

総 説

口腔感染症および非感染性疾患予防を目指した粘膜ワクチンの開発

—新たな経鼻ダブル DNA アジュバントシステムによる健康長寿社会への貢献—

片岡 宏介^{1,2)} 吉松 英樹²⁾ 柳沢志津子¹⁾ 三宅 達郎²⁾

概要：ヒト成人の皮膚総面積の200倍以上を占める粘膜の表層では、常に細菌やウイルスといったさまざまな病原体が体内への侵入を試みている。それに賄う手段として、非特異的防御バリア（自然免疫機構）と特異的防御バリア（獲得免疫機構）が粘膜部では作働している。粘膜ワクチンは、病原体の侵入門戸である粘膜面に病原体由来の抗原と免疫賦活化剤（アジュバント）を直接投与することにより、自然免疫機構を効率良く誘導し、異的防御バリアの主体となる抗原特異的分泌型 IgA 抗体を産生することを可能とする。

われわれはこれまで、加齢の影響を受けにくい鼻咽腔関連リンパ組織（NALT）の樹状細胞をターゲットに、サイトカイン Flt3 ligand 発現 DNA プラスミドと CpG オリゴデオキシヌクレオチドを併用した経鼻ダブル DNA アジュバント（dDA）システムの構築を行い、高齢者にも応用可能な粘膜ワクチンの開発を目指してきた。

本稿では、経鼻 dDA システムが抗老化作用を有すること、また感染症のみならず NCDs 発症を防ぐ経鼻ワクチンへの応用の可能性について、われわれの最新の知見を紹介する。近い将来、本粘膜ワクチンが、感染症だけでなく NCDs をも制御することで、わが国の「健康寿命の延伸」と「健康格差の縮小」という国家課題の克服と、世界的に進行する超高齢社会における高齢者の QOL 向上に寄与できるツールとなり、口腔保健医療サービスの充実に貢献できればと考える。

索引用語：粘膜ワクチン、経鼻ダブル DNA アジュバント（dDA）システム、樹状細胞、抗免疫老化、感染症・NCDs 予防

口腔衛生会誌 73：13-20, 2023

（受付：令和4年8月8日／受理：令和4年9月12日）

緒 言

2019 年来の SARS-CoV-2 パンデミックをはじめ、ウイルスや細菌といった微生物のほとんどは、口・鼻腔といった呼吸器系粘膜から侵入することで、感染・発症を成立させている。厚生労働省の発表（2021 年）では、Covid-19 による重傷者数および死亡者数の年齢階級は、60 歳から急増し 80・90 歳代でピークを迎える^{*1}。このことは、高齢者の防御機構、すなわち免疫力の低下、つまり「免疫老化」が大きな原因の一つと考えられている。また、免疫力を誘導・賦活化するためのワクチンも

「免疫老化」の状態では、十分なワクチン効果が期待できない。

一方、2019 年 WHO のファクトリーシートでは、虚血性心疾患および脳卒中による死亡者数がトップを占め、これら炎症を伴う血管閉塞性慢性疾患は世界最大の死亡原因疾患となっている^{*2}。同様にわが国においても、近年では高血圧を除く心疾患や脳血管疾患が死因の第 2 位、第 4 位を占めている^{*3}。

われわれはこれまで、粘膜免疫学を基盤とした粘膜ワクチン、特に経鼻投与型ワクチンに応用するための免疫賦活化剤（アジュバント）の研究・開発を行ってきた。

¹⁾ 徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔保健福祉学分野

²⁾ 大阪歯科大学大学院歯学研究科口腔衛生学講座

^{*1} 厚生労働省：年齢区分別の新型コロナウイルス感染陽性者数と死亡者数、<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000826597.pdf>（2022 年 8 月 8 日アクセス）。

^{*2} World Health Organization: Facts Sheet-The top 10 causes of death、<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>（2022 年 8 月 8 日アクセス）。

^{*3} 厚生労働省：令和 3 年（2021）人口動態統計月報年計（概数）の概況、<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai21/index.html>（2022 年 8 月 8 日アクセス）。

つまり抗原提示細胞である樹状細胞を標的としたダブルDNA アジュバント (dDA) システムを構築し、数種の抗原に対する若齢マウスや老齢マウスの免疫応答に関する基礎研究を行い、高齢者にも適応可能な感染症予防、また生活習慣病予防が可能な粘膜ワクチン開発を目指している。本稿では、粘膜ワクチンの優れた点と併せ、近年得られたわれわれの成果を紹介する。

