

内サイクリック AMP 濃度が高まる。これを契機に粘膜上皮細胞や抗原提示細胞が活性化され、細胞透過性の亢進、炎症性サイトカインの産生、樹状細胞の成熟促進などが誘導される。類似の作用機序を有するが、アジュバントとしては CT が Th2 型の免疫反応 (IL-4, IL-5 分泌型の CD4T 細胞の活性化や IgA, IgG1, IgE の産生) および Th17 を誘導するのに対して、LT は Th1, Th2 型の両方の免疫反応 (IFN $\gamma$  分泌型の CD4T 細胞活性化および IgG2 の産生) を誘導する<sup>42, 43)</sup>。

### 4.3.5 コンビネーションアジュバント

アジュバントの組み合わせを考える上で重要なことは、2種類のを組み合わせれば必ずしもシナジー効果を得られるわけではなく、場合によって競合阻害を起こしてしまうことも知られている。簡単に言えば、同じ自然免疫のシグナル伝達経路を同時に、もしくは短期間のうちに刺激すると効果がなくなってしまう<sup>44)</sup>。シナジーを得るには、例えば図1に示したように、TRIF を介するリガンドと MyD88 を介するリガンドの組み合わせ<sup>45)</sup>、TLR と NLR をそれぞれ刺激するリガンドの組み合わせ<sup>46)</sup>、自然免疫受容体リガンドとそれ以外のアジュバントの組み合わせが考えられる。最後の例として、グラクソスミスクラインは、MPLA を用いたコンビネーションアジュバントの開発に着手し、AS01 (MPLA と QS21 をリポソームで包んだもの)、AS02 (MPLA と QS21 をエマルジョンで包んだもの)、AS04 (MPLA + Alum) を作成している。ヨーロッパでは AS04 を用いた HBV ワクチンとして FENDrix<sup>47)</sup> やオーストラリアでは同じく AS04 を用いた HPV ワクチン Cervarix<sup>48)</sup> が認可されている。

## 4.4 おわりに

19・20 世紀ワクチン療法の飛躍的な進歩に伴い、天然痘、黄熱病、麻疹、HPV など一部の感染症に対しては強力な予防効果を発揮した一方で、Hepatitis C virus (HCV) や influenza virus のように、依然ワクチン開発が困難なものや効果が不十分なものも依然として残されている。もちろん病原体側の特性がワクチン開発を妨げているのは自明であるが、HCV の培養法が確立したこと、インフルエンザウイルスを認識する3種類の自然免疫受容体の解明されたこと、さらには精製技術やバイオテクノロジーの急速な進歩に伴い、ナノ粒子や人工的なウイルスの類似物質 (単純に自然免疫受容体を刺激するだけでなく、ドラッグデリバリーも考慮したアジュバント) の作成が可能になったことなどワクチン開発にとって好条件がそろってきたのも事実である。

近年の目覚ましい自然免疫学分野の進歩に伴い、ウイルス学・ワクチン学・免疫学が一致団結してヒトの治療・予防へ向かう非常に良いチャンスに恵まれたと思う。今後のワクチン・アジュバント開発において重要なことは、最新のテクノロジーを駆使して安全で効果的なアジュバント

を作成・改良することはもちろんのこと、最適なアジュバントを選択し、安全で強力な自然免疫の誘導及び病原体に合わせた防御免疫の選択的誘導（抗体産生か細胞性免疫か、Th1 か Th2 か）を可能にする必要がある。さらに侵入門戸への免疫やドラックデリバリー、複数のアジュバントの併用などの工夫を加え、より安全で効果的なワクチンを生み出すことが要求される。

文 献

- 1) Ramon G. Procédes pour accroître la production des antitoxines. *Ann Inst Pasteur*, **40**, 1-10 (1926)
- 2) Glenn AT *et al.*, The antigenic value of toxoid precipitated by potassium-alum., *J Path Bact*, **29**, 38-45 (1926)
- 3) Pulendran B and Ahmed R. Translating innate immunity into immunological memory: implications for vaccine development. *Cell*, **124**, 849-863 (2006)
- 4) Steinman RM. Dendritic cells in vivo: a key target for a new vaccine science. *Immunity*. **29**, 319-324 (2008)
- 5) Finberg RW *et al.*, Toll like receptors and viruses. *Rev Med Virol*, **17**, 35-43 (2007)
- 6) Ishii KJ *et al.*, Host innate immune receptors and beyond: making sense of microbial infections. *Cell Host Microb*, **3**, 352-363 (2008)
- 7) Koyama S *et al.*, Innate immune control of nucleic acid-based vaccine immunogenicity. *Expert Rev Vaccines*, **8**, 1099-1107 (2009)
- 8) Kato H *et al.*, Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature*, **441**, 101-105 (2006)
- 9) Owen DM *et al.*, Fighting the flu with inflammasome signaling. *Immunity*, **30**, 476-478 (2009)
- 10) Muruve DA *et al.*, The inflammasome recognizes cytosolic microbial and host DNA and triggers an innate immune response. *Nature*, **452**, 103-107 (2008)
- 11) Koyama S *et al.*, Differential role of TLR- and RLR-signaling in the immune responses to influenza A virus infection and vaccination. *J Immunol*, **179**, 4711-4720 (2007)
- 12) Kumar H *et al.*, Cooperation of IPS-1- and TRIF-Dependent Pathways in Poly IC-Enhanced Antibody Production and Cytotoxic T Cell Responses. *J Immunol*, **180**, 683-687 (2008)
- 13) Koyama S, Aoshi T, Tanimoto T, Kumagai Y, Kobiyama K, Tougan T, Sakurai K, Coban C, Horii T, Akira S, Ishii KJ., Plasmacytoid dendritic cells delineate immunogenicity of influenza vaccine subtypes. *Sci Transl Med*. 2010 Mar **31**, 2 (25), 25ra24.
- 14) Couch RB *et al.*, Nasal vaccination, Escherichia coli enterotoxin, and Bell's palsy. *N*

- Engl J Med*, **350**, 860-861 (2004)
- 15) Mutwiri G *et al.*, Approaches to enhancing immune responses stimulated by CpG oligodeoxynucleotides. *Adv Drug Deliv Rev.*, **61**, 226-232 (2009)
  - 16) Ishii KJ *et al.*, TANK-binding kinase-1 delineates innate and adaptive immune responses to DNA vaccines. *Nature*, **451**, 725-729 (2008)
  - 17) Lin J *et al.*, Safety and immunogenicity of an inactivated adjuvanted whole-virion influenza A (H5N1) vaccine: a phase I randomized controlled trial., *Lancet*, **368**, 991-997 (2006)
  - 18) Treanor JJ *et al.*, Safety and immunogenicity of an inactivated subvirion influenza A (H5N1) vaccine. *J Infect Dis*, **198**, 1309-1316 (2008)
  - 19) Eisenbarth SC *et al.*, Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature*, **453**, 1122-1126 (2008)
  - 20) Franchi L and Núñez G. The Nlrp3 inflammasome is critical for aluminium hydroxide-mediated IL-1beta secretion but dispensable for adjuvant activity. *Eur J Immunol*, **38**, 2085-2089 (2008)
  - 21) Egan MA and Israel ZR. The use of cytokines and chemokines as genetic adjuvants for plasmid DNA vaccines. *Clin Appl Immunol Rev*, **2**, 255-287 (2002)
  - 22) Bracci L *et al.*, Type I interferons as vaccine adjuvants against infectious diseases and cancer. *Expert Rev Vaccines.*, **7**, 373-381 (2008)
  - 23) Hirao LA *et al.*, Combined effects of IL-12 and electroporation enhances the potency of DNA vaccination in macaques. *Vaccine*, **26**, 3112-3120 (2008)
  - 24) Morein B *et al.*, Iscom, a novel structure for antigenic presentation of membrane proteins from enveloped viruses. *Nature*, **08**, 457-460 (1984)
  - 25) Pearse MJ and Drane D. ISCOMATRIX adjuvant for antigen delivery. *Adv Drug Deliv Rev.*, **57**, 465-474 (2005)
  - 26) Kensil CR and Kammer R. QS-21: a water-soluble triterpene glycoside adjuvant. *Exp Opin Invest Drugs*, **7**, 1475-1482 (1998)
  - 27) Li H *et al.*, Cutting edge: inflammasome activation by alum and alum's adjuvant effect are mediated by NLRP3. *J Immunol.*, **181**, 17-21 (2008)
  - 28) Aucouturier J *et al.*, The use of oil adjuvants in therapeutic vaccines. *Vaccine*, **24**, S2-44-5 (2006)
  - 29) Elliott SL *et al.*, Phase I trial of a CD8+ T-cell peptide epitope-based vaccine for infectious mononucleosis. *J Virol*, **82**, 1448-1457 (2008)
  - 30) O'Hagan DT *et al.*, MF59 Is a Safe and Potent Vaccine Adjuvant for Flu Vaccines in Humans: What Did We Learn During Its Development? *Clin Pharmacol Ther*, **82**, 740-744 (2007)
  - 31) Petrovsky N. Novel human polysaccharide adjuvants with dual Th1 and Th2 potentiating activity. *Vaccine.*, **24**, Suppl 2: S2-26-9 (2006)
  - 32) Bovier PA *et al.*, Epaxal: a virosomal vaccine to prevent hepatitis A infection. *Expert Rev Vaccines.*, **7**, 1141-1150 (2008)

- 33) Moser C *et al.*, Influenza virosomes as a combined vaccine carrier and adjuvant system for prophylactic and therapeutic immunizations. *Expert Rev Vaccines.*, **6**, 711-721 (2007)
- 34) Laing P *et al.*, The 'co-delivery' approach to liposomal vaccines: application to the development of influenza-A and hepatitis-B vaccine candidates. *J Liposome Res*, **16**, 229-235 (2006)
- 35) Singh M *et al.*, Polylactide-co-glycolide microparticles with surface adsorbed antigens as vaccine delivery systems *Curr Drug Deliv*, **3**, 115-120 (2006)
- 36) Fifis T *et al.*, Size-dependent immunogenicity: therapeutic and protective properties of nano-vaccines against tumors. *J Immunol*, **173**, 3148-3154 (2004)
- 37) Peek LJ *et al.*, Nanotechnology in vaccine delivery. *Adv Drug Deliv Rev.*, **60**, 915-928 (2008)
- 38) Kirnbauer R *et al.*, Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Proc Natl Acad Sci USA*, **89**, 12180-12184 (1992)
- 39) Chan JK and Berek JS. Impact of the human papilloma vaccine on cervical cancer. *J Clin Oncol.*, **25**, 2975-2982 (2007)
- 40) Aguilar A *et al.*, Phase I clinical trial in healthy adults of a nasal vaccine candidate containing recombinant Hepatitis B surface and core antigens. *Int J Infect Dis*, **11**, 394-401 (2007)
- 41) Oma K *et al.*, Intranasal immunization with a mixture of PspA and a Toll-like receptor agonist induces specific antibodies and enhances bacterial clearance in the airways of mice. *Vaccine.*, **27**, 3181-3188 (2009)
- 42) Freytag LC and Clements JD. Mucosal adjuvants. *Vaccine.*, **23**, 1804-1813 (2005)
- 43) Lee JB *et al.*, Intranasal delivery of cholera toxin induces th17-dominated T-cell response to bystander antigens. *PLoS ONE.*, **e5190** (2009)
- 44) S Trinchieri G and Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nature Rev. Immunol.*, **7**, 179-190 (2007)
- 45) Roelofs MF *et al.*, The expression of Toll-like receptors 3 and 7 in rheumatoid arthritis synovium is increased and costimulation of Toll-like receptors 3, 4, and 7/8 results in synergistic cytokine production by dendritic cells. *Arthritis Rheum.*, **52**, 2313-2322 (2005)
- 46) Van Heel DA *et al.*, Synergy between TLR9 and NOD2 innate immune responses is lost in genetic Crohn's disease. *Gut* **54**, 1553-1557 (2005)
- 47) Kundi M. New hepatitis B vaccine formulated with an improved adjuvant system. *Expert Rev Vaccines*, **6**, 133-140 (2007)
- 48) Schwarz TF. AS04-adjuvanted human papillomavirus-16/18 vaccination: recent advances in cervical cancer prevention. *Expert Rev Vaccines.*, **7**, 1465-1473 (2008)

