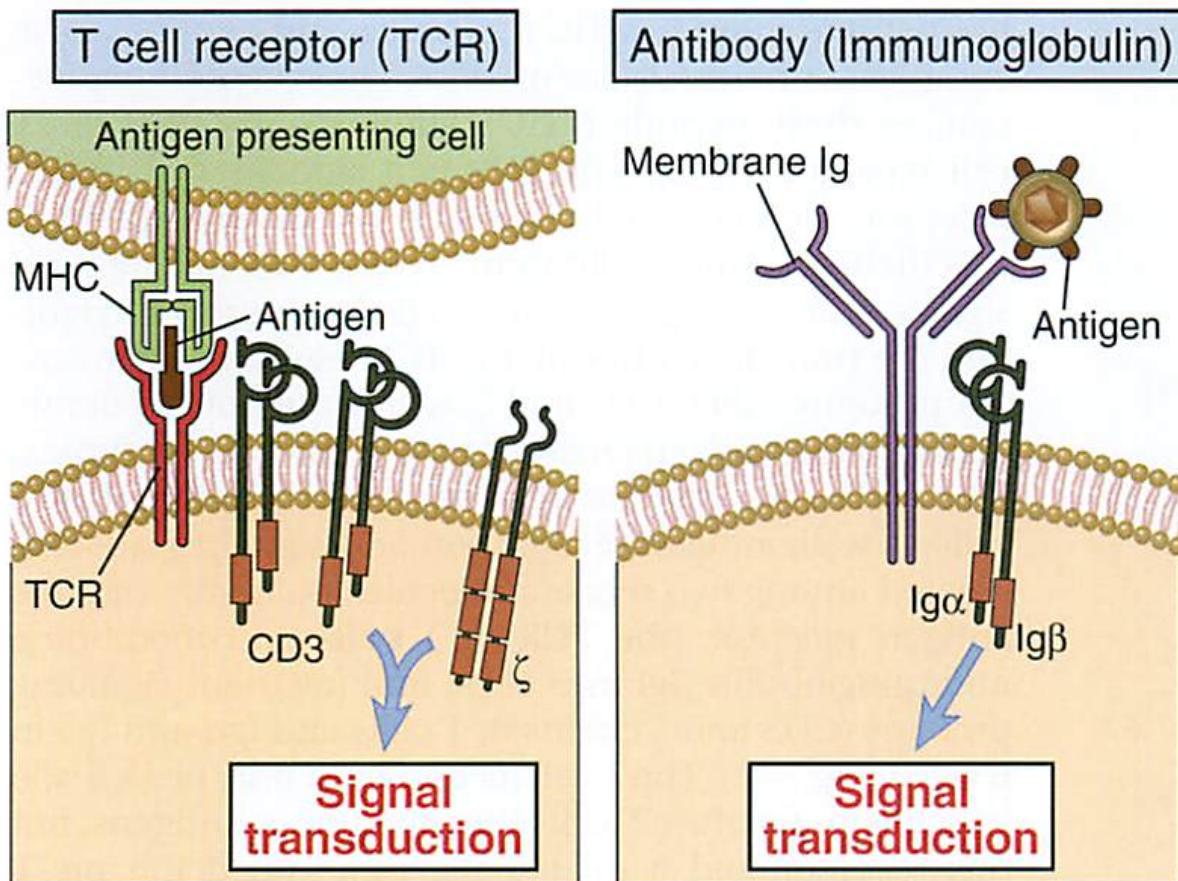


FIGURE 7-2 Antigen recognition and signaling functions of lymphocyte antigen receptors. The antigen recognition and signaling functions of antigen receptors are mediated by distinct proteins of the antigen receptor complex. When TCR or Ig molecules recognize antigens, signals are delivered to the lymphocytes by proteins associated with the antigen receptors. The antigen receptors and attached signaling proteins form the T and B cell receptor complexes. Note that single antigen receptors are shown recognizing antigens, but signaling requires the cross-linking of two or more receptors by binding to adjacent antigen molecules.

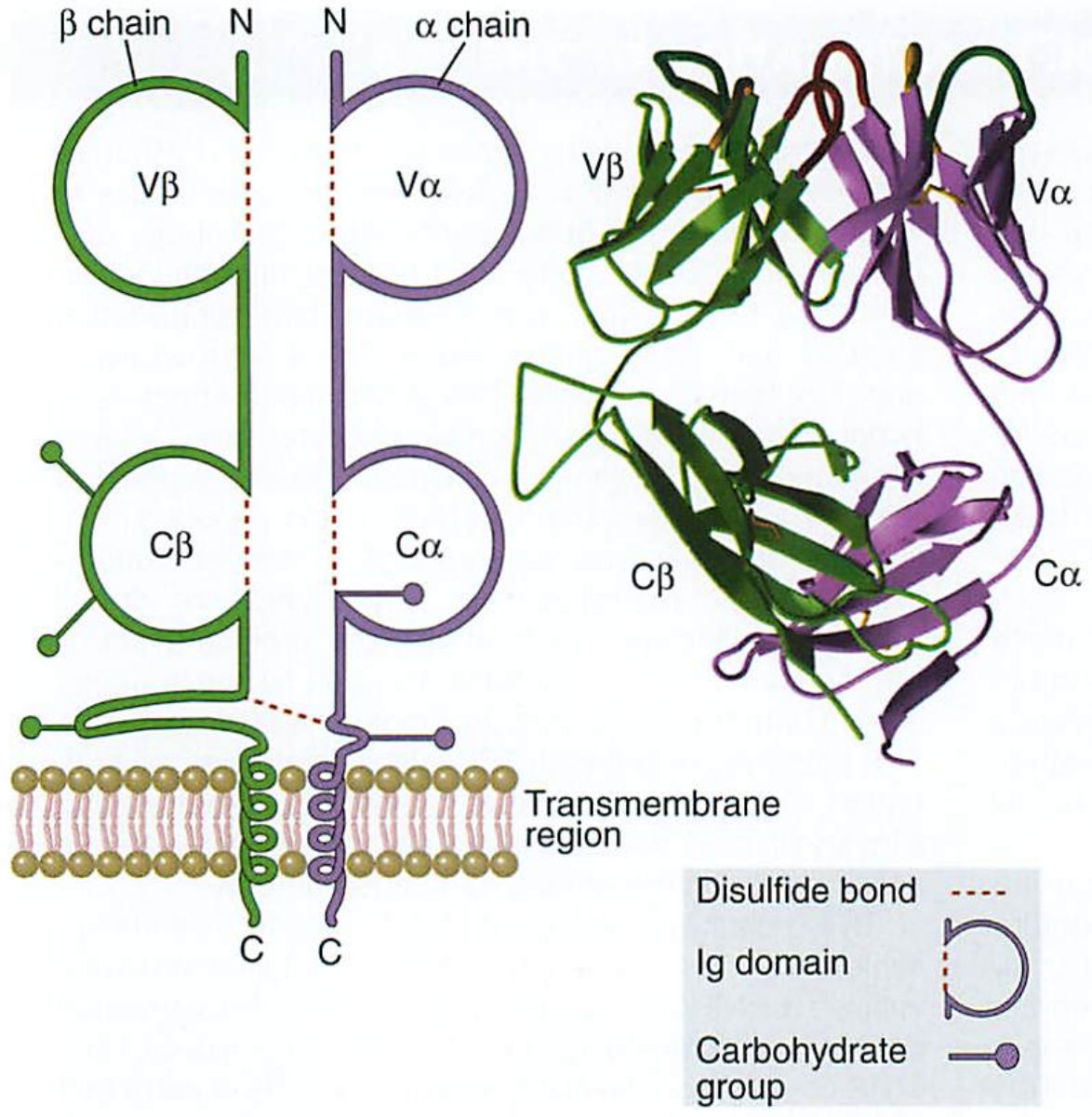
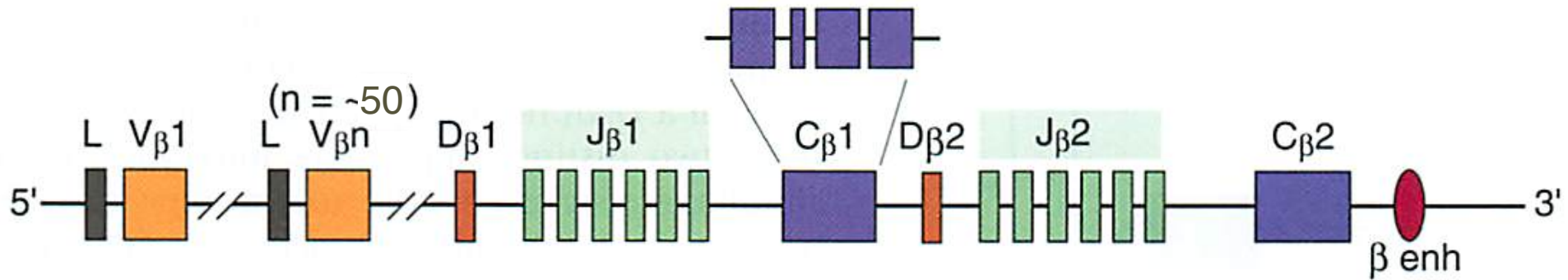
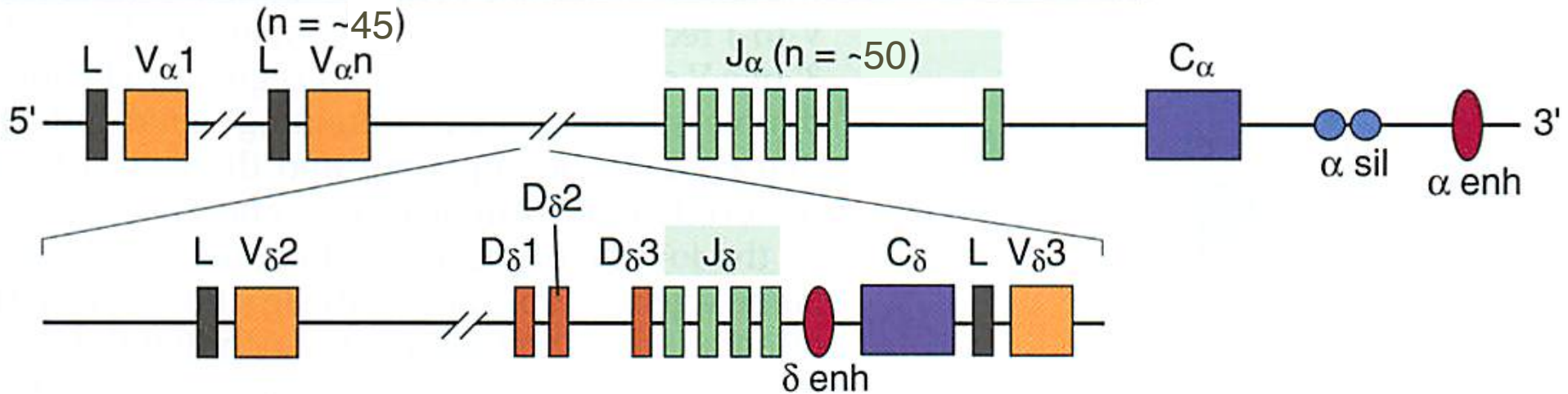


FIGURE 7-3 Structure of the T cell receptor. The schematic diagram of the $\alpha\beta$ TCR (*left*) shows the domains of a typical TCR specific for a peptide-MHC complex. The antigen-binding portion of the TCR is formed by the V_α and V_β domains. The ribbon diagram (*right*) shows the structure of the extracellular portion of a TCR as revealed by x-ray crystallography. The hyper-variable segment loops that form the peptide-MHC binding site are at the top. (Adapted from Bjorkman PJ. MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions. *Cell* 89:167-170, 1997. Copyright Cell Press.)