粘膜ワクチンの優位性と ダブルDNA アジュバント (dDA) システム

口・鼻腔からはじまる消化管・呼吸器などの粘膜面は、病原体由来の外來抗原やアレルゲンに常時曝露されている。そのため粘膜は、病原体の侵入に対して監視・排除を担っている¹⁾が、病原体の排除だけでなく、食物抗原や共生しているマイクロバイオーームとの共存を図る²⁾というユニークな生体応答、つまり「粘膜免疫機構」を作働させている。「粘膜免疫機構」は、「排除」と「共生」のバランス (ホメオスタシス) を保ちつつ、第一線でのバリアとしてわれわれの体を外敵から守っている。粘膜部における体液性免疫反応はIgG抗体が主体の血清中とは異なり、分泌型IgA (SIgA)抗体が防御機構の中心的な役割を果たしている。

従来の注射 (針) ワクチンは、全身系の免疫応答を効果的に誘導することが可能であるが、粘膜部での抗原特異的SIgA抗体の誘導は非効率的で困難である。しかしながら、「粘膜免疫機構」を利用する経口ワクチンや経鼻ワクチンといった「粘膜ワクチン」は、粘膜部での抗原特異的SIgA抗体を効率的に誘導することが可能であり、さらに全身系の免疫応答の誘導も期待できる (図1)。つまり、粘膜を介し侵入を試みる病原体に対し「粘膜ワクチン」は、病原体の粘膜部からの「侵入阻止」と、万一侵入を許したとしても体内からの「排除」を期待することができる。つまり、二段構えの免疫システムを効果的に作働させることができるのである。その他、粘膜ワクチンの有利な点としては、注射針やシリンジが不要であることから、無痛であり、また器具の繰り返し使用による二次感染や医療事故を回避することを可能とし、医療廃棄物を排出しないことによる医療費削減、社会的インフラが崩壊した災害時でも簡便に接種できるといったことなどから、新しい社会的貢献ツールとして期待されている。

実際に近年実用化されている粘膜ワクチンとしては、20世紀半ばの経口ポリオ弱毒生ウイルスワクチンが米国で開発・承認され、日本でも使用されてきた。また、21世紀に入り、経鼻インフルエンザ弱毒生ウイルスワ

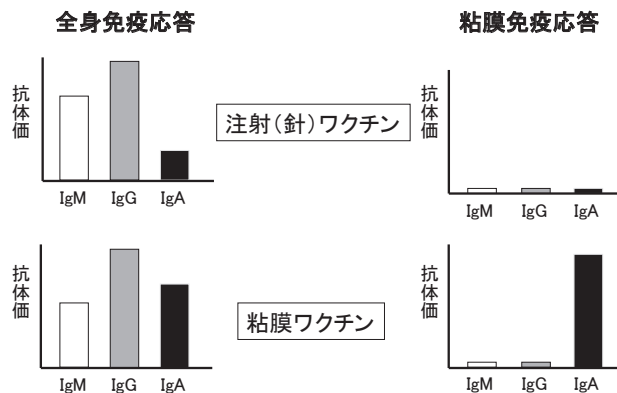


図1 注射ワクチンと粘膜ワクチンの免疫応答性 (概念図)

クチンや経口ロタ弱毒生ウイルスワクチンが米国で承認され、日本でも2011年から任意接種されている状況である。

通常、粘膜への抗原の単独投与では感染防御に十分な免疫応答を誘導することが困難であり、時には免疫寛容を誘導する場合もある。注射 (針) ワクチンだけでなく粘膜ワクチンにおいても十分な免疫応答を誘導させるためには、自然免疫応答の活性化が極めて重要であり³⁾、その活性化を担うのがアジュバントである。つまりアジュバントは、Toll-like receptors (TLRs) や RIG-like receptors (RLRs) といった自然免疫受容体により認識され、認識させることで樹状細胞などの抗原提示細胞が活性化し、ひいては獲得免疫応答を誘導させるための免疫賦活化剤であり、ワクチンには必須の基剤なのである^{4,5)}。

われわれの経鼻 dDA システムで用いる粘膜アジュバントは、造血幹細胞やリンパ球系前駆細胞の増殖因子として知られるサイトカインFlt3リガンド (FL) の発現プラスミド (pFL) と、TLR9リガンドであるK型CpGオリゴヌクレオチド1826 (CpG ODN) を組み合わせたものである。例えば、同システムを用いニワトリ卵白アルブミン (OVA) 抗原とともに若齢マウス (8週齢) に経鼻投与した場合、唾液中抗原特異的IgA抗体価、そして血清中抗原特異的IgAおよびIgG抗体価が有意な誘導が認められた。そこで粘膜免疫誘導組織である鼻咽腔関連リンパ組織 (Nasopharyngeal-associated lymphoid tissue; NALT) の樹状細胞のポピュレーション解析を行ったところ、樹状細胞数が増加するだけでなく (図2)、その抗原提示能が有意に上昇していることが認められた。また、ワクチン投与マウスの脾臓CD4陽性T細胞を抗原刺激した時、Th1型サイトカインとTh2型サイトカインがバランスよく誘導されており、経鼻dDAシステムの高い安全性も示された⁶⁾。また、歯周病原菌 *Porphyromonas*