# DNA センサーとその生理的意義

DNA Sensors and their Physiological Relevance

小檜山康司, 石井 健

Kouji Kobiyama, Ken J. Ishii

核酸であるDNAが免疫システムを直接活性化することが示唆されてから50年近く経過した。その間いくつかの重要な発見はあったものの、自然免疫システムによる病原体や宿主由来のDNA認識の詳細なメカニズムが盛んに研究されるようになったのはここ数年のことである。TLR9によるDNAリガンド(一本鎖非メチル化CpGモチーフ)認識機構、細胞内シグナル伝達経路などがノックアウトマウスを用いた研究により次々と明らかになり、感染症や自己免疫疾患における生理的意義が示唆されている。一方で、TLR9に依存しないDNA認識機構の存在も明らかになり、リガンドも右巻きの二本鎖DNA(B-form DNA)であることが示された。その後、レセプターやシグナル伝達分子の候補が次々と報告されているが、詳細な分子メカニズムや生理的意義ははまだ全容が明らかになっておらず、真のB-DNAセンサーと考えられる分子の同定が待たれている。本稿では、DNAによる自然免疫活性化機構とその生理的意義について最新の報告とともに解説したい。



key words

自然免疫, ワクチン, 自己免疫

## はじめに

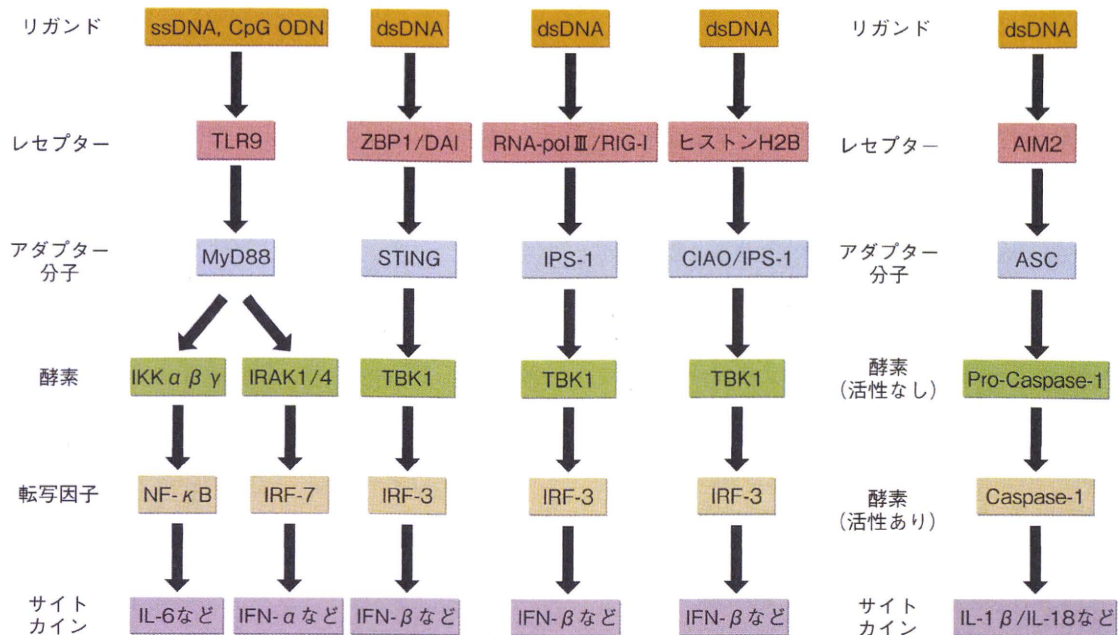
### 1. 免疫によるDNA認識：概要

核酸であるDNAは、我々哺乳類を含む真核動物において核内で染色体として(一部はミトコンドリアにも)存在しており、遺伝子情報を保持、維持そして伝達する機能を持ち合わせている。当然ながら、宿主に感染するバクテリアやウイルス、寄生虫などの微生物も自身の増殖のための遺伝情報としてDNA(一部のウイルスはRNA)を、その形状や大きさに異なりはあるが保持している。通常、このような病原体や宿主細胞自身のDNAは細胞内外の宿主免疫システムからは“見えない”ように様々な方法で保護されているが、感染などによる病原体由来のゲノムDNAだけでなく、感染、DNA損傷などの細胞に対するストレス、物理的組織傷害、そして細胞分裂によって核膜を失ったゲノムなど、いろいろな状況で自己のDNAも細胞内外で剥き出しになり、宿主自然免疫システムによって認識されることが近年明らかになってきた。それではDNAはどのように自己・非自己として宿主の免疫システムに認識されているのだろうか？これまで、DNAの塩基配列、高次構造、修飾などを特異的に認識するレセプター、DNA結合タンパク質、DNAの細胞への取り込まれ方、取り込む細胞による特異的な多種多様な認識機構が示唆されている。

免疫システムによるDNA認識の研究は古いものの、最近までその重要性が広く認知されることはなかった。しかしながら、Toll様レセプター(Toll-like receptor; TLR)9の発見は、核酸による自然免疫活性化機構が存在することを分子レベルで、かつ生体レベルでも証明し、いわゆる自然免疫学の分野を大きく発展させるきっかけとなった<sup>1)</sup>。

現在ヒトでは10種類のTLRが存在し、主に微生物由来の糖脂質成分や核酸、タンパク質などをそれぞれ異なるTLRが認識する。TLRがそれらを認識すると、MyD88(myeloid differentiation primary response gene(88))やTRIF(TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$ )などのアダプター分子を介して自然免疫応答を惹起し、I型インターフェロン(IFN)や炎症性サイトカイン産生を誘導する。TLRによる認識には、TLRの局在が重要であり、例えば核酸を認識するTLR3, 7, 8, 9はエンドソーム内でそれぞれのリガンドを認識し、自然免疫応答を活性化する。TLR3はウイルス由来の二本鎖RNA(dsRNA)を、TLR7, 8はウイルス由来の一本鎖RNA(ssRNA)を認識し、またTLR9はバクテリア由来の非メチル化CpG配列を有した一本鎖DNA(ssDNA)を認識し、自然免疫応答を活性化することが報告されている<sup>2)</sup>。

哺乳類でもCpG配列は存在するが、CpGがメチル化修飾を受けていることが自己と非自己の区別に関与しており、実際にCpG DNAのメチル化はTLR9を介した自然免疫活性



■図1 DNAセンサーによるシグナル伝達

化能が失われていることが示されている。同様に、CpG配列を有するRNAもメチル化により自然免疫活性化能は失われる<sup>3)</sup>。これらのことは、ヒトと病原体での核酸への修飾が異なっていることが自己と非自己の核酸認識には重要であることを示している。

一方で、宿主細胞はTLR非依存的にウイルス由来のdsRNAやdsDNAを細胞質中で認識することは以前から知られていたが、そのレセプターは明らかとなっていなかった。近年、RIG-I (retinoic acid inducible gene-I) やMDA5 (melanoma differentiation associated gene 5) と呼ばれるRLR (RIG-I-like receptor) がdsRNAや5'末端三リン酸RNAなどの免疫賦活化RNA [immunostimulatory RNA (isRNA)] を認識することが示された<sup>4)</sup>。これらのレセプターの同定により、核酸によるTLR非依存性自然免疫応答の分子メカニズムの研究は急速に発展を遂げていった。

## 2. 免疫によるDNA認識：歴史

TLR9のリガンドであるCpG DNAの発見の源流は、1984年の徳永氏や山本氏らによる、結核菌由来DNA分画の抗腫瘍作用の解析から、GCリッチなDNAによるIFN誘導およびナチュラルキラー(NK)細胞の活性化機構の解明に至る一連の研究成果であるのは明白であろう<sup>5)</sup>。TLR9非

依存性のDNA自然免疫認識機構の研究は、IFNの命名者であるA. Isaacs氏が1963年に発表した「核酸はIFNの誘導物質である」という論文が最初であったと考えられるが<sup>6)</sup>、その後の研究は続いておらず、いろいろな経緯を経て忘れ去られた時期が長く続いた。しかし、1999年に鈴木氏および筆者らにより、ラット甲状腺の細胞にdsDNAで刺激(トランスフェクション法を用いたためIsaacsらが使用した1000分の1~数万分の1のDNA濃度を用いた)を行うことにより、MHCやTAP (transporter associated with antigen processing) などの抗原提示機能分子を含む様々な免疫関連遺伝子の発現上昇が確認された。これらの現象にはCpGモチーフなどの配列は関係なく、ある程度の長さのDNAの一本鎖ではなく二本鎖の構造が必須であることが示された。また、壊死を起こした自己の細胞のdsDNAは樹状細胞にトランスフェクションにより取り込まれると、樹状細胞の成熟化を促進し、内因性のアジュバントとして作用することも判明した<sup>7)</sup>。

これらの発見はそのころ盛んであった微生物由来の非メチル化CpG配列によるマクロファージや樹状細胞、B細胞の自然免疫の活性化機構の研究の流れとは一線を画しており、特に自己・非自己のDNAの区別が微生物に特異的なパターン(非メチル化CpG配列を含むCpGモチーフ)認識によって行われているという概念とは真っ向から対抗していたため

自然免疫の研究者の間でもしばらくは懐疑的に見られていた。しかしその後、長田氏らのグループによってDNase II欠損マクロファージが強力にIFN- $\beta$ を産生し、結果としてDNase II欠損マウスが胎仔期に貧血症を呈し致死に陥ることが示された。これは、DNase II欠損マクロファージが赤血球から放出された核を貪食するが、DNAを分解することができずに蓄積し、その結果としてIFN- $\beta$ を産生することが原因であることが示された<sup>8), 9)</sup>。これらの結果は自己のDNAが自然免疫応答を活性化することを強力に示唆している。