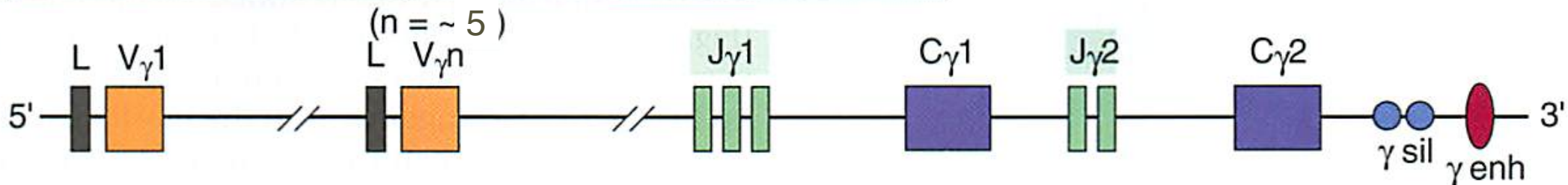
Human TCR β chain locus (620 kb; chromosome 7)



Human TCR α , δ chain locus (1000 kb; chromosome 14)



Human TCR γ chain locus (200 kb; chromosome 7)



対立アレル排除

allele = 遺伝子座

- IgH, IgL とともに父方母方2アレルのうち、1アレルしか発現しない。BおよびT細胞はただ1種類の抗原受容体しか発現しない。
- 細胞の選択が、即ち、抗原受容体の選択に直結する。
- その機構は複雑で、かなり解明が進んでいるが、謎も残されている。

免疫寛容 immune tolerance

- 自己に反応しないように、自己を認識するリンパ球を抑制する仕組み。
- Tリンパ球の免疫寛容が大切。
- 2種類ある。
 - 中枢性 central
 - 自己反応性Tリンパ球を生まれた直後に殺す。
 - 末梢性 peripheral
 - 自己反応性Tリンパ球を抑制する。

抗原提示細胞

- 微生物／抗原を貪食し、消化する。その断片を class II MHC というお皿に載せて T 細胞に提示する。
 - 樹状細胞
 - マクロファージ
 - Bリンパ球

普通の細胞の抗原提示

- 赤血球を除くすべての細胞は細胞質（自分自身またはウイルス由来）のタンパクの断片を class I MHC にのせて T 細胞に提示する。
- 免疫寛容機構の働きで T 細胞は自分の細胞の抗原には反応しない。
- T細胞はウイルスに感染した細胞を認識し殺す。
 - ある種のウイルス／腫瘍細胞はclass I MHC が表面にでないようにできる。T 細胞はこれを認識できない。その場合は……

主要組織適合性複合体 (MHC)

- major histocompatibility complex の翻訳。主要組織適合性抗原とも。
- ヒトでは human leukocyte antigen (HLA)とも呼ばれる。
- 2種類ある。
 - class I: キラーT細胞により認識される。CD8 を補助受容体とする。
 - class II: ヘルパーT細胞により認識される。CD4 を補助受容体とする。

MHCの構造



Class I MHC

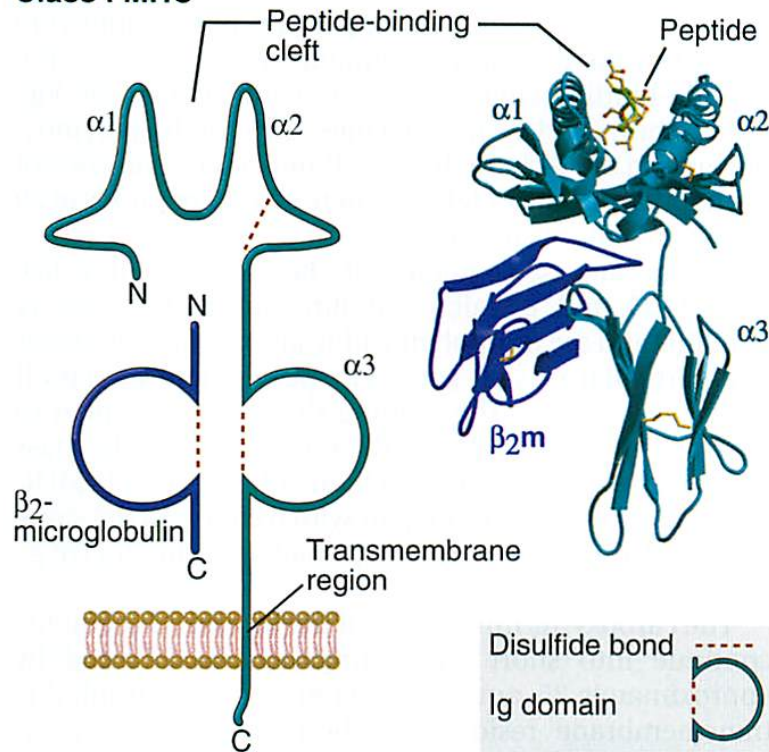
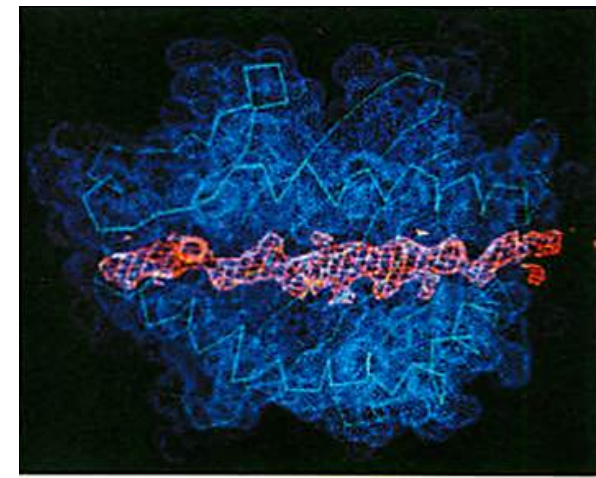


FIGURE 5-4 Structure of a class I MHC molecule. The schematic diagram (*left*) illustrates the different regions of the MHC molecule (not drawn to scale). Class I molecules are composed of a polymorphic α chain noncovalently attached to the nonpolymorphic β_2 -microglobulin (β_2m). The α chain is glycosylated; carbohydrate residues are not shown. The ribbon diagram (*right*) shows the structure of the extracellular portion of the HLA-B27 molecule with a bound peptide, resolved by x-ray crystallography. (Courtesy of Dr. P. Bjorkman, California Institute of Technology, Pasadena, California.)



Class II MHC

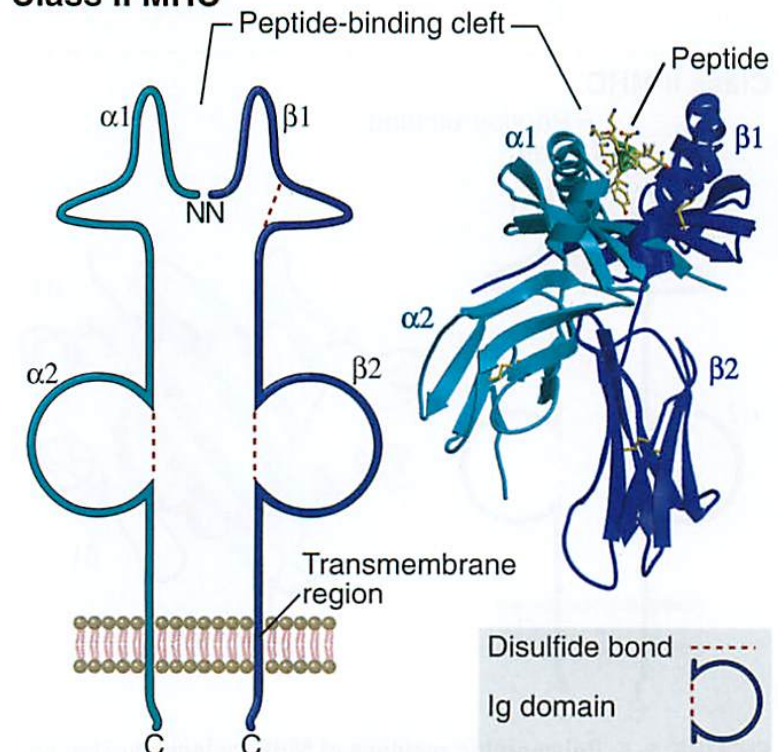
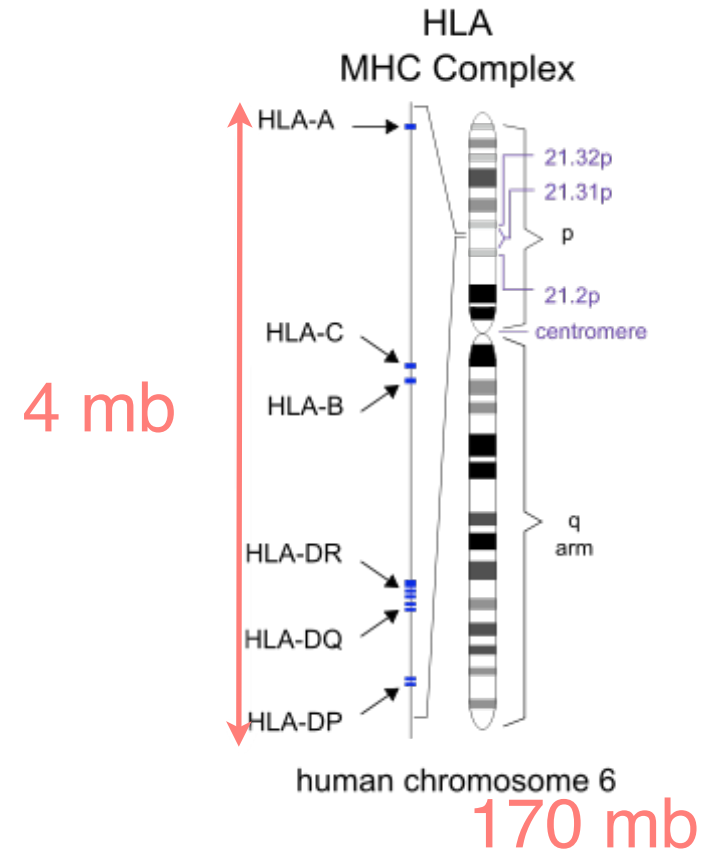


FIGURE 5-6 Structure of a class II MHC molecule. The schematic diagram (*left*) illustrates the different regions of the MHC molecule (not drawn to scale). Class II molecules are composed of a polymorphic α chain noncovalently attached to a polymorphic β chain. Both chains are glycosylated; carbohydrate residues are not shown. The ribbon diagram (*right*) shows the structure of the extracellular portion of the HLA-DR1 molecule with a bound peptide, resolved by x-ray crystallography. (Courtesy of Dr. P. Bjorkman, California Institute of Technology, Pasadena, California.)