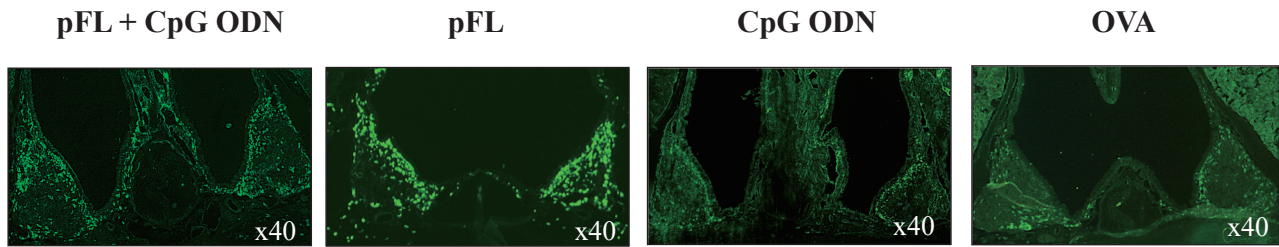


図2 経鼻 dDA システムによる NALT 樹状細胞の誘導

BALB/c マウスに OVA 抗原と Flt3 ligand 発現 DNA プラスミド (pFL) と CpG ODN, OVA 抗原と pFL, OVA 抗原と CpG ODN, OVA のみを経鼻投与し, 最終投与 1 週間後の NALTCd11c 陽性樹状細胞の免疫染色後の顕微鏡典型像. NALT 凍結切片を ビオチン標識 抗 CD11c (HL3) 抗体とストレプトアビジン標識 Alexa Fluor 488[®] により染色. (Fukuiwa T. et al, Vaccine, 2008⁶⁾ より改編)

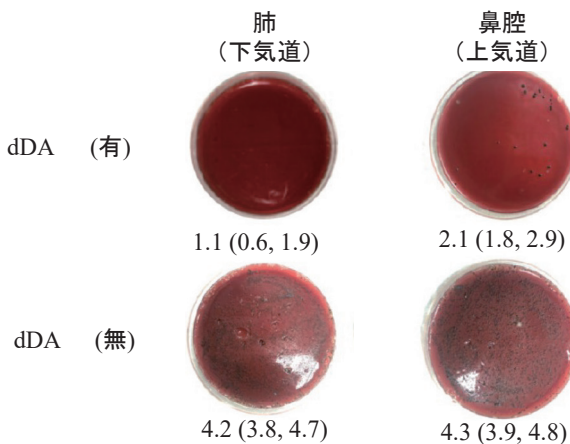


図3 経鼻 dDA システムによる上・下気道からの *Porphyromonas gingivalis* 菌の排除効果

IgA^{+/+} マウスに FimA 抗原と dDA もしくは FimA のみを経鼻投与し, 最終投与 1 週間後 *Porphyromonas gingivalis* 菌 (1×10^8 cfu) を鼻腔感染させ 2 日後の鼻腔洗浄液および肺洗浄液をカナマイシン含有血液寒天培地上で嫌気培養 37 度, 6 日間行った. 数値は \log_{10} (cfu/mL) の平均値 (最小値, 最大値) を示す. (Kataoka K et al., Front Immunol, 2021⁷⁾ より改編)

gingivalis (*P. gingivalis*) 菌の線毛サブユニットタンパク FimA を抗原とした経鼻 dDA システムでは, マウス唾液, 鼻腔洗浄液そして肺洗浄液中に抗原特異的 SIgA 抗体が誘導され, さらに同ワクチン接種後に *P. gingivalis* 菌を鼻腔感染させたところ, 上・下気道からの効果的な菌排除が認められた (図 3). 興味深いことに, IgA ノックアウトマウスに同ワクチンを経鼻投与後 *P. gingivalis* 菌を鼻腔感染させた場合, その菌排除効果はほとんど認められなかったことから, 同菌の排除には IgA 抗体が必須であることが示された⁷⁾. また, 肺炎球菌の PspA 抗原と本 dDA からなる経鼻ワクチンの場合においても, 上・下気道部における樹状細胞を有意に増加・活性化してい

ることが認められ, その後肺炎球菌感染させた時においても上・下気道部からの肺炎球菌の効果的な排除を認め, そしてその排除には IgA 抗体が必須であることが示された⁸⁾. 以上のことから, 樹状細胞をターゲットとする経鼻 dDA システムを用いた粘膜ワクチンは, 細菌を排除するに必須の抗原特異的分泌型 IgA 抗体を口腔や上・下気道部の粘膜に効率的に産生・分泌することから, 感染予防の新たなツールになる可能性を示唆していると考ええる.