さらに筆者らは、ワトソン、クリック氏が最初に発表したとされる、右巻きの二本鎖B-form DNA (B-DNA)の構造が、TLR9非依存的に自然免疫応答を活性化するDNAとして最も活性の高いリガンドであることを見いだした。実際に合成のB-DNAを非免疫細胞であるマウス線維芽細胞やヒト胎児腎由来細胞 (HEK293) にトランスフェクション法で導入することにより、I型IFNや炎症性サイトカイン産生を強く誘導し、抗ウイルス作用などに重要な役割を担っていることが明らかになった<sup>10)</sup>。

このB-DNAによる自然免疫活性化能はアダプター分子であるIPS-1 (interferon  $\beta$  promoter stimulator-1, 別名MAVS/VISA/Cardif) が関与していること、そしてその下流であるTBK1 (TANK binding kinase 1) と呼ばれるキナーゼ、そして転写因子であるIRF-3 (interferon regulatory factor-3) 依存的であることが見いだされた<sup>11), 12)</sup>。その後、IPS-1のノックアウトマウスではB-DNAによるI型IFN産生には影響がないとの報告がなされ、ヒトとマウスにおける種差の存在が示唆された<sup>13)</sup>。さらに近年、いくつかの候補分子がDNAセンサーとして報告されたが、その多くが細胞やシグナルによって特異性などが異なっていることからいまだ定説化していない。そこで、それらDNAセンサーの機能や特徴について項目に分けて次章より解説する (図1)。

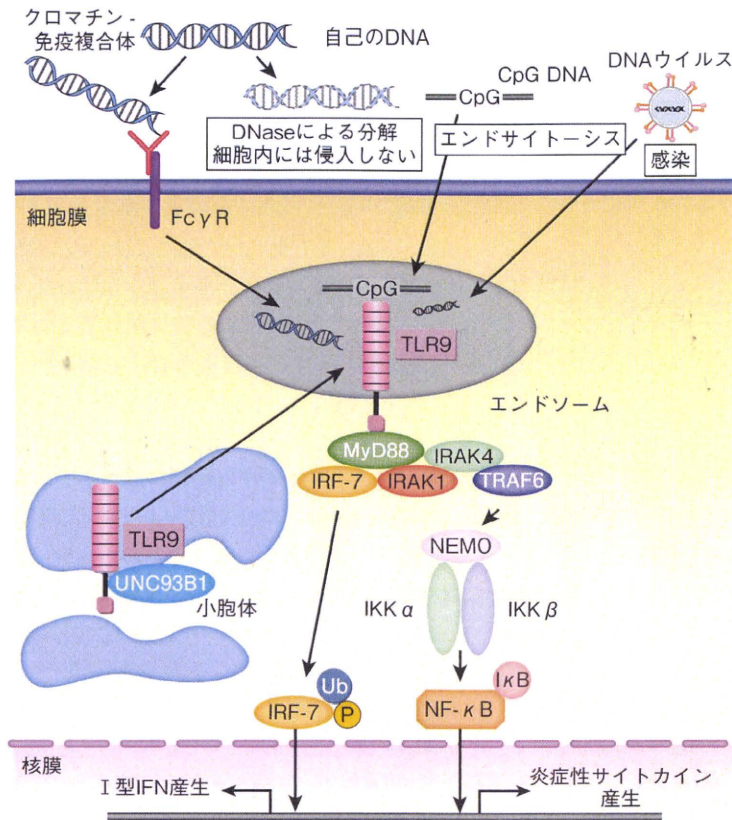
## I TLR9によるDNAの認識

TLR9は最も研究されているDNAセンサーであり、また核酸のレセプターとして最初に同定されたTLRでもある。TLR9はI型膜タンパク質で小胞体からエンドソームへと移行することが知られている。TLR9は非メチル化CpG配列を含むCpGモチーフを有しているDNAを認識し (その他ヘモジンも認識することも知られている)<sup>14)</sup>。ヒトではB細胞、一部の樹状細胞を活性化する<sup>15)</sup>。TLR9リガ

ンドとしてヒトに使用される (もしくは活性のある) CpG ODN (oligodeoxynucleotides) には大きく分けて2種類存在し、K (またはB) タイプとD (またはA) タイプがある。KタイプCpG ODNはB細胞や樹状細胞に作用しTLR9-MyD88認識経路を介して、NF- $\kappa$ Bを介した炎症性サイトカイン産生を誘導するとともに、B細胞の増殖能を向上させ、抗体産生をも促進する<sup>16)</sup>。DタイプのCpG ODNは形質細胞様樹状細胞 (pDC) のTLR9によって認識された後IRF-7を活性化し、I型IFNであるIFN- $\alpha$ 産生を誘導する<sup>17)</sup>。また、TLR9はウイルス由来のDNAも認識して抗ウイルス活性を誘導することも報告されている。実際、マウスサイトメガロウイルス (MCMV) や単純ヘルペスウイルス (HSV) -1やHSV-2、アデノウイルス (AdV) はpDCに発現しているTLR9によって認識され、IFN- $\alpha$ や他のサイトカイン産生を誘導する<sup>18)~21)</sup> (図2)。

TLR9はCpGモチーフを有していないDNAやDNAの糖骨格のみも認識できることが報告されている。実際にカチオン性のトランスフェクション試薬であるDOTAP (N-[1-(2,3-Dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimethylammonium methyl-sulfate) を使用することによって非メチル化CpG配列を有していないDNAがTLR9を活性化することが報告されている<sup>22)</sup>。DOTAPはDNAの取り込みと細胞内でのエンドソームのトラフィッキングを変化させることが知られているが、実際の生理的意義は不明である。ただし、TLR9の局在はDNAの認識に重要で、TLR9は通常小胞体に存在するが何らかの機序によりDNAを取り込んだエンドソームに移動するのは間違いないだろう。そこでCpG DNAはエンドソームの低pH環境下にて認識されると考えられている。細胞膜上に発現させた実験では自己のDNAによってTLR9による自然免疫の活性化が誘導されるといった報告もされている<sup>23)</sup>。しかしながら、この報告ではTLR9の膜および細胞質部位をTLR4のものと置換しているため、TLR9の生理的意義を反映しているとは言いがたい。

またエンドリソソーム内でカテプシンによるTLR9の切断が起こることが知られている。ある報告では、切断されたTLR9はリガンドであるCpGと結合することができること、MyD88を介した自然免疫活性化を誘導することが示された。そして、TLR9の欠損細胞に切断後のTLR9を強制発現させることによってCpGによる自然免疫活性化能が (一部ではあるが) 補完されることが示された<sup>24), 25)</sup>。同時期に、主にリソソームやエンドソームに存在するカテプシンKが、TLR9による自然免疫活性化にも関与していることが報告さ



■図2 TLR9を介した自然免疫活性化の分子メカニズム

れた。カテプシンKは骨を分解する酵素と考えられており、マウス関節リウマチモデルにカテプシンKの抑制剤を投与することによって、骨の破壊を抑制する結果が得られるとともに、TLR9による炎症性反応をも抑制することが示された<sup>26)</sup>。しかしながら、報告されているカテプシンの種類は1つではなく、特異的な抑制剤を用いても完全にはTLR9による自然免疫反応が失われないことから、生体内においては様々なプロテアーゼがTLR9の切断に関与していることが示唆されている<sup>27)</sup>。カテプシンによるTLR9の切断がその機能に必須であるか今後のさらなる検討が必要であろう。

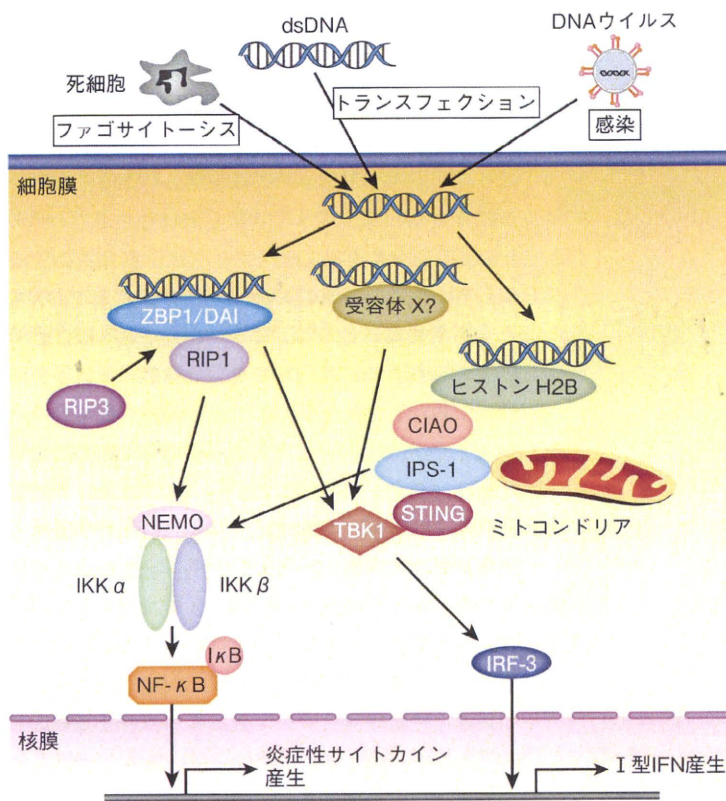
自己の核酸は通常DNaseやRNaseによって分解されるためレセプターに認識されないが、自己抗体やLL37, HMGB1 (high mobility group box protein1)などのDNA結合タンパク質と結合することによって安定化し、TLR7, 9に認識されることで免疫応答を活性化することが示唆されている。全身の臓器に炎症が起こる自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス(SLE)患者では樹状細胞や、自己反応性のB細胞が活性化されており、それらの大部分がTLR9に依存している

ことが報告されている。実際にSLE患者の血清中にはクロマチンとIgGの免疫複合体(自己のDNA, ヌクレオソームタンパク質, 抗ヌクレオソーム抗体)が検出され、この複合体はFc $\gamma$ Rを介してTLR9の存在するエンドソームへ取り込まれることが報告されている<sup>28)</sup>。

LL37と呼ばれる抗菌ペプチドは乾癬患者の皮膚から検出され、自己のDNAと結合することでDNAを安定させること、そしてエンドソーム内に自己のDNAを移行させ、TLR9を介した自然免疫応答を活性化することが報告された<sup>29)</sup>。HMGB1はネクロシスや細胞がCpGなどで刺激を受けることで細胞外に放出される。HMGB1はDタイプのCpGと直接結合することができ、pDC上のRAGEと呼ばれる細胞表面レセプターを介してIFN- $\alpha$ 産生を強力に誘導する。一方で、HMGB1はRAGEではなくTLR2やTLR4を介してサイトカイン産生を誘導するという異なった報告や<sup>30)~32)</sup>、あらゆる核酸に結合しその後の自然免疫活性に必須であるとの最近の報告もあり、これらの生理的意義は今後のさらなる検証が必要であろう<sup>33)</sup>。

