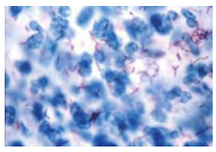
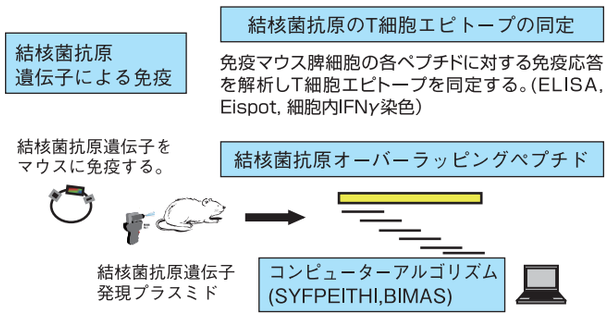
結核菌感染検出用試薬

技術の概要

結核は代表的な再興感染症であり、今なお世界で年間900万人近くが発病し、200万人近くが死亡しており、世界最大の細菌感染症である。結核の病原菌は結核菌（Mycobacterium tuberculosis）という抗酸菌という仲間に属する細菌で、ヒトの肺胞マクロファージ細胞等の中で生きる細胞内寄生細菌である。



喀痰中の結核菌
（チールネルゼン染色）

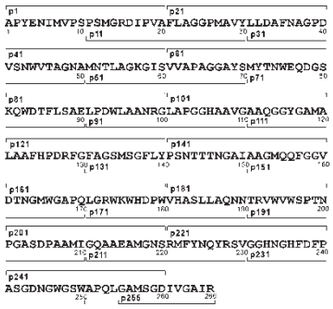


本研究者は結核菌の感染防御を担う細胞障害性T細胞（CTL）が認識するT細胞エピトープを特定し、いくつかの新規エピトープペプチドが結核菌特異的検出用試薬として有用であることを見出した。さらに、急性期の結核菌感染に対する試薬とともに、休眠期の結核菌感染に対するワクチンおよび診断法開発の有用な試薬を開発した。本検査用試薬は結核菌感染マウスが保持している持続感染期の結核菌に対するT細胞の挙動解析、慢性結核の治療型ワクチンの開発など様々な用途に利用可能となる。

結核菌抗原のT細胞エピトープの同定：結核菌抗原のDNAワクチンを遺伝子銃で免疫した免疫マウス脾細胞をこれらの抗原蛋白全体を網羅するオーバーラッピングペプチドの約 20mer の各ペプチドで刺激しIFN-γの産生を指標にしてELISA法、ELISPOT法を用いて抗原ペプチドを検索した。またコンピューターアルゴリズムによりT細胞エピトープの最小単位を推定した。

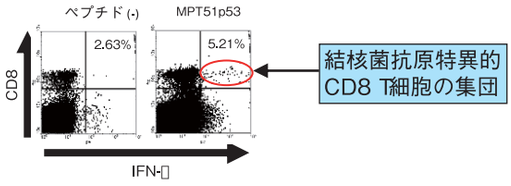
結核菌 MPT51タンパク（急性期に発現している抗原）のT細胞エピトープの同定

MPT51タンパクのオーバーラッピング・ペプチド・ライブラリー



MDP1タンパクの全体を網羅する20merからなる26個のペプチドを合成した。それぞれのペプチドは10アミノ酸分重なるように作製した。

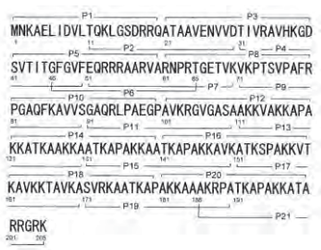
MPT51 DNA 免疫 HHD マウスにおける MPT51p53 ペプチド特異的 $CD8^+$ T 細胞による IFN-γ産生



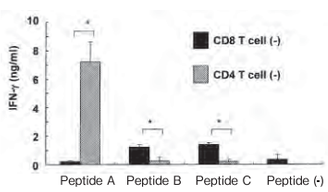
MPT51DNA 免疫マウス脾細胞に MPT51p53 ペプチドを加えた後、$CD8^+$T 細胞での IFN-γ産生を細胞内 IFN-γ染色法で検討した。ナイーブマウスに比べ MPT51DNA 免疫マウスでは MPT51p53 ペプチド存在下で IFN-γを産生した。
またその IFN-γ産生は MPT51p53 ペプチドに先立って抗 HLA-A*0201 抗体を加えておくと抑制された。

結核菌 MDP1タンパク（休眠期にも発現している抗原）のT細胞エピトープの同定

MDP1タンパクのオーバーラッピング・ペプチド・ライブラリー



MDP1 DNA 免疫マウスにおけるペプチド特異的 $CD8^+$ T 細胞による IFN-γ産生



MDP1オーバーラッピングペプチドの中から、免疫マウス脾細胞にインターフェロン-g産生を引き起こすペプチド3種を同定した。(peptide A, B, C)
これらのペプチドの持つ、免疫マウス脾細胞からのインターフェロン-g産生誘導能は、CD8 T細胞 (Peptide A) ないしはCD4 T細胞(Peptide B, C)の除去で消失した。

想定される用途

- 結核菌感染検出、ワクチン開発に有用な試薬

特開2010-268694（2009/5/19）