経鼻 dDA システムによる抗免疫老化作用

藤橋らは, 定常状態の若齢マウス (8 週齢) と老齢マウス (2 年齢) の小腸に存在する粘膜免疫誘導組織パイエル板 (Peyer patch; PP) と鼻腔に存在する粘膜免疫誘導組織 NALT における樹状細胞数の比較検討を行った. 老齢マウスのパイエル板では樹状細胞数が若齢マウスと比較して顕著に減少しているにもかかわらず, 老齢マウスの NALT では樹状細胞数の減少は認められず, 若齢マウスの NALT 樹状細胞数とほぼ同レベルであることを明らかにした. さらに, NALT 樹状細胞の抗原提示能については, 老齢マウスの脾臓やパイエル板の樹状細胞では, 若齢マウスと比較して有意に低下していることが認められたが, NALT 樹状細胞では, 老齢マウスと若齢マウスは同レベルの抗原提示能を有しており, CD4 陽性 T 細胞を効率よく活性化できることを明らかにした^{9,10)}. 以上のことから, 粘膜免疫誘導組織 NALT から誘導され, 粘膜免疫実効組織である唾液腺や鼻腔粘膜における口・鼻腔免疫は, 加齢・老化という影響を受けにくい免疫システムであることを示唆するものであり, かたやパイエル板や脾臓といった腸管免疫や全身免疫は, 普遍的・内在的・進行的な加齢・老化が大きく影響する免疫システムであることを示唆した^{11,12)}.

そこでわれわれは, dDA と OVA 抗原を老齢マウス

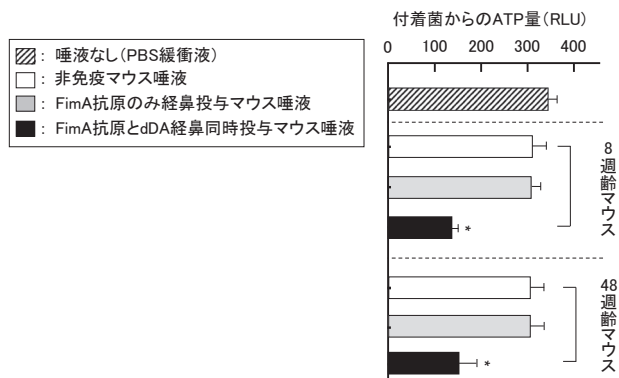


図4 経鼻 dDA システムにより誘導された若齢および老齢マウス唾液 IgA 抗体による *Porphyromonas gingivalis* 菌のスタセリン被覆ハイドロキシアパタイトビーズへの付着抑制効果

FimA と dDA, もしくは FimA のみを 8 週齢および 48 週齢マウスに経鼻投与後の唾液を回収し, IgM および IgG 抗体を除去した IgA リッチな唾液サンプルを用い, スタセリン被覆ハイドロキシアパタイトに結合した *Porphyromonas gingivalis* 菌からの ATP 量を測定した. 5×10^7 cfu の菌は 350 (RLU) に相当, 平均 \pm 標準誤差 (n=5). * $p < 0.05$. (Kobuchi K et al, BMC Oral Health, 2019¹³) より改編)

(2 年 齢) と若 齢マウス (8 週 齢) に経鼻投与を行っ た. 老 齢マウスの腔洗 浄液お よび唾 液中の抗 原特 異的 IgA 抗 体価, そし て血 清中 の抗 原特 異的 IgA およ び IgG 抗 体価が, 若 齢マウス (8 週 齢) と同 程度も しくはそ れを 上回 る誘 導であ るこ とを認 め⁶⁾, さ らに誘 導さ れたす べての 部 位にお ける抗 体価が, 25 週 以上 の長 期にわ たり 継 続維 持さ れてい るこ とを確 認し た⁶⁾. さ らに肺 炎球 菌の 表 面タン パク PspA 抗 原と本 dDA から なる 経鼻 ワク チン を老 齢マウス と若 齢マウス に投 与し, そ の後 上・下 気道 部に肺 炎球 菌感 染さ せる 実験 を行 ったと ころ, 上・下 気道 部にお ける抗 PspA IgA 抗 体価や 感 染後 の肺 炎球 菌の上・下 気道 部から の排 除効果 は, 老 齢マウス と若 齢マウス で はほ ぼ同 レベ ルであ るこ とが認 めら れた⁸⁾. 近 年では, *P. gingivalis* 菌の 表 層タン パク FimA 抗 原と dDA を若 齢お よび老 齢マウス に経 鼻投 与し, そ の後 回収 したマウス 唾 液から IgM およ び IgG 抗 体を 除去 した IgA 抗 体リ ッチな唾 液サンプ ルを用 い, そ の唾 液サンプ ルによ る口 腔内 実験 的菌 面モ デル である ヒト唾 液タン パク 被覆 ハイドロキシアパタイトビーズへの *P. gingivalis* 菌付 着抑制 実験 を行 ったと ころ, dDA シス テムで 誘導 さ れた IgA 抗 体を含 む若 齢お よび老 齢マウス の唾 液サンプ ルは, 口 腔内 菌面 モデル への *P. gingivalis* 菌付 着を 効果 的に 抑制 し, か つ若 齢お よび老 齢マウス と もに同