他にもいくつかの因子がTLR9によるシグナル伝達に関与していることが報告されている。TLRによる自己免疫の誘導はTLR7とTLR9の双方が関与していることが示唆されているが、自己免疫疾患マウスモデルでは、TLR7を欠損させることにより症状が緩和されるが、TLR9を欠損させると症状が悪化するという逆の機能を示す。この現象に対し、膜タンパク質であるUNC93B1はTLR7, 9の膜貫通ドメインに特異的に結合し、TLR7, 9を小胞体からエンドソームへと輸送することが示された。一方で、UNC93B1の機能欠損マウス(3Dマウス)では、病原体の核酸に反応できなくなっていた。UNC93B1のN末端のドメインを介してTLR7の反応を抑制していることも明らかとなっており、UNC93B1のN末端の変異体(34番目のアスパラギン酸とアラニンに置換)ではTLR7による自然免疫活性化が増強されていたが、TLR9による自然免疫活性化は減少していた。実際に、UNC93B1の変異体を発現している細胞ではTLR7のエンドソームへの移行が認められるのに対して、TLR9の移行はほとんど認められないことが示された。すなわちUNC93B1はTLR7とTLR9のエンドソームへの輸送を制御することによってその反応性を調節していることが示された<sup>34), 35)</sup>。





■図3 細胞内DNAセンサーを介した自然免疫活性化の分子メカニズム

## II ZBP1/DAIによるB-form DNAの認識

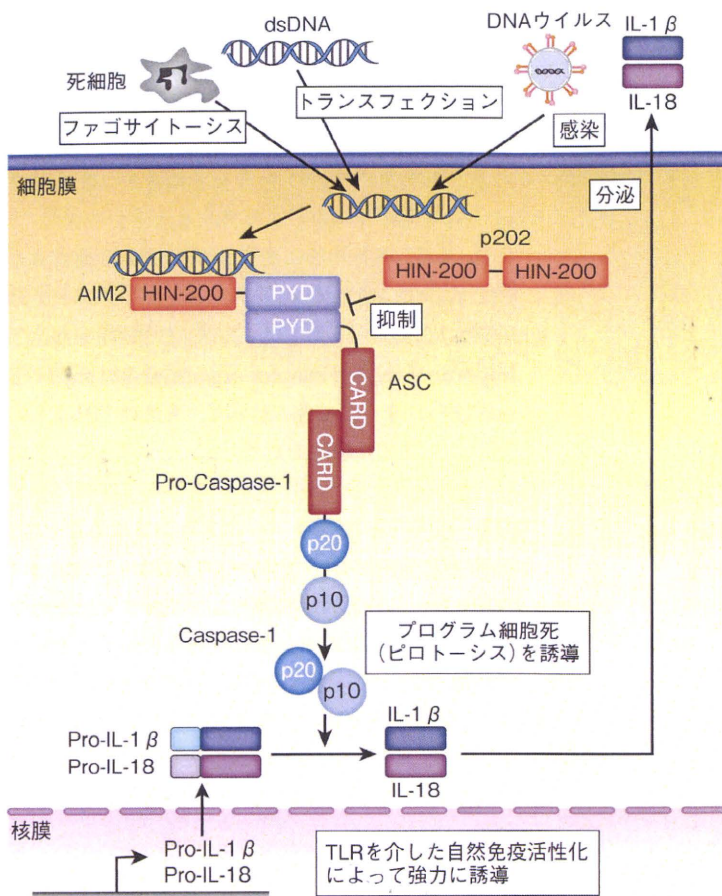
細胞内DNAによる自然免疫活性化の研究は古くから行われてきたが、TLR9非依存的なDNAの認識、そして分子メカニズムに関しては近年ようやく明らかとなってきた。B-DNAによるシグナル伝達はsiRNAによるシグナル伝達と共通している部分が多く、ヒトでは細胞内RNAセンサーであるRIG-Iやアダプター分子であるIPS-1がDNAによるI型IFN産生に関与していることが報告された。しかしながら、RIG-IやIPS-1欠損細胞ではB-DNAによる自然免疫応答に変化は見られなかった。一方でTBK1の欠損細胞においては完全にDNAによる自然免疫応答が抑制されていた。そして、ヒトとマウスなどの種は関係なくTBK1の関与が示されている。このようにシグナル伝達の解析は進んでいったが、肝心のレセプターの同定は報告がされてこなかった。

このような状況の中、ZBP1 (Z-DNA binding protein-1) /DAI (DNA-dependent activator of IFN-regulatory

factor) がDNAセンサーの1つの候補として同定された<sup>36)</sup>。ZBP1/DAIは自然免疫活性が強いB-DNAでなく左巻きのZ-DNAに強く結合することがすでに報告されている。実際に、ZBP1/DAIをL929細胞に過剰発現させることによってB-DNAによるI型IFN産生が増強されることが示された。また、特異的siRNAを用いた実験によって、ZBP1/DAIがB-DNAによるI型IFNやIL-6産生に関与していること、またHSV-1の複製に関与していることが示された。ZBP1/DAIはB-DNAと結合し、その下流であるTBK1-IRF-3の経路を活性化することも明らかとなっている<sup>36), 37)</sup>(図3)。しかしながらL929細胞以外の、マウス線維芽細胞や樹状細胞およびヒトの細胞ではZBP1/DAIの関与は示されておらず、ノックアウトマウスを用いた実験においてもDNAワクチンの免疫原性には関与していないことから、真のDNAセンサーは他にあると考えられている。

## III AIM2によるB-DNA認識とインフラマソーム

自然免疫レセプターの中で、NODドメインを有する分子群をNLR (NOD-like receptors) ファミリー分子と称し、細胞質における病原体認識を担っていると考えられている。NLRはNODドメインのほかにロイシンリッチリピート (LRR)、シグナル伝達に重要なドメインとしてCARD (caspase recruitment domain) やPYD (pyrin domain)、BIR (Baculovirus IAP repeat) などのドメインを持つものが知られ、NF-κBやCaspase-1活性化を誘導する。このファミリーにおいて最も研究されているNOD1とNOD2を除く大部分のNLRは活性化によりインフラマソームと呼ばれる複合体を形成する。最もよく研究されているNLRP3はRNAをはじめシリカや尿酸結晶、ペプチドグリカンやATPなど多様なリガンドにより活性化されることが知られており、活性化後に形成されたインフラマソームは、アダプター分子としてASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) を介し、互いのPYDとCARDで相互作用してCaspase-1を活性化することによりIL-1βやIL-18の前駆体を切断、細胞外へと分泌を促進する。一方で、DNAによってインフラマソームが活性化され、IL-1βが誘導されることも報告されたが、その認識に



■図4 AIM2を介したインフラマソーム活性化の分子メカニズム

はNLRP3 (NLR family, pyrin domain-containing 3) は関与しておらず、B-DNAによるIL-1 $\beta$ 産生には異なる認識経路またはレセプターを介していることが示唆された<sup>38)</sup>。

その後、HIN-200 (hematopoietic interferon-inducible nuclear proteins with a 200-amino acid repeat) というDNA結合ドメインを持つ遺伝子ファミリーメンバーであるAIM2 (absent in melanoma 2) が細胞質B-DNAによるインフラマソーム形成、その後のCaspase-1の活性化、細胞死の誘導に必須であることが相次いで報告された。AIM2は細胞質に存在し、HIN-200、PYDドメインを有しており、HIN-200ドメインを介して直接B-DNAと結合し、アダプター分子であるASCを介してCaspase-1を活性化することが*in vitro*で示された<sup>39)~42)</sup> (図4)、AIM2欠損マウスではDNAウイルスであるワクシニアウイルス (VV) やMCMV感染後のインフラマソーム活性化によるCaspase-1の活性化は誘導されず、またMCMV感染においてはIL-18の産生誘導やNK細胞依存的

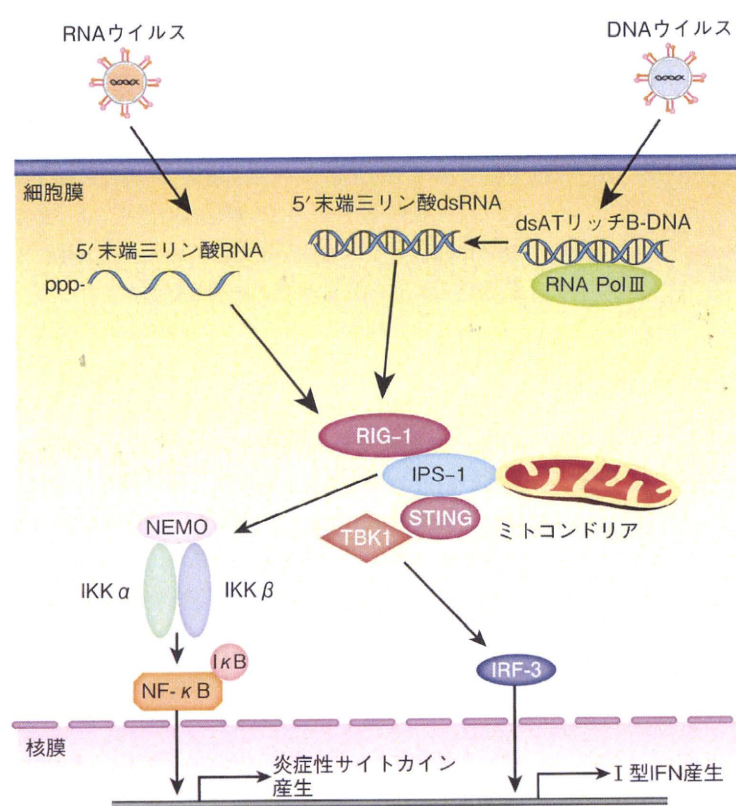
IFN- $\gamma$ 産生、そして初期のウイルスの複製をコントロールしていることが示された。また、AIM2欠損細胞では細胞内寄生菌のリステリア感染後のIL-1 $\beta$ 産生や、フランシセラ菌感染によるCaspase-1活性化も誘導されなかった。実際、AIM2欠損マウスに致死量のフランシセラ菌を感染させると、野生型に比べ低い生存率を示した。このことはAIM2が細菌感染においてレセプターとして働きインフラマソームを活性化することで、病原体の排除を誘導すると考えられる。特記すべき点として、AIM2欠損マウスではB-DNAによるI型IFN産生においては変化が見られなかった<sup>43), 44)</sup>。これらの結果よりAIM2は細胞内でDNAのレセプターとして働き、インフラマソームの活性化を介して細菌やウイルス感染防御に働いていることが強く示唆される。

また、マウスHIN-200ファミリーメンバーであるp20は特異的にB-DNAに結合するが、PYDドメインを有しておらず、AIM2とは異なりASCと相互作用できないため、AIM2を介したCaspase-1活性化を抑制する報告がなされた<sup>39)</sup>。しかしながら、p20に関しては現在ヒトにおけるホモログは見つかっておらず、他のHIN-200ファミリー分子とともにより詳細な解析が必要である。AIM2の自己DNAの認識、そして自己免疫疾患との関連、またDNAワクチンの免疫原性と明らかにされていない点が多い。