MHCの多様性

- HLA class I: 3種類 (A, B, C)
- HLA class II: 3種類 (DP, DQ, DR)
- 多型によって頻度に違いがあり、日本人上位10アレルの合計頻度は A: 97%, B 74%, C 95%, DPA1 100%等。 http://hla.or.jp/med/frequency_search/ja/allele/

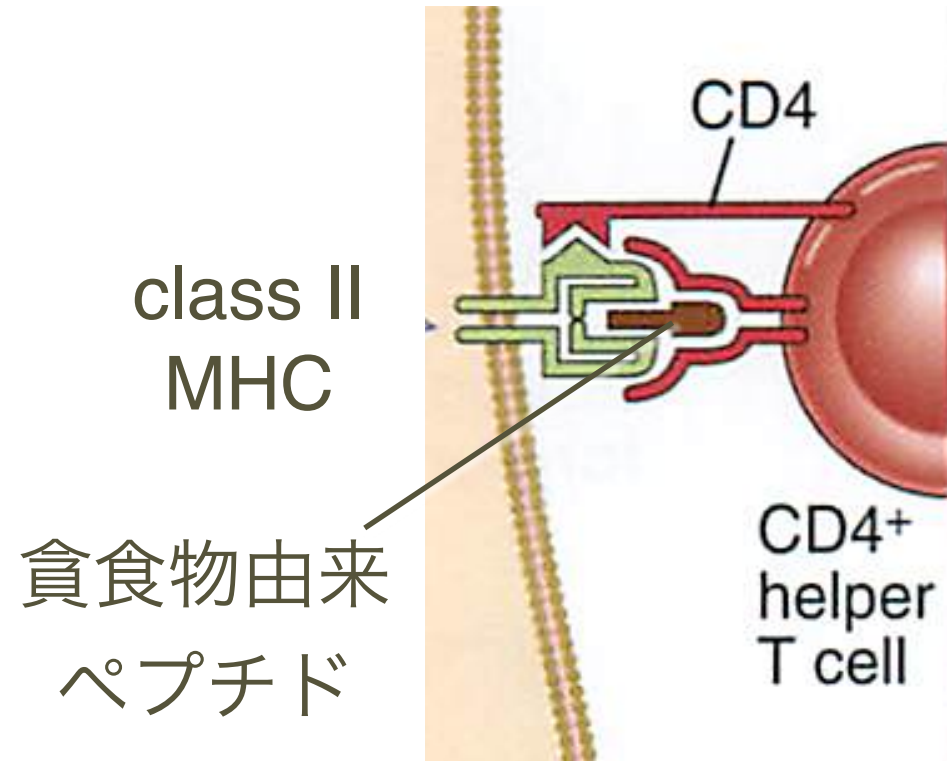
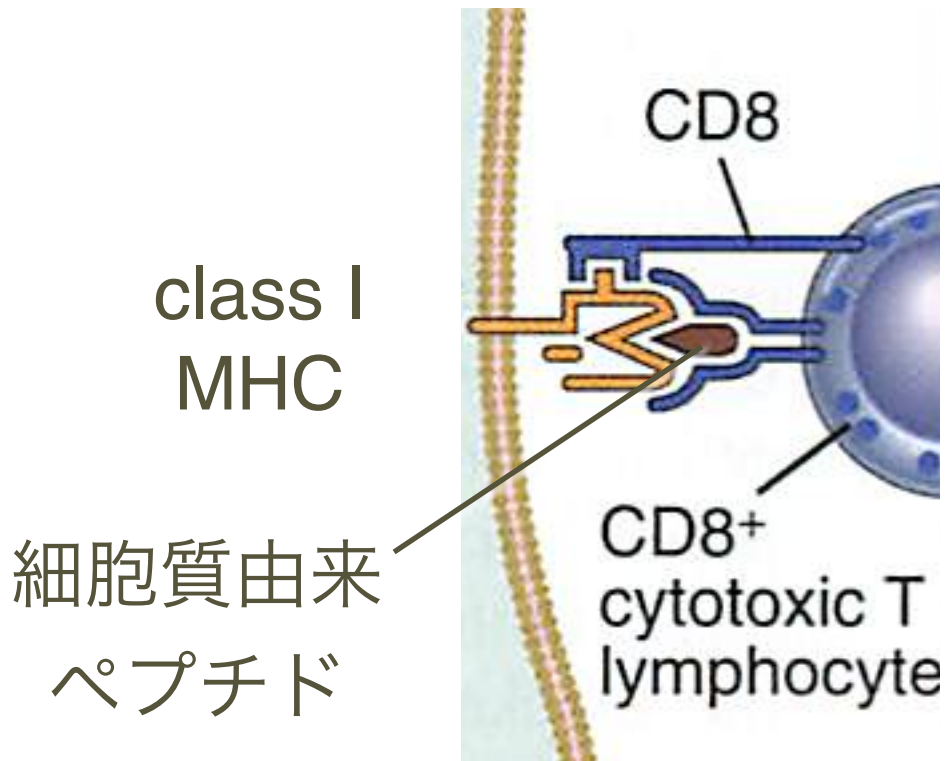


	多型の種類
A	4,450
B	5,471
C	4,218

	多型の種類(α : β)
DP	223 : 1321
DQ	255 : 1463
DR	5 : 2823

CD4とCD8

- 細胞傷害性 T 細胞 CD8 陽性
- ヘルパー T 細胞 CD4 陽性



補助刺激受容体

- 自然免疫からの入力（シグナル2）が無ければ、適応免疫は発動しない。
 - シグナル1：抗原受容体からのシグナル
 - シグナル2：自然免疫反応により誘導されるリガンドを認識する受容体（**補助刺激受容体**）からのシグナル

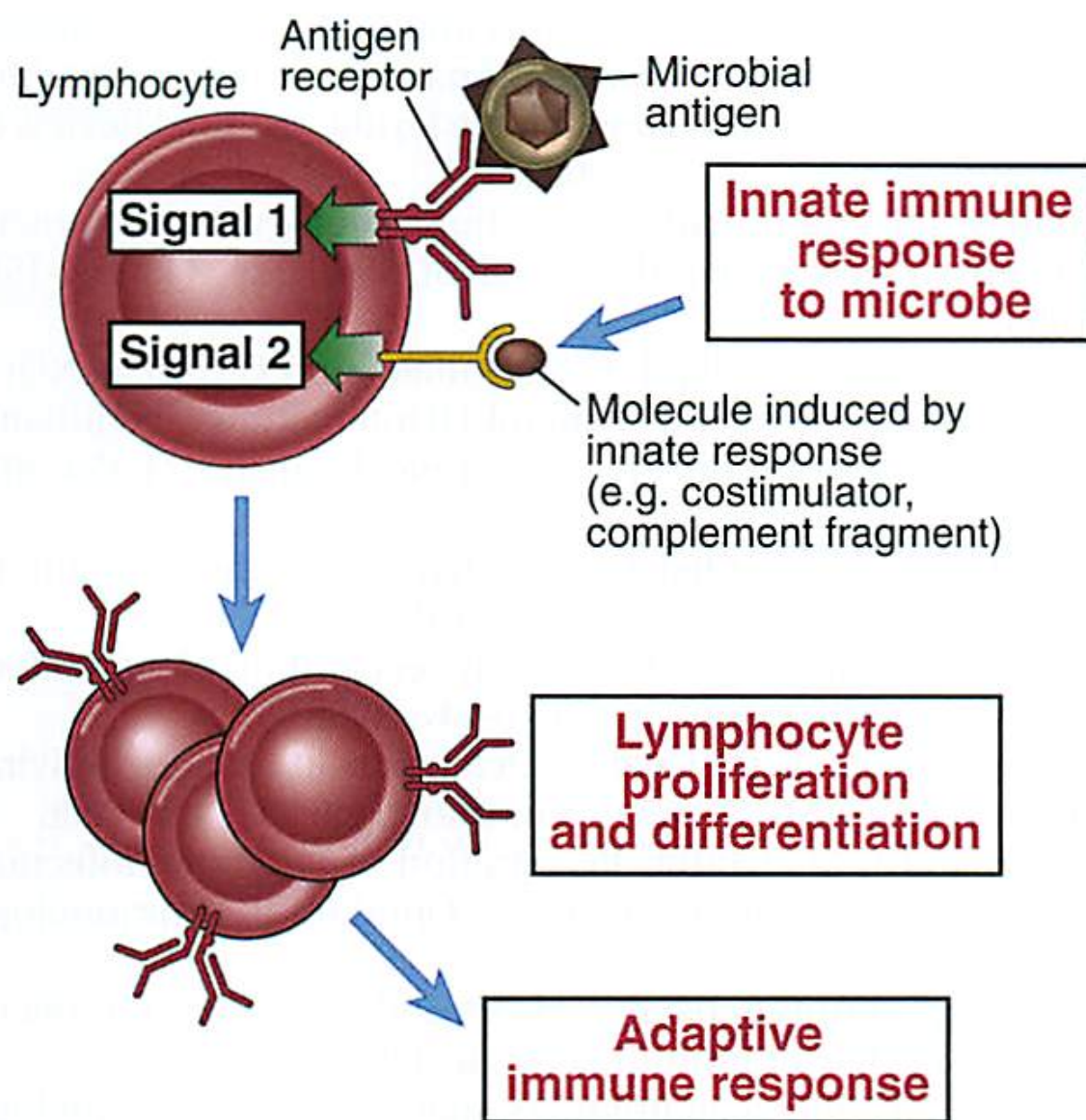
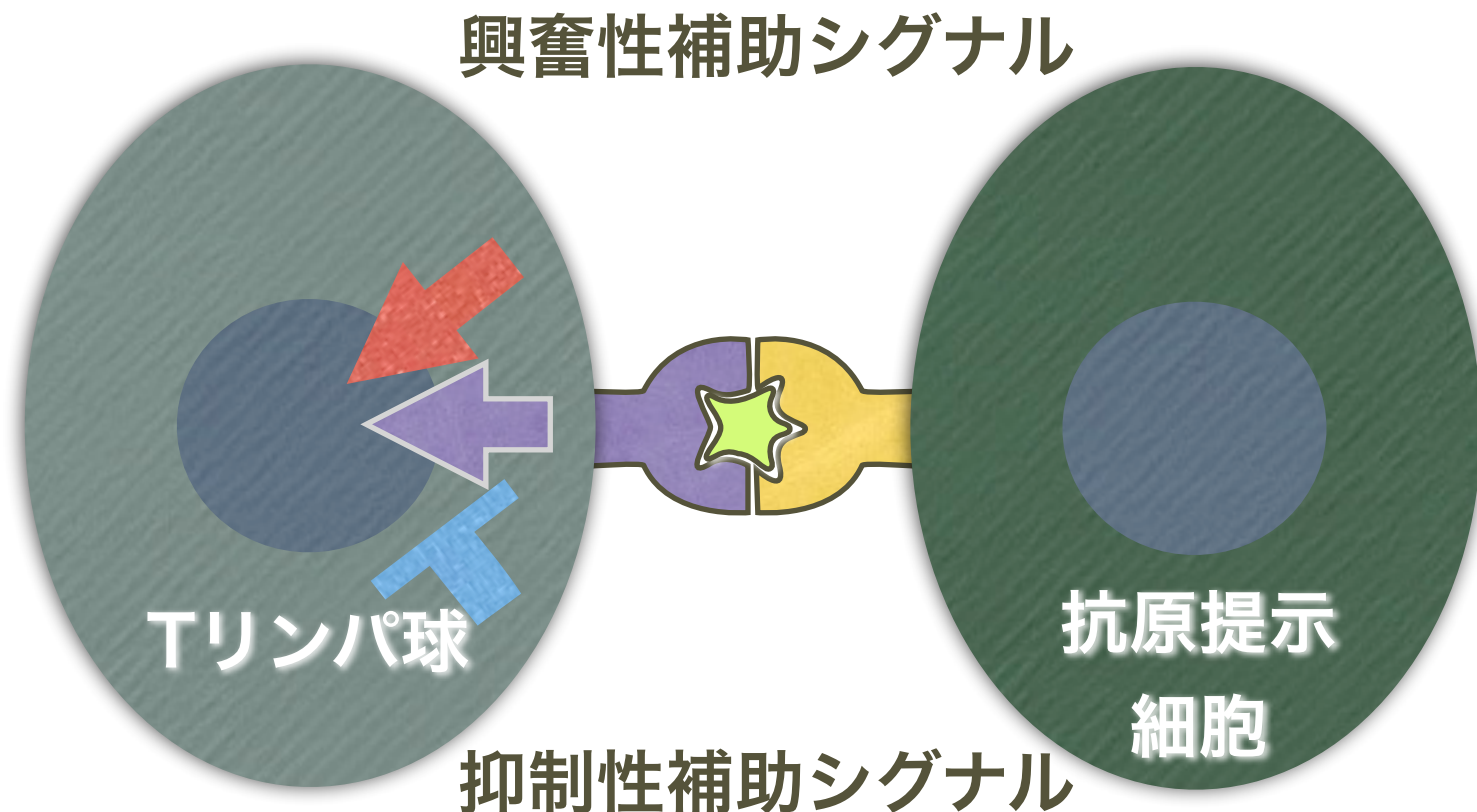


FIGURE 2-13 Stimulation of adaptive immunity by innate immune responses. Antigen recognition by lymphocytes provides signal 1 for the activation of the lymphocytes, and molecules induced on host cells during innate immune responses to microbes provide signal 2. In this illustration, the lymphocytes are B cells, but the same principles apply to T lymphocytes. The nature of second signals differs for B and T cells and is described in later chapters.