程度に菌付着を抑制することが認められた (図 4). すなわち, FimA 抗原を用いた経鼻 dDA システムワクチンは, 若齢マウスだけでなく老齢マウスの唾液中抗原特異的 IgA 抗体を効果的に誘導し, その抗原特異的 IgA 抗体は, *in vitro* において同等レベルの菌付着抑制効果を有することを示した¹³⁾. 以上のことから, 経鼻 dDA システムを用いた経鼻ワクチンは, 免疫老化の制御を可能とする新たな感染症予防のための 1 ツールになりうるものと考えられる.

経鼻 dDA システムによるアテローム性動脈硬化の抑制効果

近年のワクチン開発では, 感染症予防のみならず, がんや高脂血症をはじめとする非感染性疾患 (NCDs) などの慢性疾患に対するワクチン開発が行われている. 例えば, コレステロール代謝を制御する血漿タンパク質 PCSK9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) を標的抗原とした高脂血症¹⁴⁾, IL-1b を標的抗原とした 2 型糖尿病¹⁵⁾, アンジオテンシン I / II を標的抗原とした高血圧¹⁶⁾ に対するワクチン開発が行われているが, そのほとんどは注射ワクチンである.

われわれは, 経鼻 dDA システムを用いた粘膜ワクチンが NCDs の発症・進行の予防そして治療に効果を有する新たなツールになる可能性があるのではないかと推測している. 特に高脂血症については, 21 世紀に入り, Lalla らが自然発症型高脂血症モデル (Apolipoprotein E-deficient; ApoE KO) マウスに歯周病原菌を口腔感染させることで大動脈部にアテローム沈着が促進することを明らかにし, 動物実験レベルではあるが, 歯周病感染と心疾患や脳血管疾患の主因であるアテローム性動脈硬化誘発との関係性を示唆している¹⁷⁾. また, 小泉らはその報告を受け, *P. gingivalis* 菌の表面タンパク抗原 (40kDa OMP) と粘膜アジュバントコレラ毒素を前もって経鼻投与した ApoE KO マウスに *P. gingivalis* 菌を口腔感染させ, その後の大動脈におけるアテローム沈着の差異をワクチン非投与群と比較検討を行った. ワクチン投与群では, 大動脈洞部のアテローム性プラークの形成を有意に抑制することが認められた¹⁸⁾. 同時期にわれわれもまた, ApoE KO マウスに肺炎球菌の菌表面に存在するリン脂質 (ホスホリルコリン; PC) を抗原とし, pFL をアジュバントとしてマウスに経鼻投与したとき, 肺洗浄液, 鼻腔洗浄液そして血清中の抗 PC 特異的 IgA 抗体および IgM 抗体の有意な上昇を認めた. さらにそれら抗体がアテローム性動脈硬化のプラーク形成を阻害^{19,20)} すること, またその抗体が肺炎球菌の感染