#### IV DNAセンサーとしてのRNAセンサーRIG-I

RNAヘリカーゼであるRIG-I、MDA5は細胞内RNAセンサーとして働くことが報告されている。B-DNAによるTLR9非依存的な自然免疫応答が報告された後に、RIG-IがDNAセンサーであると報告された。最初に、ヒトヘパトマ細胞であるHuh7細胞にRIG-I特異的なsiRNAで処理することにより、B-DNAによるI型IFN産生が抑制されることが示された<sup>45)</sup>。

その後、RNAポリメラーゼIII (Pol III) がDNAセンサーとして働くことが報告された。RNAポリメラーゼはATに富んだB-DNAをRNAに変換させ、そのRNAがRIG-Iによって認識され、I型IFN産生を誘導することが示された (図5)。実際にPol IIIの機能を抑制することが知られている薬剤は、B-DNA刺激やAdV、HSV-1、EBV (Epstein-Barr



■図5 RIG-I-RNA Pol IIIを介した自然免疫活性化の分子メカニズム

virus) 感染による IFN- $\beta$  産生を抑制した。同様の実験においてレジオネラ感染による IFN- $\beta$  産生も抑制され、結果としてレジオネラの増殖を促進させた。これらの結果は Pol III が DNA センサーとして自然免疫活性化に関与していることを示唆している<sup>46), 47)</sup>。しかしながら、ATに富んでいない DNA の認識、他の DNA センサーとの関連、自己 DNA の認識など不明な点は多い。

## V ヒストン H2B による B-DNA 認識

生体内において、ヒストンはクロマチンの構成成分として核内に存在することが重要であるが、筆者らの研究によって核外のヒストン H2B が B-DNA による自然免疫反応に重要であることが示された<sup>48)</sup>。これまでにヒストンが核外にも存在していることは様々な分野で報告されている。ヒストン H1.2 は DNA 損傷によって核内からミトコンドリアへと輸送され、アポトーシスを誘導すること<sup>49)</sup>、そして複数の生物種におい

て、リンカーヒストンであるヒストン H1 やヒストン H2A, H2B が抗菌物質として存在していることが報告されている<sup>50), 51)</sup>。

ヒストン H2B を強制発現させることで、B-DNA による自然免疫活性化を著しく誘導し、特異的な siRNA を用いた実験により他のヒストンではなく、ヒストン H2B 特異的に I 型 IFN 産生を抑制することを示した。また、ヒストン H2B はアダプター分子 IPS-1 と新規分子である CIAO (COOH-terminal Importin 9-related adaptor organizing histone H2B and IPS-1) を介して相互作用し、下流の TBK1 を活性化し I 型 IFN 産生を誘導することを明らかにした(図3)。また DNA ウイルスの複製にも関与しており、ヒストン H2B をノックダウンさせることで、AdV やヒトパピローマウイルス (HPV) の複製が増大された。しかしながら RNA ウイルスではそのような変化は見られなかった。これらの結果はマウスの細胞を用いた実験では同様の結果が得られず、DNA センサーはヒトとマウスではその機能や役割が異なっている可能性が示唆された。このことはヒストン H2B が核外で自然免疫活性化分子として働く可能性があることを示しているだろう。

## VI DNA 認識関連分子

近年、多くの分子が DNA や RNA による自然免疫誘導に関与していることが報告された。4 回膜貫通型タンパク質である STING (stimulator of interferon genes, MPYS/TMEM173) は、MHC クラス II 分子に結合することでアポトーシスシグナル伝達に必須であることが最初に報告されたが、B-DNA による I 型 IFN 産生にも関与している。実際に、STING 欠損細胞では B-DNA 刺激や HSV、リステリア感染時における I 型 IFN 産生が誘導されなかった。STING は B-DNA の直接のレセプターではないものの、B-DNA 刺激後に小胞体からゴルジ体に輸送され、TBK1 と相互作用することが報告された。STING 欠損マウスでは HSV への感受性が高くなっており、野生型に比べ生存率が低く、DNA ワクチンの免疫原性も T 細胞、B 細胞ともに STING 欠損マウスでは減少が見られた<sup>52), 53)</sup>。

細胞内核酸結合タンパク質である LRRFIP1 (leucine rich repeat (in FL II) interacting protein 1) は RNA ウイルスであ

るVSVやリステリア感染によるマクロファージからのI型IFN産生に関与していることが報告された。実際に、LRRFIP1を強制発現させることによりdsRNAやB-DNA刺激によるIFN- $\beta$ 産生を増大させた。また、 $\beta$ -カテニンと相互作用することによって $\beta$ -カテニンを活性化し、IRF-3を介してIFN- $\beta$ 産生を増大することが示された<sup>54)</sup>。さらに、元々共転写因子として同定されたスレオニンホスファターゼの一種であるEYA4 (Eyes absent 4) はB-DNAによるI型IFN産生をSTINGとIPS-1と相互作用することにより増強することが報告された<sup>55)</sup>。

## VII DNAワクチンとDNAセンサー

DNAワクチンは発現プラスミドに抗原遺伝子を組み込み、投与することによって抗原遺伝子を生体内に発現させることで、抗原に対する特異的免疫を誘導させるための免疫法である。DNAワクチンは骨格にCpG配列を有しているためTLR9を介した自然免疫応答を活性化することができる。そしてそれがワクチンによる免疫原性に関与していると考えられてきた。しかしながら、筆者らの研究によって、IRF-3キナーゼであるTBK1がDNAワクチンのアジュバント効果に必須であることが示された。そして、TLR9欠損マウスではDNAワクチンによって誘導される免疫応答は正常であった。このことは細胞内DNAセンサーがワクチンの免疫原性に重要であることを強く示唆している。そしてIFNレセプター欠損マウスではDNAワクチンによる免疫応答が誘導されなかったことから、I型IFNが重要であることも明らかとなった<sup>11)</sup>。それではどのDNAセンサーがDNAワクチンの免疫原性に重要なのであろうか。ZBP1/DAIの欠損マウスではDNAワクチンによって誘導される免疫応答は正常であったが、STINGの欠損マウスでは免疫応答の減少が示された<sup>53)</sup>。他のDNAセンサーの欠損マウスではいまだ報告はない。AIM2, RIG-I, そしてヒストンH2B, はたまた他のDNAセンサー、DNAワクチンの免疫原性に関与しているDNAセンサーを同定することが、いまだヒトに応用されていないDNAワクチンを臨床で用いるためには必須である。

## VIII 自己免疫疾患とDNA

自己のDNAと自己免疫疾患との関連はDNAを分解する

酵素であるDNaseのノックアウトマウスを用いた研究によって報告されている。DNase Iはエンドヌクレアーゼであり、プラスミンとともにネクローシスによって死んだ細胞から放出されたクロマチンを低分子に分解するために必要である。DNase Iが欠損していると高分子の状態が保たれることで、自然免疫応答を活性化すると考えられている。実際にSLEの患者においてDNase Iの変異も確認することができる。また、DNase Iの欠損マウスではSLE様の症状を示しており、DNase I欠損がB-DNAとヌクレオソームに対する自己抗体産生、SLE患者の糸球体腎炎にも密接に関与していると考えられている<sup>56), 57)</sup>。同様にDNase IIはアポトーシスによって死んだ細胞からのDNAを排除するために必須なエンドヌクレアーゼである。DNase IIを欠損させるとファゴサイトーシスによってマクロファージ内に取り込まれたDNAが分解できず蓄積する。この分解できず蓄積したDNAはTLR非依存的にIFN- $\beta$ 産生を強力に誘導するため、マウスは死んでしまう。このマウスにIFNR1欠損マウスを掛け合わせることで、マウスの致死性がなくなることが報告されている。しかしながら、このマウスは出生後2カ月経過すると自己免疫である多発性関節炎を発症してしまい、それにはTNF- $\alpha$ が関与していることが報告された<sup>8), 9)</sup>。

Trex1/DNase IIIはDNAのホメオスタシスの調節に関与していること、DNAによる自然免疫活性化や自己免疫、炎症性疾患に関連していることが報告された。Trex1はエクソヌクレアーゼであり、すでに変異がSLE患者から見つかっている。また、RNaseH2との変異が遺伝性の炎症性疾患であるAicardi-Goutiere症候群の発病に関与しているとの報告もなされており、実際にTrex1欠損マウスでは炎症性心筋炎が確認され、その症状はIRF-3やIFNR1欠損マウスでは見られないか、軽減が確認された。Trex1欠損細胞ではssDNAの蓄積が見られ、自己抗体の産生も確認された。それゆえTrex1はDNAの消化にも関与しており、自己のDNAの反応を抑制するために働いていることが考えられる<sup>58)~61)</sup>。

これらの結果は、細胞内に異常なDNAが蓄積することが自然免疫応答を活性化させ、過度な炎症を引き起こすことによって自己免疫疾患を誘発していることを示唆している。

## おわりに

これまでTLR9がDNAを認識する自然免疫レセプターとして知られてきたが、近年いくつかの細胞内DNAセンサー

■表1 DNAセンサーと病原体

レセプター	病原体	表現型	
TLR9	結核菌	感染後のIL-12 p40産生減少(欠損樹状細胞) <sup>62)</sup>	
		感染後のIL-12 p40, IFN- $\gamma$ 産生減少, 感染後の致死性増大(欠損マウス) <sup>62)</sup>	
	MCMV	感染後のIFN- $\alpha$ , IL-12産生減少(欠損樹状細胞) <sup>18)</sup> 感染後の血清中IFN- $\alpha$ , IL-12産生減少(欠損マウス) <sup>18)</sup>	
	HSV-1	感染後のIFN- $\alpha$ , IL-12産生減少(欠損樹状細胞) <sup>19)</sup>	
	HSV-2	HSV-2(UV処理)刺激後のIFN- $\alpha$ 産生減少(欠損樹状細胞) <sup>20)</sup>	
ZBP1/DAI	HSV-1	Ad-LacZ刺激後のIFN- $\alpha$ 産生減少(欠損樹状細胞) <sup>21)</sup>	
		Ad-LacZ投与後(静脈内)のIFN- $\alpha$ 産生減少(欠損マウス) <sup>21)</sup>	
AIM2	VV	Ad-LacZ投与後(静脈内)のIFN- $\alpha$ 産生減少(欠損マウス) <sup>21)</sup>	
		Ad-LacZ投与後(静脈内)のIFN- $\alpha$ 産生減少(欠損マウス) <sup>21)</sup>	
	MCMV	感染後のIFN- $\beta$ mRNAレベルの減少(L929細胞(siRNA)) <sup>36)</sup> 感受性増大(L929細胞(siRNA)) <sup>36)</sup>	
	リステリア	感染後のIL-1 $\beta$ 産生減少(欠損マクロファージ) <sup>44)</sup>	
		感染後の血清中IL-18産生減少(欠損マウス) <sup>44)</sup> 感受性増大(欠損マウス) <sup>44)</sup>	
フランシセラ属	感染後のIL-1 $\beta$ 産生減少(欠損マクロファージ) <sup>44)</sup> 感染後の血清中IL-18産生減少(欠損マウス) <sup>43)</sup> 感染後の致死性増大(欠損マウス) <sup>43)</sup>		
RNA PolIII/RIG-I	レジオネラ	感染後のIFN- $\beta$ mRNAレベルの減少(阻害剤使用) <sup>46)</sup> 感受性増大(阻害剤使用) <sup>46)</sup>	
		HSV-1	感染後のIFN- $\beta$ mRNAレベルの減少(阻害剤使用) <sup>46)</sup>
		EBV	感染後のIFN- $\beta$ mRNAレベルの減少(阻害剤使用) <sup>46)</sup>
		AdV	感染後のIFN- $\beta$ mRNAレベルの減少(阻害剤使用) <sup>46)</sup>
ヒストンH2B	HPV	感受性増大[HEK293細胞(siRNA)] <sup>48)</sup>	
	AdV	感受性増大[SSC-4細胞(siRNA)] <sup>48)</sup>	