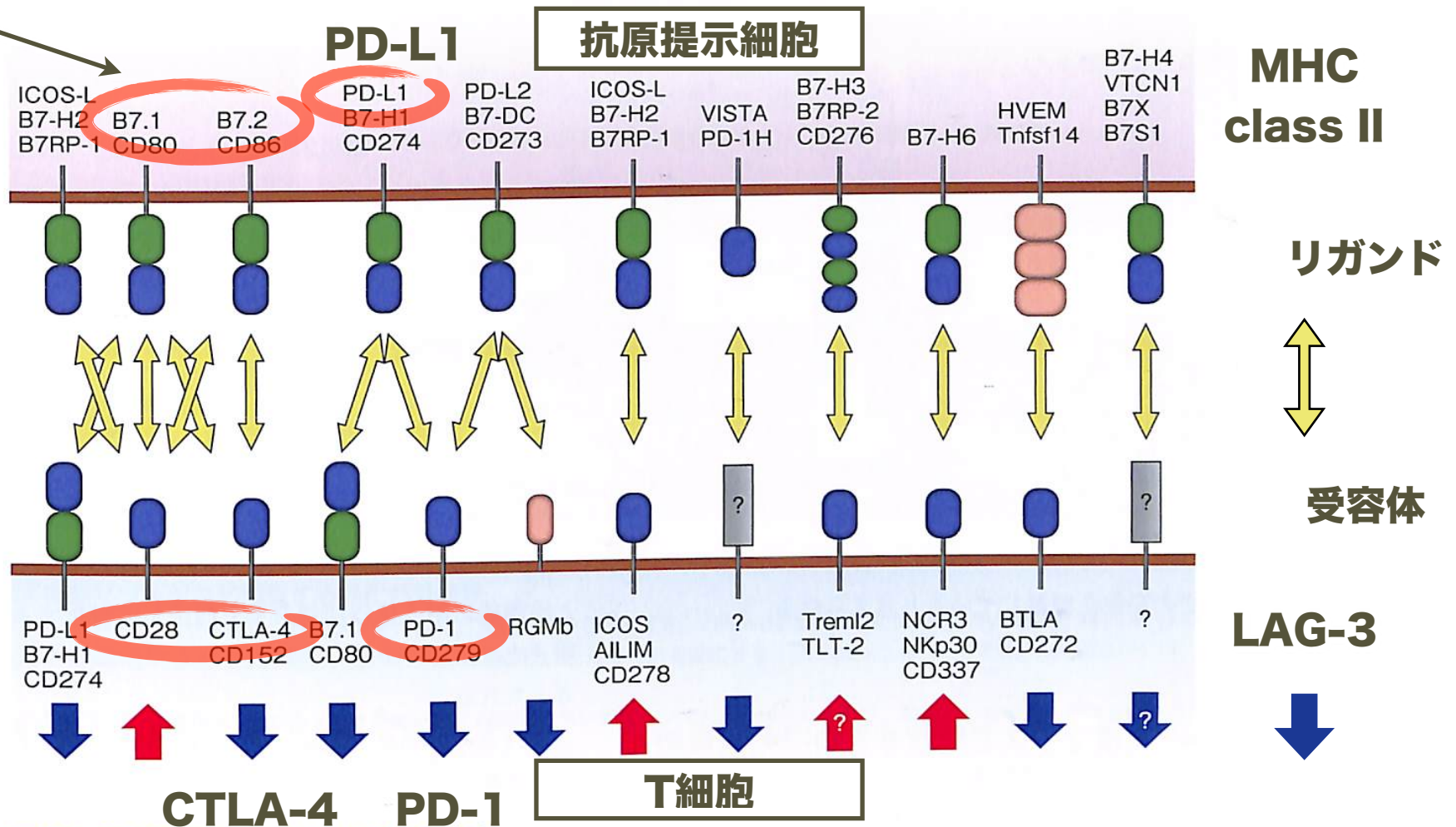
抑制性の補助シグナル

- 自己寛容（自己免疫の抑止） = 末梢性免疫寛容
- 感染時の炎症による組織障害の防止



補助刺激受容体とリガンド

有名どころ



■図1 B7/CD28ファミリーに属する分子

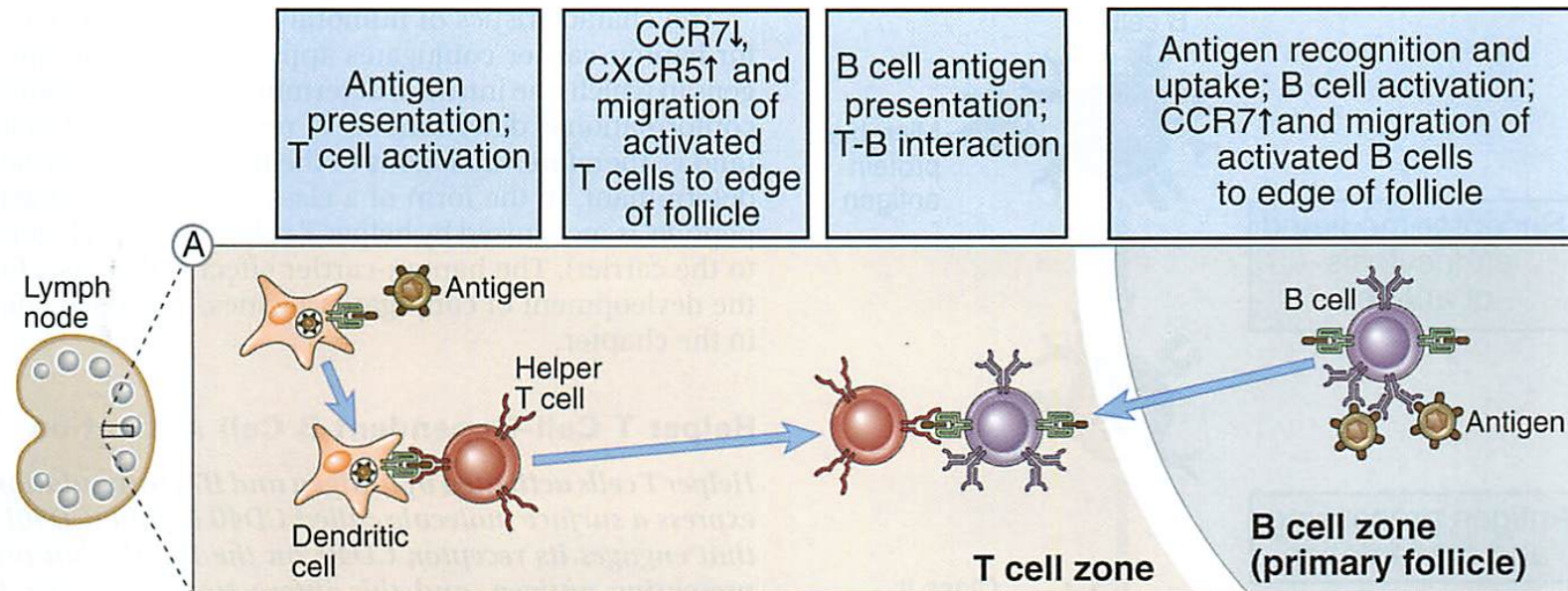
興奮性の補助シグナルを上向き(↑)の→, 抑制性の補助シグナルを下向き(↓)の→で示す。IgV様ドメインを●, IgC様ドメインを●で示す。



本庶 佑

胚中心反応 germinal center reaction

- 抗原を貪食した樹状細胞は感染部位からリンパ節へ移動し、ヘルパーT細胞へ抗原提示する。
- 血液中の病原体は脾臓でマクロファージにより貪食され、ヘルパーT細胞へ抗原提示される。
- ヘルパーT細胞は B リンパ球と相互作用し、これを刺激する。B 細胞は分裂を開始し、AID を発現する。抗体可変領域の体細胞突然変異、定常領域のクラススイッチ組換えが起こる。



T-B 相互作用

- B 細胞はB細胞受容体 (B-cell receptor = 膜型抗体) からの刺激 (signal 1) と同時に、T 細胞から補助シグナル (signal 2) を受けて初めて活性化される。
- その際、B 細胞は貪食した抗原を提示する。
cognate interaction