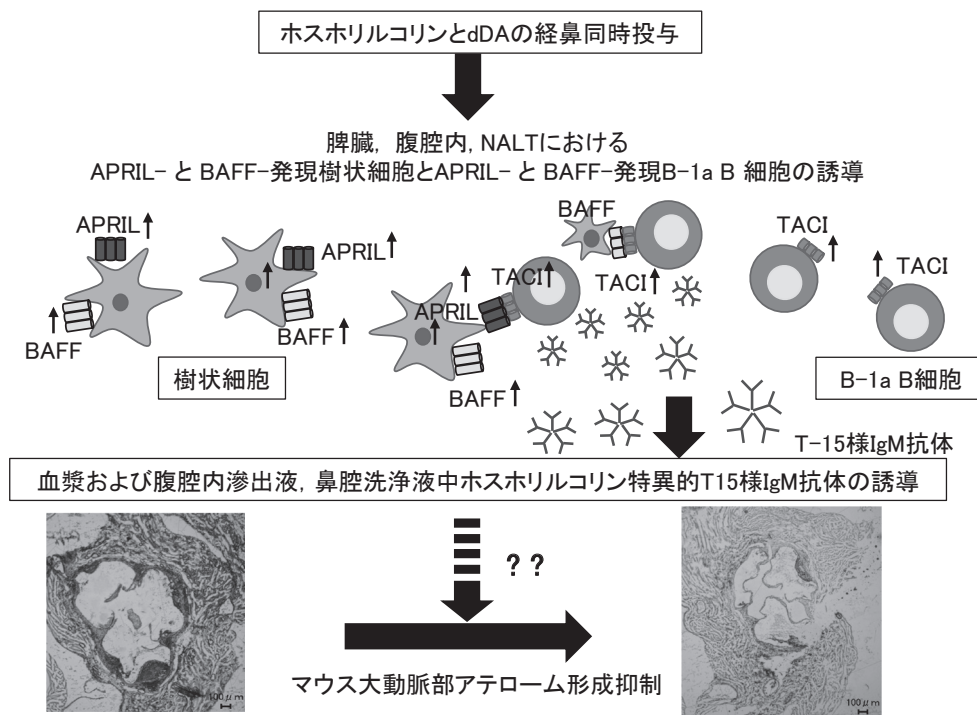


図5 経鼻 dDA システムによる動脈硬化抑制戦略（概念図）
（Yoshimatsu H et al, Vaccine, 2022²³）より一部改編）

防御に有効とされる²¹⁾ T15 イデオタイプ抗体である可能性を示唆した²²⁾。実際に本ワクチンを経鼻投与したマウスの肺炎球菌感染実験では、感染12時間後の肺および鼻腔における肺炎球菌生菌数は、ワクチン非投与群と比べ有意に減少していることを認めた²²⁾。

近年では、経鼻 dDA システムを用いた粘膜ワクチンが動脈硬化の発症・進行の予防に効果を有する可能性を検証するため、またその分子メカニズムを明らかにするために ApoE KO マウスに pFL と CpG ODN からなる dDA と PC 抗原の経鼻投与実験を行った。dDA と PC 抗原を投与した実験マウス群は、PC 抗原のみを投与した対照マウス群と比較して、血漿および腹腔内滲出液、鼻腔洗浄液中において T15 様 IgM 抗体が有意に誘導されていた。また大動脈部の凍結切片による Oil-Red O 染色では、染色面積が有意に減少し、つまりアテローム沈着抑制が有意に認められた（図5）。さらに、血漿、腹腔内滲出液、粘膜免疫誘導組織 NALT の CD11c 陽性（樹状）細胞数と CD5 陽性（B-1 a）B 細胞数が対照マウス群と比較して、実験マウス群では有意な増加が認められた。またその誘導された樹状細胞で

は a proliferation-inducing ligand (APRIL) 分子と B-cell-activating factor (BAFF) 分子発現が有意に上昇しており、それら分子の受容体である transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor (TACI) が B-1 a B 細胞上で有意に発現していることが認められた。このことは、dDA システムを用いた本経鼻ワクチンは、血漿、腹腔内滲出液、NALT における樹状細胞と B-1 a B 細胞の相互作用により、大動脈部のアテローム沈着を抑制していることを示唆するものであり、本経鼻ワクチンは、動脈硬化予防のための新たな抗体医薬の創生につながる可能性があると考えられる²³⁾。

結 語

2022年5月、日本口腔衛生学会は、第74回 WHO 総会で議決された口腔健康に関する報告書「2030年に向けたユニバーサル・ヘルス・カバレッジ (UHC) と非感染性疾患 (NCDs) 対策の一環として、より良い口腔保健を達成する」を支持することを表明した*4。つまりすべての年齢層の人のために健康な生活を確保し、幸福

*4 日本口腔衛生学会：第74回 WHO 総会議決書を踏まえた学会声明、http://www.kokuhoken.or.jp/jsdh/statement/file/statement_20220517.pdf (2022年8月8日アクセス)。

を促進できる環境整備やシステム作りを目標に活動することを進めるとの学会声明を発売したわけだが、口腔疾患だけでなくNCDsの予防に寄与する新たな口腔保健医療サービスを提案するため、われわれの経鼻dDAシステムの更なる機能解明を進め、そのシステムを応用した新たな粘膜ワクチンを世の中に提言していきたいと考える。

先日の厚生労働省の発表において、新型コロナウイルス感染症の影響で平均寿命(0歳の平均余命)が男81.47年、女87.57年と10年ぶりに微減したという報告^{*5}があったが、わが国では、2042年まで高齢者が増加の一途を辿り、その後も2055年には高齢化率が38%を越えると予想されている^{*6}。超高齢社会のわが国において、高齢者の健康寿命と平均寿命の差を解消し、高齢者のQOL向上を目指すことは変わらぬ喫緊の課題である。「免疫老化」の影響を受けにくいNALTを基盤とした口・鼻腔免疫システムの解明をさらに押し進め、経鼻dDAシステムの更なるメカニズム解明を行うことで、唾液分泌型IgA抗体や図5で示したような血漿IgM抗体を最大限に生かした、口・鼻腔から侵入するウイルスや細菌に対する感染予防はもちろんのこと、NCDsの予防を可能とする、無痛で安全な経鼻ワクチンの開発を今後も進めていきたい。