が相次いで報告されたことで、TLR9非依存的な自然免疫DNA認識機構の研究に脚光が集まっている。病原体由来のDNAだけではなく自己のDNAに対するDNAセンサーの役割を解明することは、感染症のみならず、DNAが病原性に関わる疾患、例えば自己免疫疾患の原因や治療に向けて重要になると思われる。

DNAワクチンに関してはワクチンそのものにアジュバントとしてのDNAが含まれており、免疫原性にSTING-TBK1-IRF-3を介した自然免疫シグナル経路が関与している。どのDNAセンサーがDNAワクチンの免疫原性に関与しているのであろうか？ 新たなDNAセンサーの検索を含め今後の研究の進展が望まれる。

さらには、TLR9やその他のDNAセンサーによるDNA認識という現象が、自然免疫における生体防御だけでなく、例えばDNA損傷に対するゲノムのホメオスタシスに関与し

ていたり、細胞死の誘導から創傷治癒に向けたシグナルを制御していても何の不思議はなく、今後多方面にわたりDNAおよびDNAセンサーの生物学的作用が明らかになることを期待したい。

#### PROFILE 小檜山康司

- 医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト  
大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学
- E-mail: kobi@nibio.go.jp
- 趣味: バスケットボール

2003年東京薬科大学薬学部卒業。2009年横浜市立大学大学院博士課程修了(医学博士)。2010年より現職。

#### PROFILE 石井 健

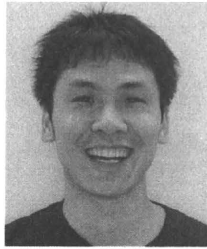
- 医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト  
大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学
- E-mail: kenishii@biken.osaka-u.ac.jp

## 文献

- 1) Hemmi H, et al: *Nature* (2000) 408: 740-745
- 2) Akira S, et al: *Cell* (2006) 124: 783-801
- 3) Ishii KJ, et al: *Immunity* (2005) 23: 111-113
- 4) Yoneyama M, et al: *Adv Drug Deliv Rev* (2008) 60: 841-846
- 5) Tokunaga T, et al: *J Natl Cancer Inst* (1984) 72: 955-962
- 6) Isaacs A, et al: *Lancet* (1963) 2: 113-116
- 7) Suzuki K, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* (1999) 96: 2285-2290
- 8) Kawane K, et al: *Nature* (2006) 443: 998-1002
- 9) Yoshida H, et al: *Nat Immunol* (2005) 6: 49-56
- 10) Ishii KJ, et al: *Nat Immunol* (2006) 7: 40-48
- 11) Ishii KJ, et al: *Nature* (2008) 451: 725-729
- 12) Kumar H, et al: *J Exp Med* (2006) 203: 1795-1803
- 13) Sun Q, et al: *Immunity* (2006) 24: 633-642
- 14) Coban C, et al: *Cell Host Microbe* (2010) 7: 50-61
- 15) Latz E, et al: *Nat Immunol* (2007) 8: 772-779
- 16) Verthelyi D, et al: *Clin Immunol* (2003) 109: 64-71
- 17) Kumagai Y, et al: *Adv Drug Deliv Rev* (2008) 60: 795-804
- 18) Krug A, et al: *Immunity* (2004) 21: 107-119
- 19) Krug A, et al: *Blood* (2004) 103: 1433-1437
- 20) Lund J, et al: *J Exp Med* (2003) 198: 513-520
- 21) Zhu J, et al: *J Virol* (2007) 81: 3170-3180
- 22) Honda K, et al: *Nature* (2005) 434: 1035-1040
- 23) Barton GM, et al: *Nat Immunol* (2006) 7: 49-56
- 24) Park B, et al: *Nat Immunol* (2008) 9: 1407-1414
- 25) Ewald SE, et al: *Nature* (2008) 456: 658-662
- 26) Asagiri M, et al: *Science* (2008) 319: 624-627
- 27) Matsumoto F, et al: *Biochem Biophys Res Commun* (2008) 367: 693-699
- 28) Krug A: *Handb Exp Pharmacol* (2008): 129-151
- 29) Lande R, et al: *Nature* (2007) 449: 564-569
- 30) Apetoh L, et al: *Immunity* (2007) 220: 47-59
- 31) Tian J, et al: *Nat Immunol* (2007) 8: 487-496
- 32) Abdulahad DA, et al: *Autoimmun Rev* (2010) 9: 661-665
- 33) Yanai H, et al: *Nature* (2009) 462: 99-103
- 34) Brinkmann MM, et al: *J Cell Biol* (2007) 177: 265-275
- 35) Kim YM, et al: *Nature* (2008) 452: 234-238
- 36) Takaoka A, et al: *Nature* (2007) 448: 501-505
- 37) Wang Z, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* (2008) 105: 5477-5482
- 38) Schroder K, et al: *Cell* (2010) 140: 821-832
- 39) Roberts TL, et al: *Science* (2009) 323: 1057-1060
- 40) Hornung V, et al: *Nature* (2009) 458: 514-518
- 41) Fernandes-Alnemri T, et al: *Nature* (2009) 458: 509-513
- 42) Bürckstümmer T, et al: *Nat Immunol* (2009) 10: 266-272
- 43) Fernandes-Alnemri T, et al: *Nat Immunol* (2010) 11: 385-393
- 44) Rathinam VA, et al: *Nat Immunol* (2010) 11: 395-402
- 45) Cheng G, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* (2007) 104: 9035-9040
- 46) Chiu YH, et al: *Cell* (2009) 138: 576-591
- 47) Ablasser A, et al: *Nat Immunol* (2009) 10: 1065-1072
- 48) Kobiyama K, et al: *J Virol* (2010) 84: 822-832
- 49) Konishi A, et al: *Cell* (2003) 114: 673-688
- 50) Park CB, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* (2000) 97: 8245-8250
- 51) Kawasaki H, et al: *Biochem Biophys Res Commun* (2003) 312: 1082-1086
- 52) Ishikawa H, et al: *Nature* (2008) 455: 674-678
- 53) Ishikawa H, et al: *Nature* (2009) 461: 788-792
- 54) Yang P, et al: *Nat Immunol* (2010) 11: 487-494
- 55) Okabe Y, et al: *Nature* (2009) 460: 520-524
- 56) Napirei M, et al: *Nat Genet* (2000) 25: 177-181
- 57) Yasutomo K, et al: *Nat Genet* (2001) 28: 313-314
- 58) Morita M, et al: *Mol Cell Biol* (2004) 24: 6719-6727
- 59) Lee-Kirsch MA, et al: *Nat Genet* (2007) 39: 1065-1067
- 60) Yang YG, et al: *Cell* (2007) 131: 873-886
- 61) Stetson DB, et al: *Cell* (2008) 134: 587-598
- 62) Bafica A, et al: *J Exp Med* (2005) 202: 1715-1724

# 自然免疫とワクチン開発

Innate immunity and vaccine development



小檜山康司(写真) 石井 健

Kouji KOBAYAMA and Ken ISHII

医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト, 大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学

◎感染症や癌, アレルギーなど, ワクチンによる予防, あるいは治療方法の開発研究が昨今とくに盛んになってきている。とくに近年の自然免疫研究成果によって, 以前は免疫学者の“Little dirty secret”と揶揄されていたアジュバントは, その作用機序が分子レベルでつぎつぎと明らかになってきている。アジュバントによる多様な自然免疫認識機構, シグナル伝達, サイトカインなどによる細胞間クロストークなどが, ワクチンの有効性すなわち防御抗原に対する獲得免疫応答を誘導するために重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。ワクチンの作用機序を細胞レベル, 分子レベルで解析することは, その有効性のみならず, ワクチン開発の特徴でもある非常に高い安全性の担保においても重要である。また, より効果的なワクチンを開発し医療現場へと還元していくためには, 個々の研究室だけではなく, 多様な研究領域がコンソーシアムを築き連携しあうことが必須であり, かつ産学官による合理的な開発, 認可体制の構築が望まれる。

**Key word** : 自然免疫, ワクチン, アジュバント

1798年にエドワード・ジェンナーが天然痘ワクチンを発表してから200年以上がたち, 微生物学, 免疫学, 分子細胞生物学の発展の恩恵を受けて昨今のワクチン開発研究は大きく変貌を遂げ, ワクチンは感染症予防の第一手段として重要な位置を担うこととなった。ワクチンに加え, 公衆衛生の改善や抗生物質・抗ウイルス薬などの普及などで, 感染症撲滅は近いと考えられた時代もあった。

しかし近年, ヒト免疫不全ウイルス(HIV)やエボラウイルス, ウエストナイルウイルス, SARS, 鳥(新型)インフルエンザウイルスなどの新興感染症や結核やマラリアなどの再興感染症の勃興や, 炭疽菌などを使用したバイオテロリズムなどの問題が浮上し, 感染症研究, ワクチン開発研究が再度重要視されるようになってきた<sup>1)</sup>。現在では弱毒化された病原体を投与する生ワクチンのみでなく, 全粒子不活化ワクチンや, 組換え蛋白やペプチドを抗原としたコンポーネントワクチン, また核酸を基盤としたDNA・RNAワクチン, ウイルスや

細菌をベクターとしたワクチンなど, さまざまなワクチンの開発が進められている。

ワクチンの対象疾患に関しても感染症のみならず癌やアレルギー, 自己免疫疾患, 高血圧, 糖尿病, Alzheimer病, てんかんにまでその可能性は広がりを見せている。

しかし, これらの感染症や各種疾患に有効なワクチンを開発しようにも, 個々の研究室レベルでは困難である。とくに感染症に対する予防ワクチンは多くの健常人を対象に接種されるため, きわめて高い安全性が要求される。そのうえ多大なコスト(人, 予算, 時間)がかかり, ワクチンの新規性が高ければ高いほど審査のハードルも高くなりがちである。このような状況のなかで, ワクチン開発の鍵は有効性と安全性を担保しうる科学的エビデンス, すなわち作用機序の解明にかかっているといても過言ではない。