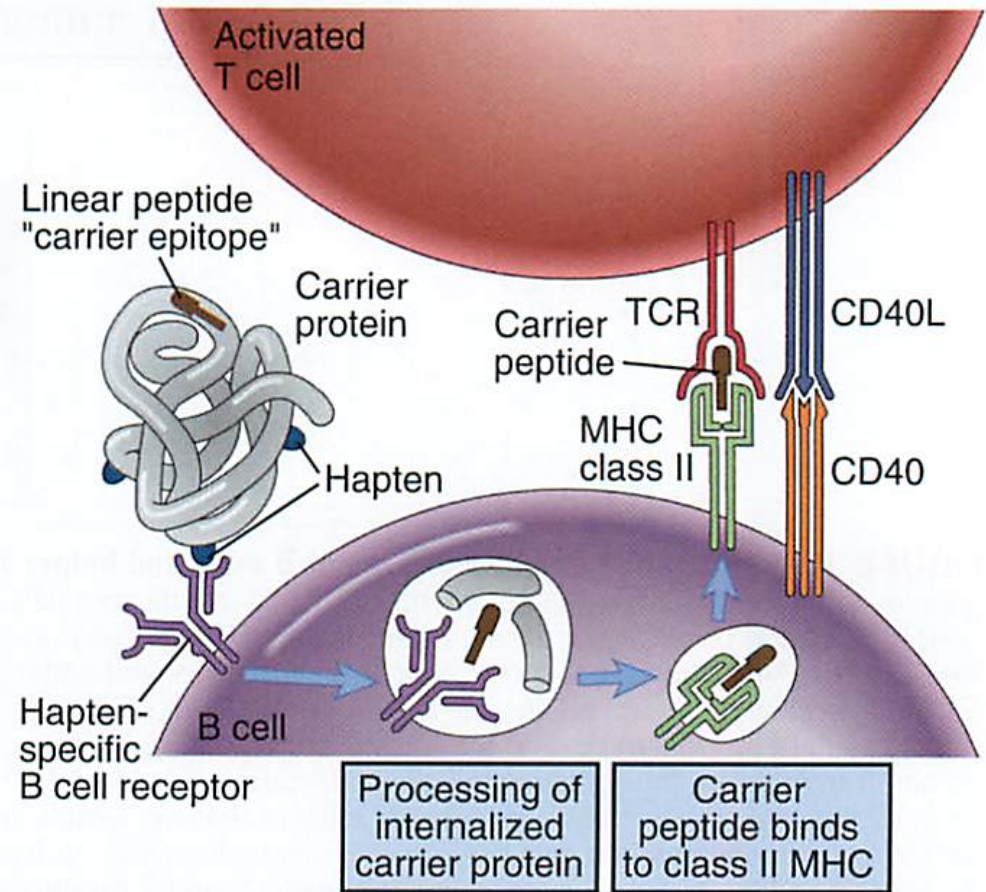
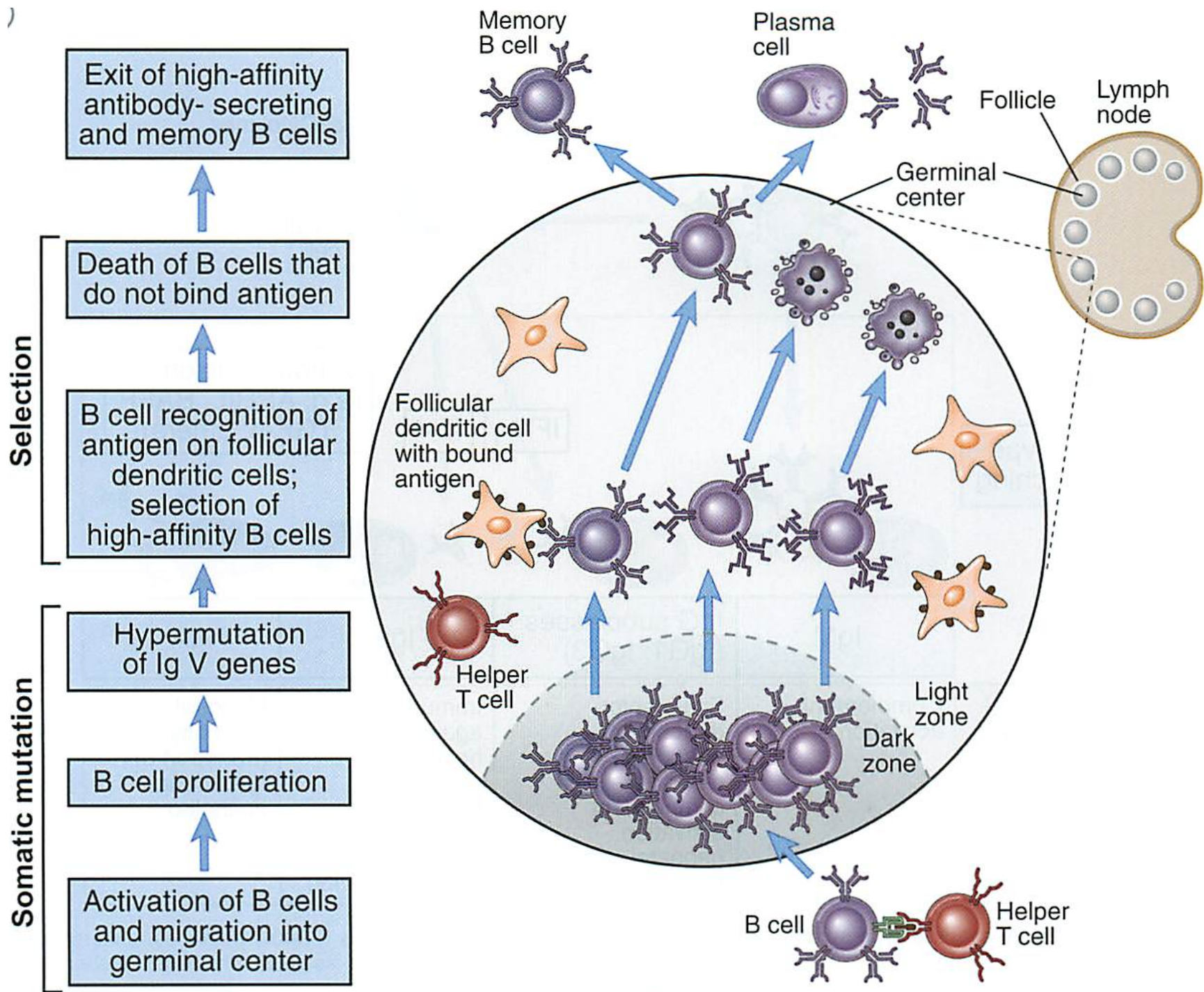


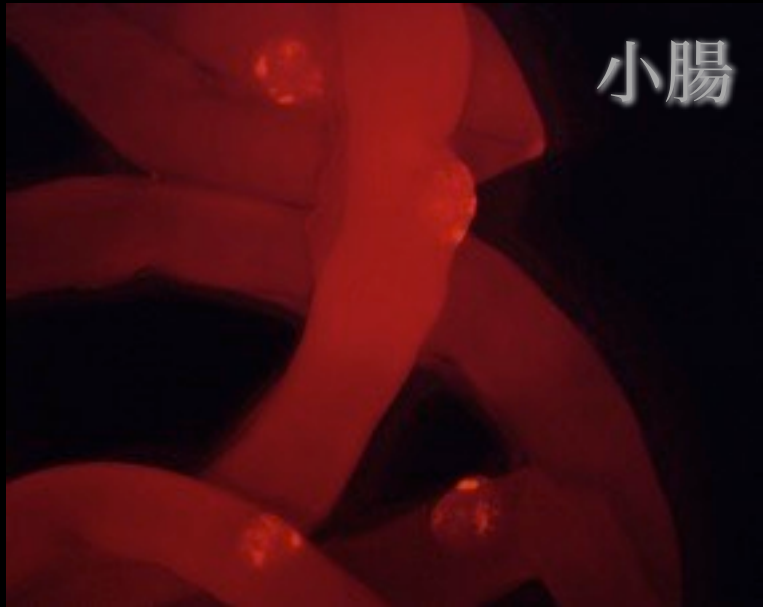
FIGURE 10-10 T-B collaboration and the hapten-carrier effect. A monovalent protein conjugated to a haptens is internalized by a haptens-specific B cell that processes the antigen and presents the linear peptide or "carrier determinant" on class II MHC molecules to an activated helper T cell, which then triggers the B cell via a CD40L-CD40 interaction.

親和性成熟 affinity maturation

- AIDによる体細胞突然変異により多様化した抗体の中から、抗原により強く結合できるものを選択する機構。
- 抗原は濾胞性樹状細胞 follicular dendritic cell (FDC) によって捕捉され、貪食されずにそのままの形で B 細胞に提示する。
- B 細胞はFDC上の抗原を競い合う。抗原に結合できない B 細胞はアポトーシスを起こす。
- 胚中心は抗体が進化する場所である。



小腸



腸間膜リンパ節



小腸パイエル板



AID遺伝子座にRFPを挿入したノックインマウス

胚中心ではクラススイッチも起こる

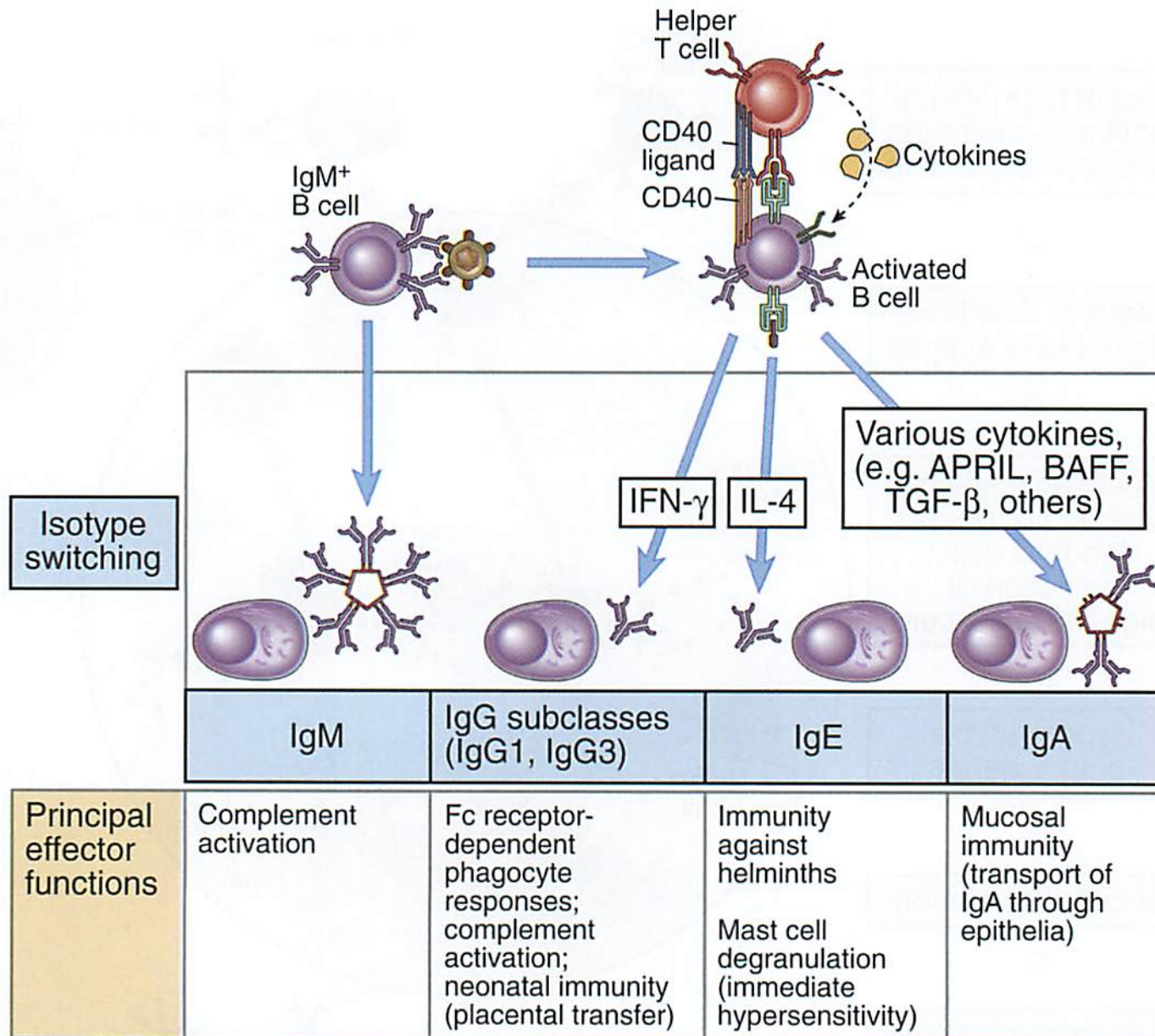


FIGURE 10-13 Ig heavy chain isotype switching. B cells activated by helper T cell signals (CD40L, cytokines) undergo switching to different Ig isotypes, which mediate distinct effector functions. Selected examples of switched isotypes in humans are shown.

形質細胞とメモリーB細胞

- 胚中心反応を経てクラススイッチした高親和性抗体は以下のいずれかの運命をたどる。

- 形質細胞 plasma cell

- 大量の抗体を分泌
- 骨髄で長期生存するものも

形質細胞

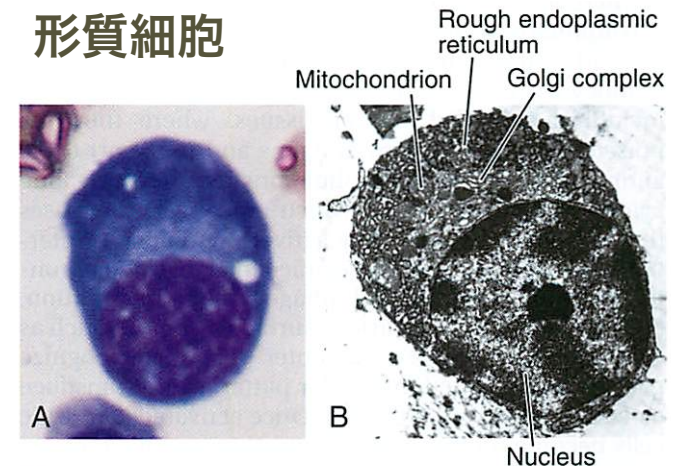


FIGURE 3-5 Morphology of plasma cells. A. Light micrograph of a plasma cell in tissue. B. Electron micrograph of a plasma cell. (Courtesy of Dr. Noel Weidner, Department of Pathology, University of California, San Diego, California.)