本稿で紹介した研究は、大阪歯科大学動物実験委員会(承認番号:19-03003, 19-01004a, 20-02012, 21-02002)および組換えDNA実験安全管理委員会(59)、バイオセーフティ委員会(BS2018-1, BS2019-1)の承認を得て行われたものである。

謝 辞

本総説の寄稿にあたり、粘膜免疫学を学ぶために留学の機会を与えていただいた大阪大学大学院歯学研究科予防歯科学教室 零石總名誉教授、口腔細菌学教室 川端重忠教授、また一から粘膜免疫学をご教示くださり帰国後も長く多くの叱咤激励をいただいた米国アラバマ大学バーミングハム校ワクチンセンター Jerry R. McGhee 名誉教授、千葉大学医学部附属病院 清野宏卓越教授、千葉大学医学部附属病院 藤橋浩太郎特任教授に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Goto Y, Kurashima Y, Kiyono H: The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Curr Opin Rheumatol* 27: 388-396, 2015.
- 2) Kurashima Y, Goto Y, Kiyono H: Mucosal innate immune cells regulate both gut homeostasis and intestinal inflamma-

- tion. *Eur J Immunol* 43: 3108-3115, 2013.
- 3) Palm NW, Medzhitov R: Pattern recognition receptors and control of adaptive immunity. *Immunol Rev* 227: 221-233, 2009.
- 4) Pulendran B, Ahmed R: Translating innate immunity into immunological memory: Implications for vaccine development. *Cell* 124: 849-863, 2006.
- 5) Pashine A, Valiante NM, Ulmer JB: Targeting the innate immune response with improved vaccine adjuvants. *Nat Med* 11 (Suppl 4): S63-68, 2005.
- 6) Fukuiwa T, Sekine S, Kobayashi R et al.: A recombination of Flt3 ligand cDNA and CpG ODN as nasal adjuvant elicits NALT dendritic cells for prolonged mucosal immunity. *Vaccine* 26: 4849-4859, 2008.
- 7) Kataoka K, Kawabata S, Koyanagi K et al.: Respiratory FimA-specific secretory IgA antibodies upregulated by DC-targeting nasal double DNA adjuvant are essential for elimination of *Porphyromonas gingivalis*. *Front Immunol* 12: e634923, 2021.
- 8) Fukuyama Y, King JD, Kataoka K et al.: A combination of Flt3 ligand cDNA and CpG oligodeoxynucleotide as nasal adjuvant elicits protective secretory-IgA immunity to *Streptococcus pneumoniae* in aged mice. *J Immunol* 186: 2454-2461, 2011.
- 9) Fujihashi K, McGhee JR, Kiyono H: Mucosal Vaccination Challenges in Aging: Understanding Immunosenescence in the Aerodigestive Tract. *Handbook of Immunosenescence*. Springer Nature Switzerland AG, Second Edition. Volume 2. 2019, pp. 1379-1405.
- 10) Fujihashi K, Kiyono H: Mucosal Immunosenescence: New developments and vaccines to control infectious diseases. *Trends Immunol* 30: 334-343, 2009.
- 11) Fujihashi K, Sato S, Kiyono H: Mucosal adjuvants for vaccines to control upper respiratory infections in the elderly. *Exp Gerontol* 54: 21-26, 2014.
- 12) Fujihashi K: Mucosal Vaccines for aged: Challenges and struggles in immunosenescence. *Mucosal vaccines*. Elsevier, Academic Press, London, 2nd ed., 2019, pp. 789-808.
- 13) Kobuchi K, Kataoka K, Taguchi Y et al.: Nasal double DNA adjuvant induces salivary FimA-specific secretory IgA antibodies in young and aging mice and blocks *Porphyromonas gingivalis* binding to a salivary protein. *BMC Oral Health* 19: e188, 2019.
- 14) Chackerian B, Remaley A: Vaccine strategies for lowering LDL by immunization against proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *Curr Opin Lipidol* 27: 345-354, 2016.
- 15) Spohn G, Schori C, Keller I et al.: Preclinical efficacy and safety of an anti-IL-1b vaccine for the treatment of type 2 diabetes. *Mol Ther Methods Clin Dev* 1: 14048, 2014.
- 16) Oparil S, Schmieder RE: New approaches in the treatment

^{*5} 厚生労働省: 令和3年簡易生命表の概況, <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/life/life21/index.html> (2022年8月8日アクセス)。