ではその作用機序の解明はというと, やはり微生物学, 免疫学の貢献は大きい。とくに過去数十年における遺伝子組換え技術や自然免疫研究の進

歩により、ワクチンには防御能力を寄与する抗原と、その獲得免疫を付与する自然免疫膺活化アジュバントが必須であることが明らかになった。アジュバント候補物質によって惹起される自然免疫応答、その受容体やシグナル伝達経路が明らかになり、またその結果誘導されるサイトカインやインターフェロン、ケモカインなどのエフェクター因子がワクチンの効果に密接に関与していることが判明した。すなわち、分子の言葉でワクチンおよびアジュバントの作用機序が語れるようになり、ワクチン、アジュバントの安全性や有効性の理論基盤となりつつある。アジュバントの研究により、なぜ生ワクチンが効くのか、コンポーネントワクチンなどの抗原のみでは効果が乏しいのかという疑問を解決するための証明がなされてきた。

本稿ではワクチン開発研究の現状と今後の展望に関して、免疫学分野から解説したい。

## ● ワクチンの種類

ワクチンによる有効性とは、病原体由来の成分(抗原)を投与することにより宿主の免疫反応(免疫原性)が誘導され、その後の病原体の感染や発症を防ぐことをいう。この免疫原性誘導には抗原が必須であり、ワクチン開発研究にとって病原体由来の最適な防御抗原を探索することはもっとも重要なプロセスの一部である(抗原スクリーニング)。

① 生ワクチン……防御抗原として以前から使用されてきたものとして、弱毒化した病原体をそのまま用いる生ワクチンがある。生ワクチンは、宿主に感染、ある程度増殖することができるため、抗原の種類、発現様式を含めて実際の感染にもっとも近く、効果的に抗原(病原体)特異的免疫応答を誘導することができる。しかし、弱毒化されたとはいえ、生きた病原体による副作用の危険性はゼロとはいえ、限られた感染症にしか応用することができない。

② 不活化ワクチン……不活化ワクチンは何らかの方法により複製・増殖ができないようになり、安全性の面では生ワクチンに比べ高いと考えられる。しかし、病原体の成分のすべてを生

体内に投与するため、毒素や核酸、または未知の成分による副作用の可能性など、安全性にやや問題が残る。

③ コンポーネントワクチン……組換え蛋白やペプチドなどの抗原を用いたコンポーネントワクチンは、病原体の抗原以外の毒素や核酸などによる副作用の可能性は低いが、ワクチン抗原の免疫原性が低いことが知られており、ワクチン抗原のみでの臨床応用は難しいため、経験的にアジュバントが用いられてきた。

④ DNAワクチン……DNA ワクチンはいまだ詳細な作用機序が明らかとなっておらず、ヒトでの臨床応用はいまだかなっていない。しかし、DNA ワクチンは安価で安全性は高いと考えられており、また抗原遺伝子の発現細胞を選択できるなどといった利点も多い。近年、著者らの研究により未知の細胞内 DNA 受容体を介し、TBK1 とよばれるリン酸化酵素が DNA ワクチンの免疫原性に重要な役割を果たしていることが明らかとなった<sup>2)</sup>。今後はこれらの結果を踏まえ DNA ワクチンの詳細な作用機序が明らかとなれば、DNA ワクチンの臨床応用における安全性の向上に役立つと思われる。

⑤ ウイルスベクター利用のワクチン……ワクシニアウイルスやアデノウイルスなどのウイルスベクターを利用したワクチンでは、ウイルスの特性を有しているため免疫原性の高さ(抗原発現量の増強)が特徴である。しかし、骨格がウイルスであることから、ベクターに対する免疫が存在することや、ベクターのウイルス自体による副作用が懸念されているのも事実である。

このようにさまざまなタイプのワクチンが研究開発されているが、多くの問題が残されている。今後、これらの既存・新規のワクチンの作用機序を明らかにすることが、安全性の確立および臨床への応用のために必要である。

## ● アラムアジュバントの作用機序

ワクチンアジュバントは、ワクチンのみでは免疫原性が低く効果が乏しい、または感染防御に必要とされる免疫反応がワクチンによって誘導される免疫反応と異なるときに非常に重要な役割を果



たす。日本では水酸化アルミニウムゲル(アラム)が臨床応用されて以降、あらたなアジュバントが臨床応用されてこなかった。ここ数年ようやく、ヒトパピローマウイルス(HPV)ワクチンのアジュバントとして AS04(GSK 社, MPL が主成分で LPS よりマイルドな TLR4 リガンド)が認可され、輸入新型インフルエンザワクチンの AS03(GSK 社), MF59(ノバルティス)とよばれるスクアレンを基剤としたアジュバントが特例承認された<sup>3)</sup>。

アラムはさまざまな種類のワクチンにアジュバントとして応用されてきた。特徴としては液性免疫(Th2 型免疫応答)を誘導し、また強力に抗原特異的 IgE 抗体産生を誘導することできる。アラムのアジュバント効果のメカニズムとして、ワクチン抗原の生物学的・免疫学的半減期を延長させる(徐放効果)ことにあると長らく解釈されていたが、近年、アラムは細胞質内に存在するインフラマソームを構成する NLRP3 という蛋白(受容体と称されるが、直接の作用は証明されていない)に作用し、caspase-1 を活性化することにより IL-1 $\beta$  や IL-18 などの炎症性サイトカイン分泌を促進することが報告された<sup>4,5)</sup>。そのためアジュバント効果もインフラマソームに依存的であることが示唆されたが、その後の研究でアジュバント効果とインフラマソームを疑問視する報告があいついでなされた<sup>6,7)</sup>。現在では、NLRP3 がアラムのアジュバント効果に関与しているのはアラムによって誘導される抗原特異的 IgE 産生のみで、そのほかの IgG 産生には無関係と考えられている。つまりアラムのアジュバント効果の鍵を握る自然免疫経路や、受容体などはいまだ不明だといわざるをえず、今後の研究の進展が待たれる。

### ● 体液性免疫を誘導するワクチンアジュバント

痛風の原因である尿酸結晶も NLRP3 インフラマソームに作用し、caspase-1 を活性化することにより IL-1 $\beta$  や IL-18 などを分泌促進し、強い炎症反応を誘導することが報告されている<sup>8)</sup>。また、TLR4 や TLR2 などに作用することにより TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 などのサイトカインを産生誘導することも報告されている<sup>9)</sup>。実際に、尿酸結晶は

Th2 型の免疫応答を強く誘導するアジュバント活性を有しているが、アラムと同様にアジュバント活性と NLRP3 との関与は明らかとなっていない。実際に痛風患者では尿酸結晶が生成されているが、生成された尿酸結晶がアジュバント活性(Th2 型の免疫応答)を有しているかは明らかとなっていない。これらの作用機序を明らかにすることは痛風の治療のためにも重要である。

最近著者らの研究グループが、マラリア毒素ともよばれるヘモゾインがアジュバント活性を有していることを明らかとした。ヘモゾインはヘムの二量体のポリマーで nm $\sim$  $\mu$ m サイズの結晶体であり、マラリア原虫が赤血球のヘモグロビンを消費した後にヘムの代謝産物として生成する。生成されたヘモゾインは TLR9 に作用することが明らかとなり、後述する CpG ODN とは異なり Th2 型の免疫応答を強く誘導することが明らかとなった。しかし、合成したヘモゾインのアジュバント活性は、TLR9 の下流に位置するアダプター分子である MyD88 によって制御されていることが明らかとなり、TLR9 には関与していなかった。同様にインフラマソームにも関与していないことが明らかとなった<sup>10)</sup>。このように自然免疫活性化とアジュバント活性は異なることも見出されており、アジュバントの詳細なメカニズムを明らかにすることは新規ワクチン開発においても重要な課題である。

### ● 細胞性免疫を誘導するワクチンアジュバント

ある種の感染症においては Th2 型の免疫応答だけでは予防効果が十分でなく、細胞性免疫(Th1 型免疫応答)を誘導することが必要であることも明らかとなっている。しかし、アラムをアジュバントとするワクチンは Th2 型免疫応答を誘導することがすでに知られている。それゆえ、ワクチンによって誘導される免疫応答を Th2 型から Th1 型免疫反応へとシフトさせるアジュバントの開発が近年非常に活発に行われてきた。

とくに最近の自然免疫研究の発展に伴い、細胞性免疫を誘導するアジュバント開発研究はここ数年、その規模や競争の度合いが激化している。そ

の代表格が TLR のリガンドであろう。もともと以前から知られていた免疫賦活化物質がつぎつぎと各種 TLR のリガンドであることが判明し、その TLR を介した免疫学的な作用が強力なアジュバント活性に必須であることが明らかとなってきた。

TLR4 のリガンドである lipopolysaccharide (LPS) は強力なアジュバント活性を有しており、Th1 型の免疫反応を誘導することができる。しかし、毒性が強くと臨床応用には高いハードルがあるとされていたが、現在は LPS の毒性を軽減した monophosphoryl lipid A (MPL) を含む新規アジュバントが開発研究され、HPV ワクチンのアジュバントとして日本でも最近認可された<sup>11)</sup>。合成二本鎖 RNA である Poly(I:C) は TLR3 および細胞質 RNA 受容体 MDA5 のリガンドであり、強力に Th1 型免疫反応を誘導することができる。ただし、Poly(I:C) は毒性が強くと、毒性を軽減した二本鎖 RNA の Ampligen (PolyI : PolyC12U) はインフルエンザワクチンのアジュバントとして臨床試験が行われている<sup>12)</sup>。TLR9 のリガンドである CpG ODN もアジュバントとしての応用が期待されている。CpG ODN は K(B とも)タイプと D(A とも)タイプに分けることができ、それぞれ誘導する自然免疫応答は異なっているが、共通して Th1 型の免疫応答を誘導することができる。実際に B 型肝炎ワクチンやインフルエンザウイルスワクチンのアジュバントとしての開発が進んでいる<sup>13)</sup>。また、アジュバントとしてだけでなく抗癌剤としての応用も期待されている<sup>14)</sup>。

## ● ワクチンとサイトカイン (I 型 IFN)

より効果的で安全なワクチンを開発するためにワクチンの免疫原性を高める必要があることはすでに述べた。また、免疫原性を高めるためには、アジュバントとよばれる自然免疫活性化を惹起するためのリガンドが必要であることも述べた。ここではインフルエンザワクチンのアジュバントによる自然免疫賦活化において、どのような受容体か、どのような免疫細胞が、どのようなエフェクター因子(サイトカインなど)がワクチンの免疫原性にかかわってくるか、著者らが行った研究をも