- メモリーB細胞

- 次回の感染に備え、休止状態に入る

核の偏在

車軸様のクロマチン

制御性T細胞

- 他のT細胞の活性化を抗原依存的に抑制する細胞で、末梢性免疫寛容の一翼を担う。
- 補助刺激のリガンド (B7) を奪うことにより補助刺激を入らなくさせる。

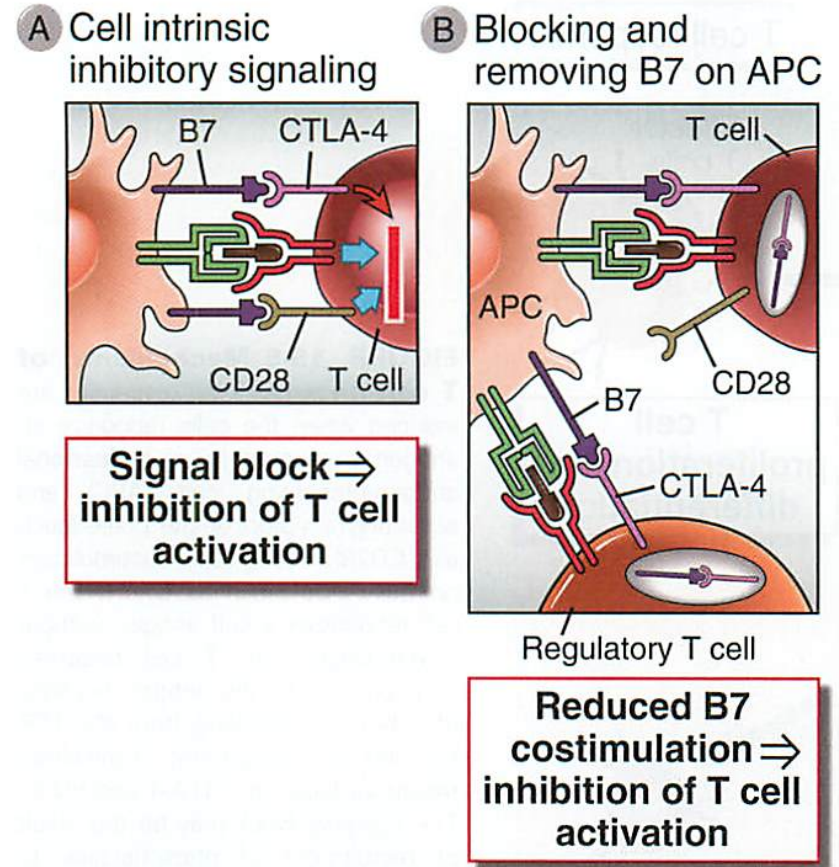
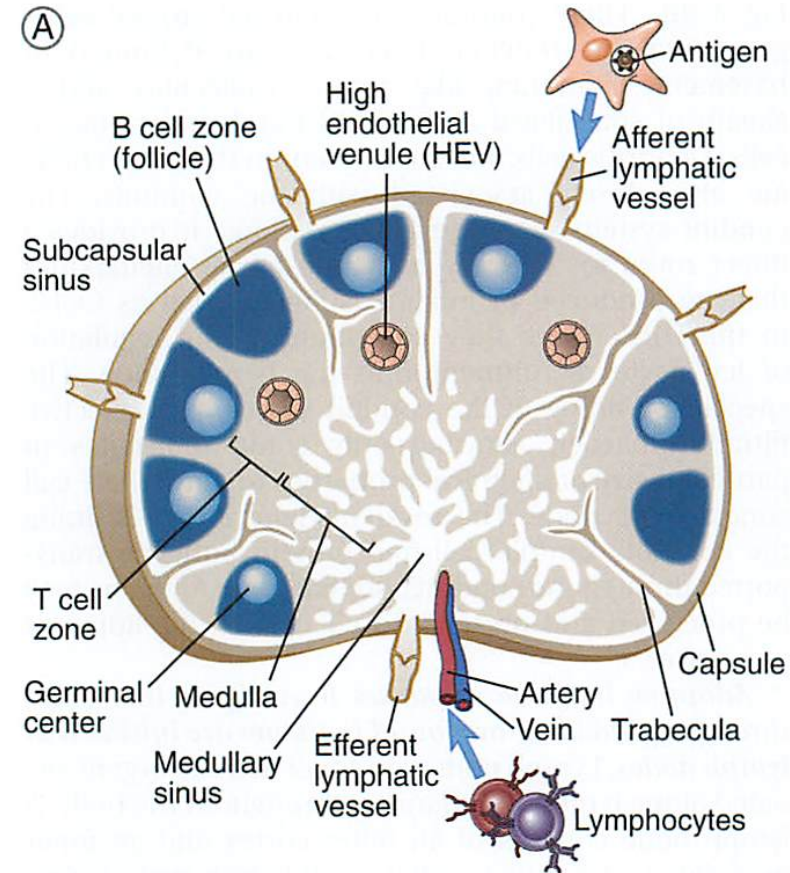


FIGURE 15-6 Mechanisms of action of CTLA-4. **A**, Engagement of CTLA-4 on a T cell may deliver inhibitory signals that terminate further activation of that cell (cell-intrinsic function of CTLA-4). **B**, CTLA-4 on regulatory or responding T cells binds to B7 molecules on APCs or removes these molecules from the surface of the APCs, making the B7 costimulators unavailable to CD28 and blocking T cell activation. CTLA-4-mediated inhibition by regulatory T cells is a cell-extrinsic action of this inhibitory receptor (since the responding T cells are suppressed by another cell).

細菌感染の経過

- 皮膚外傷 > 細菌侵入 > 樹状細胞による貪食 > 好中球による貪食 > マクロファージによる貪食 > 樹状細胞のリンパ節への移動 > T_H細胞活性化
 - > B細胞活性化 > 胚中心反応 > クラススイッチ・高親和性抗体 > 中和・オプソニン作用・補体による溶菌 >
 - > キラーT細胞活性化 > perforin/granzymeを用いて感染細胞の破壊



ウイルス感染の経過

- ウイルス侵入＞パターン認識受容体
 - ＞感染細胞の抗原提示＞キラーT細胞活性化
 - ＞感染細胞の破壊＞樹状細胞・マクロファージによる貪食＞以下細菌感染同様
- class I MHC を出さなくなった細胞は NK 細胞が殺す。

Take Home Message

- 適応免疫はリンパ球を主体とする生体防御システム。
- T 細胞は胸腺で「教育」され、MHC上のペプチド抗原を認識するが、自己の抗原には反応しない。
- B 細胞は骨髄で成熟し、リンパ節で抗原刺激とヘルパー T 細胞の作用を受けて、高親和性抗体を生む胚中心を形成する。一部は形質細胞に分化し、抗体産生に特化する。
- T, B ともにメモリー細胞となり、長期間 2 度目の感染に備える。
- 免疫寛容には中枢性と末梢性のものがある。

経鼻ワクチン

- FluMist
- M-cell / 鼻粘膜周囲リンパ組織
- mucoadhesives
- アジュバント
- 嗅神経－脳経路を介した副反応

経鼻ワクチンの国内初承認

- ヒトで使用されている経鼻ワクチンは FluMist (米国/日本), Fleunz (EU), NASOVAC-S (インド), Ganwu (中国)
- Nasalflu は副反応 ベル麻痺 1/1000 人のため、撤退

厚生労働省、インフルエンザの経鼻ワクチン承認を了承国内初

暮らし・学び・医療 | 速報 | 医療・健康

毎日新聞 | 2023/2/27 20:54(最終更新 2/28 10:42) | 有料記事 English version 550文字



厚生労働省が入る中央合同庁舎第5号館＝東京・霞が関で、竹内紀臣撮影

厚生労働省の専門部会は27日、製薬大手の第一三共が承認申請していた経鼻インフルエンザワクチン「フルミスト」の製造販売を承認することを了承した。鼻の粘膜に噴霧する経鼻ワクチンは、承認されれば国内で初めてになる。

経鼻ワクチンは、弱毒化したウイルスを使った生ワクチンと呼ばれるタイプだ。厚生省によると、国内の臨床試験では、約3割の発症予防効果が確認された。一方、鼻水や喉の痛み、せきなどの副反応が報告された。2～18歳が対象で、左右の鼻腔(びくう)に0.1ミリリットルずつ(計0.2ミリリットル)を噴霧する。

鼻の解剖学

蝶形骨洞, sphenoid sinus

上鼻道
中鼻道
下鼻道

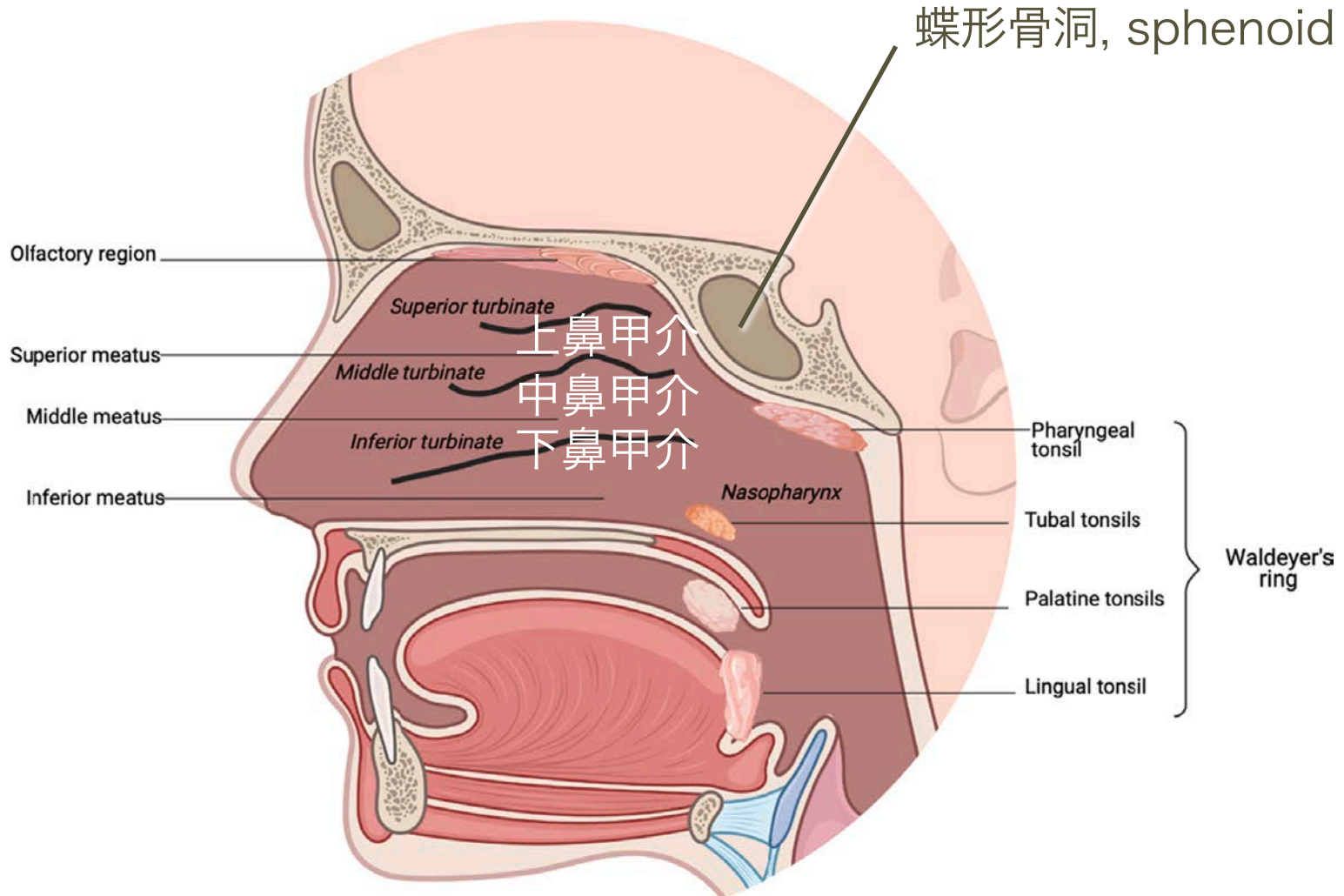


Fig. 1. Human nose anatomy and nasal associated lymphoid tissues (i.e. Waldeyer's ring) – lateral section (not to scale).