^{*6} 内閣府: 令和2年版高齢社会白書, https://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2020/html/zenbun/s1_1_1.html (2022年8月8日アクセス)。

- of hypertension. *Circ Res* 116: 1074–1095, 2015.
- 17) Lalla E, Lamster IB, Hofmann MA et al.: Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 1405–1411, 2003.
- 18) Koizumi Y, Kurita-Ochiai T, Oguchi S et al.: Nasal immunization with *Porphyromonas gingivalis* outer membrane protein decreases *P. gingivalis*-induced atherosclerosis and inflammation in spontaneously hyperlipidemic mice. *Infect Immun* 76: 2958–2965, 2008.
- 19) Caligiuri G, Khallou-Laschet J, Vandaele M et al.: Phosphorylcholine-targeting immunization reduces atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 50: 540–546, 2007.
- 20) Binder CJ, Horkko S, Dewan A et al.: Pneumococcal vaccination decreases atherosclerotic lesion formation: molecular mimicry between *Streptococcus pneumoniae* and oxidized LDL. *Nat Med* 9: 736–743, 2003.
- 21) Briles DE, Forman C, Hudak S et al.: Anti-phosphorylcholine antibodies of the T15 idiotype are optimally protective against *Streptococcus pneumoniae*. *J Exp Med* 156: 1177–1185, 1982.
- 22) Tselmeg B, Kataoka K, Gilbert RS et al.: Mucosal immune features to phosphorylcholine by nasal Flt3 ligand cDNA-based vaccination. *Vaccine* 28: 12191–12198, 2011.
- 23) Yoshimatsu H, Kataoka K, Fujihashi K et al.: A nasal double DNA adjuvant system induces atheroprotective IgM antibodies via dendritic cell-B-1a B cell interactions. *Vaccine* 40: 1116–1127, 2022.

著者への連絡先：片岡宏介 〒770-8504 徳島県徳島市蔵本町 3-18-15 徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔保健福祉学分野
TEL : 088-633-7384 FAX : 088-633-7898
E-mail : kataoka-k@tokushima-u.ac.jp

Development of Mucosal Vaccines as Novel Preventive Methods Against Non-communicable Diseases and Oral Infectious Diseases

—Contribution of Nasal Double DNA Adjuvant System to Health and Longevity of Society—

Kosuke KATAOKA^{1,2)}, Hideki YOSHIMATSU²⁾, Shizuko YANAGISAWA¹⁾ and Tatsuro MIYAKE²⁾

¹⁾Department of Oral Health Science and Social Welfare, Graduate School of Oral Sciences,
Tokushima University

²⁾Department of Preventive and Community Dentistry, Graduate School of Dentistry,
Osaka Dental University

Abstract: The surface layer of the mucosa, which, in adult humans, is estimated to have a surface area over 200 times greater than that of the skin, is constantly in contact with foreign antigens, against which non-specific defense (innate immune mechanisms) and specific defense (acquired immune mechanisms) systems are activated. In the mucosal areas that are entry points for foreign antigens, the efficient production and secretion of secretory IgA (SIgA) antibodies, comprising the main form of specific defense, and mucosal vaccines, which are efficient antigen delivery systems for inducing and promoting antibody production, may offer strategic tools for preventing not only infections, but also the development of non-communicable diseases (NCDs). We have previously undertaken research and development of an immunostimulating agent (adjuvant) for use with mucosal vaccines based on mucosal immunity, particularly nasal vaccines that are administered to the nasal cavity. More specifically, a double DNA adjuvant (dDA) system that targets dendritic cells, which are antigen-presenting cells, was developed, and basic research was conducted using a number of different antigens, including a comparison of the immune response to these antigens when they were introduced into the nasal cavities of young and old experimental animals (mice). Recently, we have been working toward the development of a mucosal vaccine capable of preventing infection or NCDs that can also be used by older people. In this review article, I will introduce the advantages of mucosal vaccines as well as recent findings in our group. We anticipate the development of an effective tool in the near future whereby mucosal vaccines could prevent NCDs as well as various infectious diseases and fulfil the national goals of “the extension of healthy life expectancies” and “reduction of health disparities”. In addition, we hope that mucosal vaccines will markedly contribute to the oral health service in the super-aging society.

J Dent Hlth 73: 13-20, 2023

Key words: Mucosal vaccine, Double DNA Adjuvant (dDA) system, Dendritic cells, Anti-immunosenescence, Prevention of infectious diseases and NCDs

Reprint requests to K. KATAOKA, Department of Oral Health Science and Social Welfare, Graduate School of Oral Sciences, Tokushima University, 3-18-15, Kuramoto-cho, Tokushima, Tokushima, 770-8504, Japan

TEL: 088-633-7384/FAX: 088-633-7898/E-mail: kataoka-k@tokushima-u.ac.jp