とに解説したい。

現在世界では大きく分けて 3 種類のインフルエンザワクチンが存在する。いわゆる弱毒生ワクチンと全粒子ワクチンとスプリットワクチンである。弱毒生ワクチンはアメリカでのみ認可されており、弱毒化したウイルスを投与する。全粒子ワクチンはホルマリン固定するため増殖能は欠損しているが、ウイルス粒子そのものを基盤としているため、ウイルス由来の核酸やさまざまな抗原を含んでいる。最後に、現在日本で毎年投与されているワクチンでもあるスプリットワクチンは、HA、NA とよばれるウイルス表面抗原が大部分を占めており、ウイルス由来の核酸は除かれている。すなわち、生ワクチンと全粒子ワクチンはその成分としてウイルス由来の一本鎖 RNA (ssRNA) を有しており、その RNA は TLR7 に認識され、自然免疫応答を誘導し、サイトカインである I 型 IFN 産生を誘導する。しかし、スプリットワクチンでは RNA がいないため、このような自然免疫賦活化作用を示さなかった。つまり 3 種のワクチンで自然免疫賦活化能が異なるのである。

この差が、それぞれのワクチンの効果、有効性と相関があるのであろうか。実際に全粒子ワクチンとスプリットワクチンをマウスに免疫した後、致死量のインフルエンザウイルスを感染させたところ、スプリットワクチンを免疫したマウスは生存することができなかった。また、I 型 IFN によるシグナル伝達に重要な IFN レセプターの欠損マウスを用いて同様の実験を行ったところ、野生型のマウスに比べ全粒子ワクチン投与による感染抵抗性が失われていた。これは、サイトカインである I 型 IFN がインフルエンザワクチンの効果に深く関与していることを示唆している。それと同時に、I 型 IFN によって誘導される IFN-inducible gene がワクチンの感染抵抗性に関与している可能性も示唆している。また、TLR7 欠損マウスを用いても全粒子ワクチンによる感染抵抗性が失われていた。

さらに自然免疫担当細胞のなかで、どのような細胞がこれらの作用に重要か検証した。実験の詳細は省くがウイルス由来の ssRNA から I 型 IFN を産生している形質細胞様樹状細胞 (pDC) を除去

すると、全粒子ワクチンによる防御効果はみられなかった。これは pDC および pDC における TLR7 のシグナルがワクチンの免疫原性に重要な役割を果たしていることを示唆している。また、スプリットワクチンに TLR9 のリガンドである CpG ODN を利用した CpG-SPG をともに投与したところ、インフルエンザウイルスに対する感染抵抗性を獲得した。この結果は TLR7 欠損マウスでもみられ、ワクチンによる感染抵抗性の獲得には抗原とともに自然免疫活性化シグナルが重要な役割をしていることを示唆している。

まとめると、身近なインフルエンザワクチンにおいてもその抗原と無関係に、ワクチンの内因性のものを含むアジュバントがその有効性の有無の鍵を握っており、そのメカニズムとして、pDC-TLR7-MyD88-I 型 IFN という自然免疫の細胞内・細胞間シグナル伝達経路が必須であることが明らかになった<sup>15)</sup>。

### アジュバントとしてのサイトカイン

サイトカインは免疫応答を Th0 から Th1 あるいは Th2 へと直接誘導することが可能であり、これまでの研究で I 型 IFN 以外のサイトカインもワクチンアジュバントとしての応用が試みられてきた。実際には IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、GM-CSF、Flt-3 リガンドなどである。IFN- $\gamma$  や IL-2 は HIV に対する DNA ワクチンの研究でアジュバントとして効果があることがサルを用いた研究によって明らかとなっている<sup>16)</sup>。また、IFN- $\gamma$  と IL-12 は Th1 型の免疫反応を誘導するために重要なサイトカインであり、免疫調節において中心的な役割を果たしている。実際に IL-12 はアラムによって誘導される Th2 型免疫反応を Th1 型へとシフトすることができる<sup>17)</sup>。IL-15 も DNA ワクチンのアジュバントとして検討されており、IL-15 遺伝子を投与することによって細胞傷害性 T リンパ球(CTL)を活性化すると報告されている<sup>18)</sup>。IL-18 は IL-12 とともにアジュバントとして用いられており、IL-12 の有している Th1 型免疫反応へのシフトを強力に誘導すると報告されている<sup>19)</sup>。IL-21 も CTL 活性を有しており、マウス

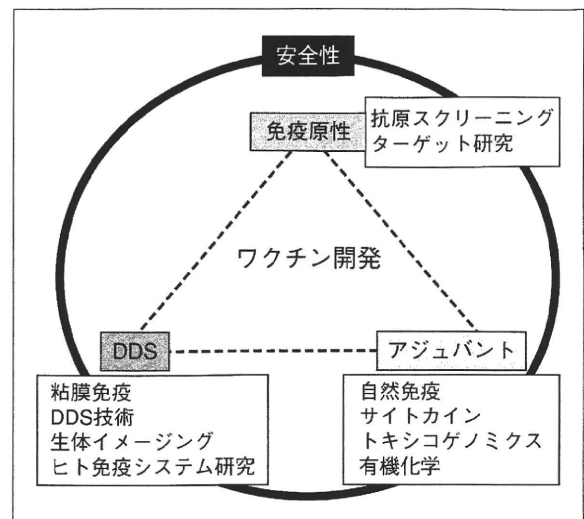


図 1 新規ワクチン開発イメージ

新規ワクチンは免疫原性のみではなく、アジュバントやドラッグデリバリーシステム(DDS)を用いて、効果的かつ安全性の高いワクチンを開発することが重要である。

の腫瘍モデルを用いた研究によって腫瘍の増殖を防ぐことが報告されており、アジュバントとしての応用が期待されている<sup>20)</sup>。また、GM-CSF や Flt-3 リガンドは抗原提示細胞である樹状細胞の分化に重要な役割を果たしているサイトカインであり、抗原の取込みや抗原提示の場で欠かせない因子であり、おもに DNA ワクチンのアジュバントとして実験室レベルで証明されてきた<sup>21,22)</sup>。

このようにさまざまなサイトカインがワクチンのアジュバントとして研究されている。しかし、これらのサイトカインは自然免疫研究の発展以前からアジュバントとして開発が行われてきたにもかかわらず、いまだに臨床応用には至っていない。その理由としては、リコンビナント蛋白質では半減期が短く投与量に比べ効果が低くなることが考えられる。実際に、多くの報告が DNA ワクチンのアジュバントとして用いられていることがそのことを示唆している。

また、サイトカインアジュバントは投与時期が非常に重要であることが多くの研究成果によって示されている。この問題はそれぞれのサイトカインの特徴を詳細に明らかにすることで解決されると期待される。また、リポソームなどに封入し効率よく免疫細胞に送達することができれば、リコンビナント蛋白質もアジュバントとしての有用性

が高くなるであろう<sup>23)</sup>。今後は、DNA ワクチンが臨床応用されるか、またはこれらサイトカインをアジュバントとして用いることで DNA ワクチンが臨床応用されることを期待したい。

## 今後のワクチン開発の展望

これまでの研究により、ワクチンの効果を最大限に発揮し、かつ安全性を維持するためには、①獲得免疫およびその記憶を誘導するための抗原、②ワクチンの効果を高めるための自然免疫賦活化アジュバント、③ワクチンの生体内での安全性を高めるためのデリバリーシステム、が重要であると考えられる(図 1)。本稿ではこの 3 つの鍵となる領域のアジュバントのみに絞って記述したが(表 1)、①の防御抗原検索の技術や、③の DDS 技術、粘膜免疫研究の最近の進歩はめざましく、これらの領域の貢献度も非常に高いことを明記しておく。

現在、ワクチンは感染症対策医療として確立しているが、ある抗原に対する免疫反応を生体に誘

導するというワクチンの機能を他の医療に応用する試みがはじまっている。たとえば、Alzheimer 病やてんかんに対するワクチンや、高価な抗体医療の代替として生体内で抗体を産生させるようなワクチン、アンジオテンシン II に対する高血圧ワクチン、禁煙ワクチン、肥満ワクチンといったものから、自己免疫疾患に対する免疫寛容誘導ワクチンなどまで、感染症にこだわらない広い意味でのワクチン開発研究が今後盛んになってくるであろう。

どのようなワクチンの開発研究、臨床応用においても免疫学の重要性は高まる一方である。アジュバントにおける自然免疫研究の重要性を本稿では中心に述べたが、ワクチンの有効性・安全性の指標はいまだ確立されているとはいえ、あらたな免疫学手法を用いた評価法の確立がレギュラトリーサイエンスの領域で望まれている。そのためにはとにもかくにも“ワクチンの作用機序を細胞レベル、分子レベルで解明すること”がもっとも重要であり、ワクチンの有効性のみならず、ワ

表 1 ワクチンアジュバント候補物質とその特徴

分類	リガンド	受容体	アジュバントとしての特徴
鉱酸塩	水酸化アルミニウムゲル	NLRP3	Th2 型免疫応答, IgE, IL-1 $\beta$ , IL-18 産生 <sup>4-7)</sup>
核酸	dsRNA ssRNA CpG ODN 5'-pppRNA dsDNA	TLR3, MDA5 TLR7/8 TLR9 RIG-I	Th1 型免疫応答, IL-6, IL-12, IFN- $\beta$ 産生 <sup>12)</sup> Th1 型免疫応答, IFN- $\alpha$ 産生 <sup>15)</sup> Th1 型免疫応答, IL-6, IL-12, D type は IFN- $\alpha$ 産生 <sup>3)</sup> IFN- $\alpha/\beta$ 産生 IFN- $\alpha/\beta$ , IL-1 $\beta$ 産生 <sup>24-28)</sup>
バクテリア成分 結晶	ペプチドグリカン LPS フラジェリン MSU ヘモゾイン	TLR2/1 TLR4 TLR5 NLRP3 TLR9	Th1 型免疫応答, IL-6, IL-12 産生 <sup>29)</sup> Th1 型免疫応答, IL-6, IL-12, IFN- $\beta$ 産生 <sup>11)</sup> Th1 型免疫応答, IL-12 産生 <sup>30,31)</sup> Th2 型免疫応答, IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-6 産生 <sup>8,9)</sup> Th2 型免疫応答 <sup>10)</sup>
$\beta$ -グルカン	シゾフィラン	Dectin 1	IL-6 産生 <sup>15)</sup>
サイトカイン	IFN- $\gamma$ IL-2 IL-12 IL-15 IL-18 IL-21 GM-CSF Flt3L	IFN- $\gamma$ R IL-2R IL-12R IL-15R IL-18R IL-21R GM-CSFR Flt3R	Th1 型免疫応答 <sup>16,17)</sup> Th1 型免疫応答 <sup>16)</sup> Th1 型免疫応答 <sup>17)</sup> CTL 活性化 <sup>18)</sup> IL-12 による Th1 型免疫応答を活性化 <sup>19)</sup> CTL 活性化 <sup>20)</sup> 樹状細胞の分化誘導, 抗原提示能増強 <sup>21,22)</sup> 樹状細胞の分化誘導, 抗原提示能増強 <sup>21,22)</sup>
エマルジョン	MF59	?	Th2 型免疫応答 <sup>3)</sup>
サポニン	QS21	?	CTL 活性化 <sup>32)</sup>

アジュバントの候補物質の多くは自然免疫受容体に作用し、さまざまなサイトカイン産生を誘導し獲得免疫を活性化させる。アジュバントにより誘導される免疫応答が異なっている。