M cell

microfold cell

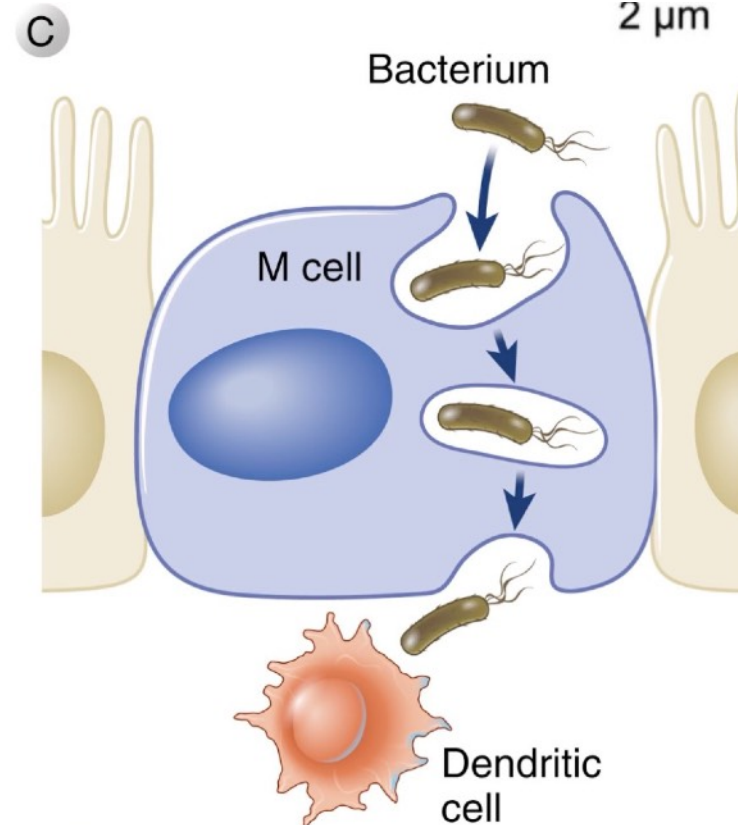
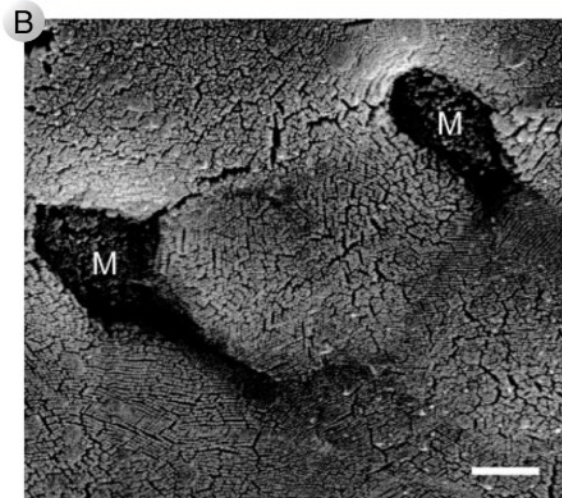
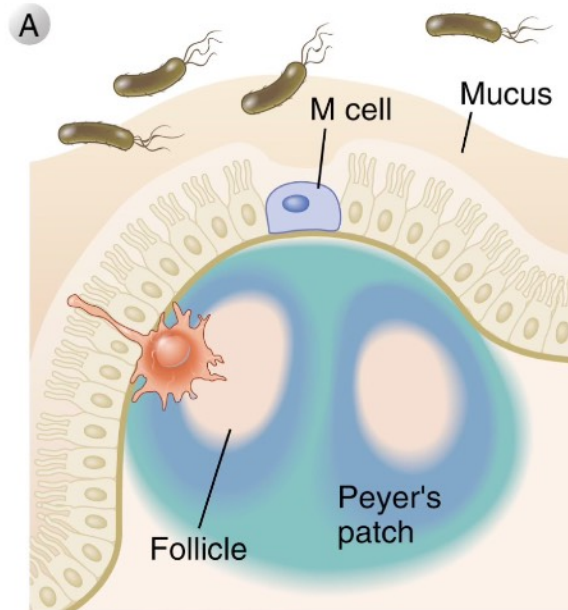


FIGURE 14.2 M cells in the small intestine. Microfold (M) cells are specialized intestinal epithelial cells found in the small bowel epithelium overlying Peyer's patches and lamina propria lymphoid follicles (A). Unlike neighboring epithelial cells with tall microvillus borders and primary absorptive functions, M cells have shorter villi. They appear sunken next to absorptive epithelial cells in the scanning electron microscopic image shown in (B). M cells engage in transport of intact microbes or molecules across the mucosal barrier into gut-associated lymphoid tissues, where they are handed off to dendritic cells (C).
Electron micrograph from Ohno H. Intestinal M cells. *J Biochem.* 2016;159:151–160.

glymphatic system

- 脳にリンパ管は存在しない。硬膜 *dura* には存在する。
- 脳細胞間に隙間があり、神経活動が少ない時に拡大する。
- CSF が流れ、免疫細胞・老廃物の通路になっている。

Xie et al, "Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain" *Science* 342: 373 (2013)

<https://www.science.org/doi/10.1126/science.1241224>

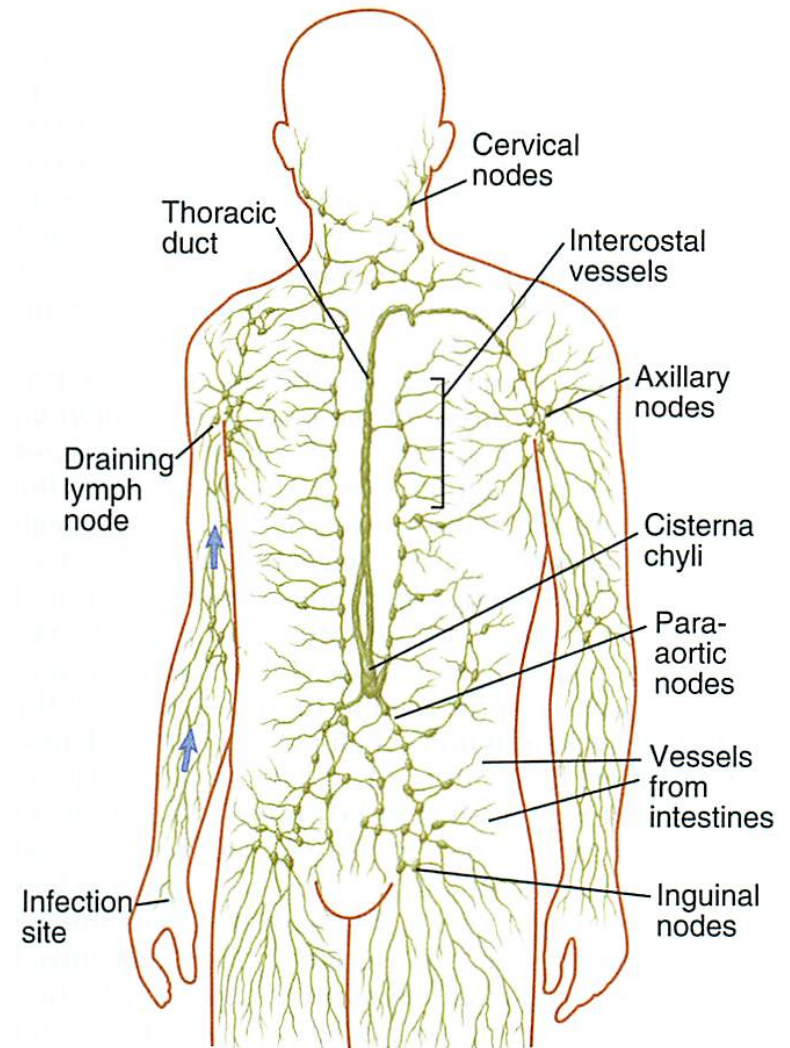


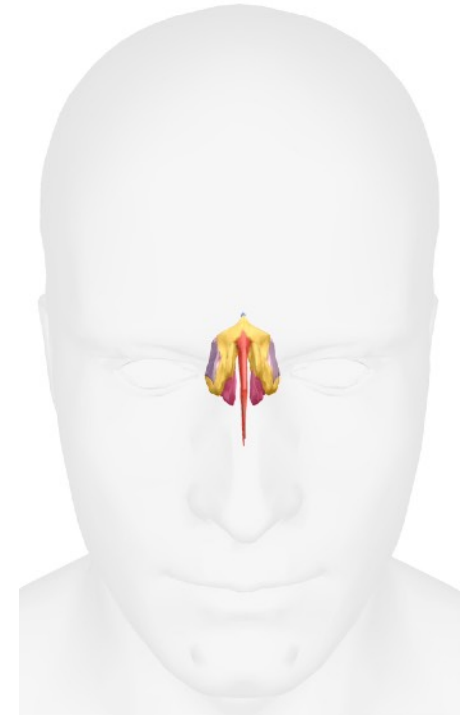
FIGURE 3-8 The lymphatic system. The major lymphatic vessels and collections of lymph nodes are illustrated. Antigens are captured from a site of infection, and the draining lymph node to which these antigens are transported and where the immune response is initiated.

CSF は篩板のリンパ管から頸部リンパ節へ流入する

- 篩板には arachnoid barrier の断絶があり、硬膜リンパ管との交通がある。
- マウスくも膜下腔に投与された gadolinium が 20分後に深部頸部リンパ節に到達した。

Hsu et al, "Neuroinflammation creates an immune regulatory niche at the meningeal lymphatic vasculature near the cribriform plate" Nat Immunol 23: 581 (2022)

<https://www.science.org/doi/10.1126/science.1241224>



篩板 cribriform plate



blood-brain barrier

- 脳血管に固有の構造
- 血管内皮のタイトジャンクションとアストロサイトの終足、周皮細胞で構成
- 酸素、二酸化炭素、脂溶性分子は受動拡散通過できる。7.8 kDが上限。

Banks, W. A. (2009). Characteristics of compounds that cross the blood-brain barrier. BMC Neurol. 9:S3.

doi: 10.1186/1471-2377-9-S1-S3

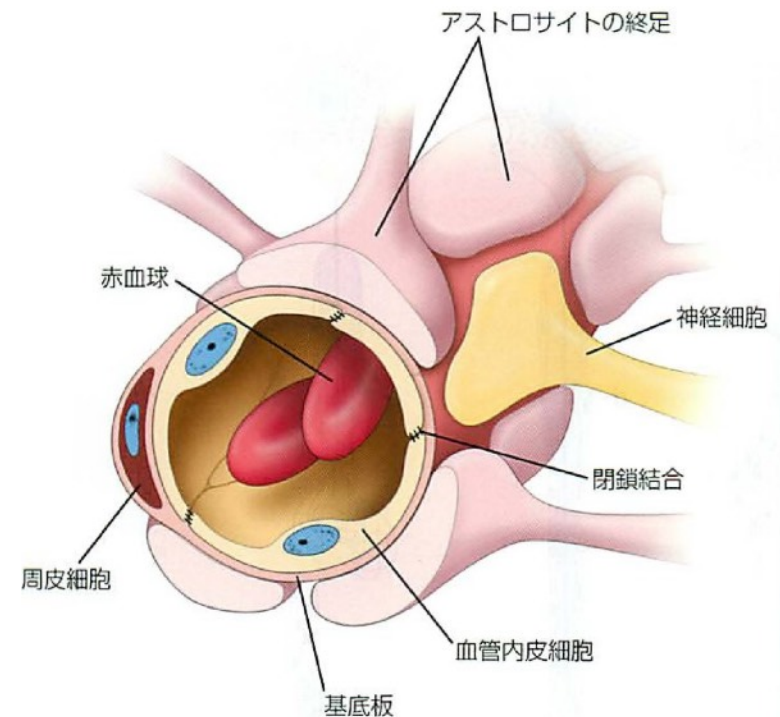


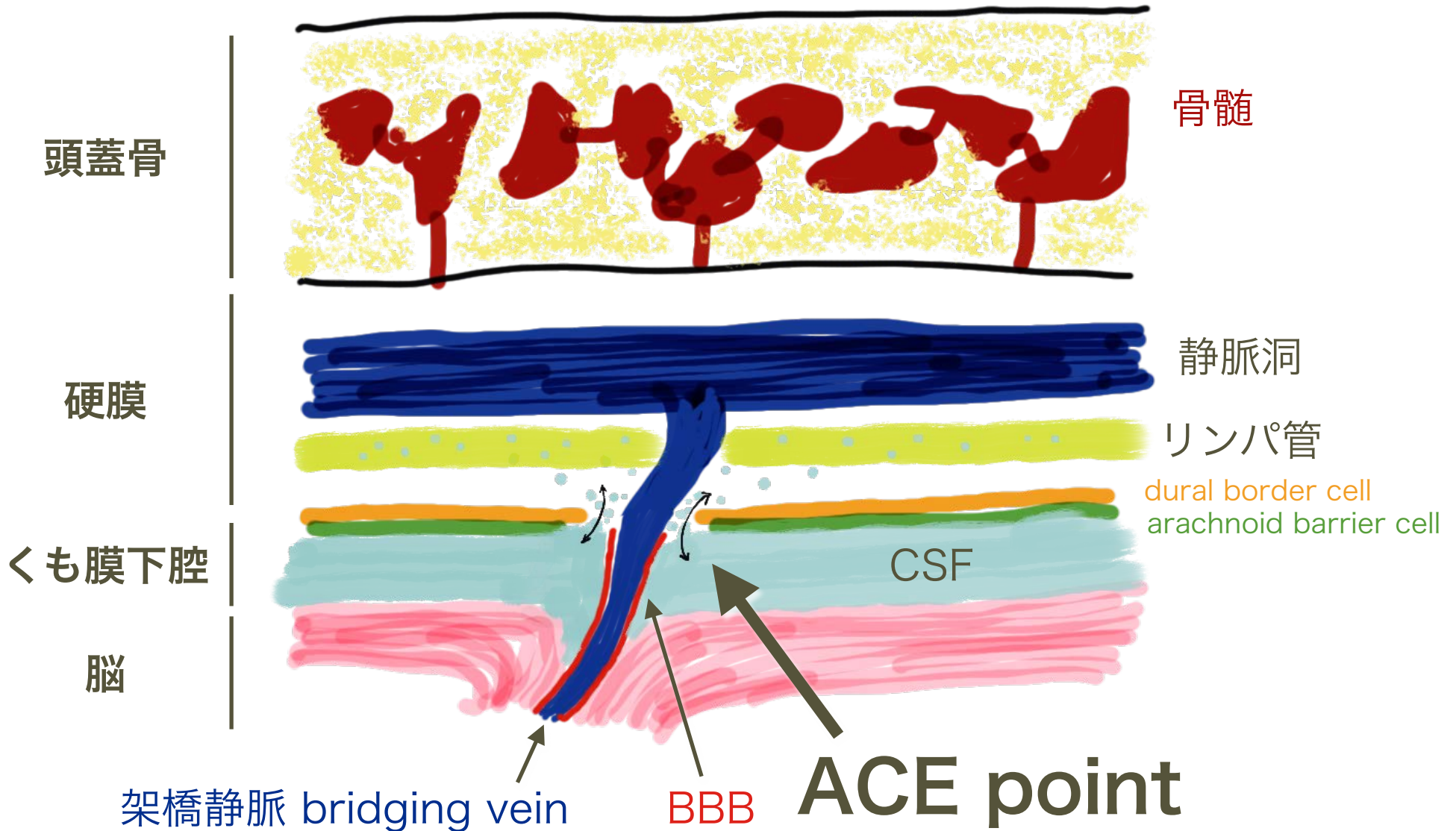
図 12.33 血液-脳関門の模式図

この図は複雑な閉鎖結合によって一体となった血管内皮細胞、内皮細胞の基底膜、アストロサイトの終足によって構成される血液脳関門を示す。

Ross 組織学 5版 邦訳

Arachnoid Cuff Exit

Smyth et al, "Identification of direct connections between the dura and the brain"
Nature 627: 165 (2024) <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06993-7>



ワクチンの剤形

- protein, mRNA, viral vector, live attenuated virus, killed virus
- liquid vs. dry powder
- mucoadhesive, permeation enhancer
- adjuvant
- spray device

鼻うがい



- 経鼻ワクチン前に鼻うがい nasal irrigation を行うことで、効果（副作用も含め）を高めることができるかもしれない。木下個人の見解
- 風邪予防や病期短縮に効果があるという報告もある。花粉症対策にもなる。
- 0.9% 食塩水 250 ml / 回
- 容器はAmazonなどで <https://amzn.asia/d/deznTHD>

adjuvant

- PAMP/DAMP でシグナル 2 "danger signal" を発動
- 水酸化アルミニウム
- TLR agonists (Pam3CsK4, MALP-2, poly I:C, MPL, CRX-601, RS09, flagellin, GARD, CpG oligo)
- NKT cell agonist: α -GalCer
- PAR-2AP, c-di-GMP, FLT3 ligand
- FDA approved: 7 adjuvants only

ワクチンの種類

病原体	タイプ	抗原	アジュバント	持続	導入年
天然痘ウイルス	ワクチニアウイルス	ウイルス粒子	(-)	終生?	1798
ポリオウイルス	不活化ウイルス	ウイルス粒子	(-)	終生?	1953
ポリオウイルス	弱毒生ウイルス	ウイルス粒子	(-)	終生?	1962
狂犬病ウイルス	不活化ウイルス	ウイルス粒子	(-)		1885
水痘・帯状疱疹ウイルス	弱毒生ウイルス	ウイルス粒子 岡株	(-)		1974
水痘・帯状疱疹ウイルス	遺伝子組換え	スパイクタンパク	AS01B		2020
麻疹ウイルス	弱毒生ウイルス	ウイルス粒子	(-)		1963
風疹ウイルス	弱毒生ウイルス	ウイルス粒子	(-)		1969
ムンプスウイルス	弱毒生ウイルス	ウイルス粒子	(-)		1967
日本脳炎ウイルス	不活化ウイルス	ウイルス粒子	(-)		1955
B型肝炎ウイルス	遺伝子組換え	スパイクタンパク HBs	水酸化アルミニウム		1981
インフルエンザウイルス	不活化ウイルス	ウイルス粒子	(-)		1943
新型インフルエンザ	不活化ウイルス	ウイルス粒子	(-)		2009
新型コロナウイルス	mRNA	スパイクタンパク	(-)		2020
新型コロナウイルス	アデノウイルス	スパイクタンパク	(-)		2021
パピローマウイルス	遺伝子組換え	キャプシドタンパク	水酸化アルミニウム		2006
炭疽菌	生菌	弱毒菌株	(-)		1881
結核菌	生菌	カルメット・ゲラン菌	(-)		1921
肺炎桿菌 (Hib)	死菌	莢膜多糖-破傷風トキソイド	(-)		2007
肺炎球菌	菌抽出生成物	莢膜多糖	(-)		2006
ジフテリア菌	不活化毒素	ジフテリアトキソイド	(-)		1923
破傷風菌	不活化毒素	破傷風トキソイド	(-)		1924
百日咳菌	不活化毒素	百日咳トキソイド	(-)	10年?	1926

Schenk et al., 1999

<https://doi.org/10.1038/22124>

アルツハイマー病研究、失敗の構造, p.88

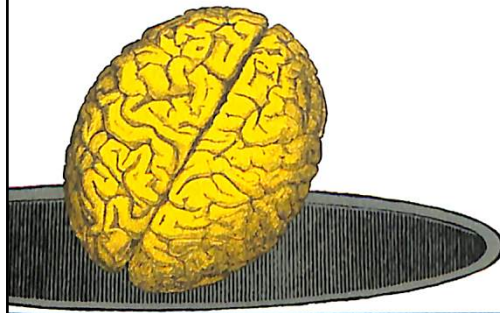
- 6 週齢 APP トランスジェニックマウスに $A\beta 42$ で免疫した。100 μg /回/月。4 回目まで complete Freund's adjuvant を併用、5 ~ 11 回目は $A\beta 42$ のみ。
- ほぼ完璧な plaque 抑制が得られた。
- 11ヶ月齢マウスでも同様の結果
- 著者は全員 Elan Pharmaceuticals 社員

カール・ヘラップ 梶山あゆみ 訳



アルツハイマー病研究、

How *Not* to Study a Disease
The Story of Alzheimer's



失敗の構造

一つの仮説に賭けてしまった
この分野の科学の現状。

直近数十年の認識自体を問い直す、真摯な総括と告発の書。

「私たちはアミロイドのみのルートを通して
アルツハイマー病の治療薬を追い求めてきたために、
多くの時間を失った。
たぶん10～15年は無駄にしてきただろう」(本文より)

みすず書房

原著: 2021

邦訳: 2023

Karl Herrup によるアミロイドカスケード説批判

- プラークと症状の乖離（他の要因がプラークと症状の両方を別々にもたらす可能性）(p.178)
- マウス版ADはヒトの症状と全く異なる(p.181)
- PSEN変異マウスは無症状、プラークも無し(p.182)
- ワクチン投与されたマウスの記憶障害が数日で回復した！この時、プラークはまだ消えていない！（p.188）ヒトでの結果も同様と言える（p.189）
- アミロイドカスケード説以外にも、検討に値する学説が存在する。炎症説 (p.110), 脂質説 (p.113), 脱髄説 (p.115 & 277), 小胞説 (p.120), 酸化説 (p.122), タウ説 (p.125)

conformational neoantigen?

- 体細胞変異による新生抗原で、がん免疫治療の標的として注目されている。
- タウの異常フォールディングが特異的抗体反応を誘発するために必要なこと：
 - 異常タウが胚中心の follicular dendritic cell (FDC)により提示され、
 - 同じリンパ節に、タウ-MHC を認識する helper T cell が APC により活性化されていること

