

所属長	所属科長	事務(局/部)長
		

令和4年 3月 25日

理事長 殿

学 長 殿

令和3年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症
対策支援プロジェクト研究報告書

標記の件に関しまして、別紙のとおり報告いたします。

また、本研究報告の内容は、近畿大学学術情報リポジトリ (KURepo) に公開する旨、承諾いたします。

1. カテゴリー	<input checked="" type="checkbox"/> 研究 <input type="checkbox"/> 開発・提案 /カテゴリーNo. 32
2. 企画題目	肺組織への免疫細胞の遊走機構の解明

研究代表者

所 属 : 薬学部医療薬学科職・氏名 : 助教 原 雄大

令和3年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症 対策支援プロジェクト研究報告書

企画題目	肺組織への免疫細胞の遊走機構の解明
研究者所属・氏名	研究代表者：原 雄大（薬学部医療薬学科） 共同研究者：中山 隆志、松尾 一彦（薬学部医療薬学科）、森川 敏生（薬学総合研究所）、大塚 篤司、佐藤 雅子（医学部皮膚科学）、早坂 晴子（理工学部生命科学科）

1. 研究、開発・提案 目的及び内容

ケモカインは、免疫担当細胞の遊走を制御するサイトカインの一群であり、炎症反応や免疫応答において重要な役割を担っている。我々の研究グループでは、これまでに多数のケモカインおよびその受容体を同定してきた。

新型コロナウイルスは、肺や気道などの粘膜組織から体内に侵入する。そのため、新型コロナウイルスの予防・治療法の確立には、これらの部位への免疫細胞の遊走制御機序の理解が必要となってくる。しかしながら、代表的な粘膜組織である腸管への免疫細胞の遊走に関しては、研究が進んでいるが、同じ粘膜組織である肺や気道への免疫細胞の遊走については、未だ詳細は不明なままである。本研究課題では、新型コロナウイルスに対する効果的なワクチン開発の基盤を構築する目的で、肺や気道粘膜への免疫細胞の遊走制御機序の解明を行った。今回は、気管支喘息モデルマウスを作製し、検討を行った。

2. 研究、開発・提案 経過及び成果

気管支喘息では、Th2 細胞および好酸球が病態の発症・増悪に寄与する主要な細胞であると考えられている。両細胞にはケモカイン受容体として、CCR4 および CCR3 がそれぞれ発現している。また、好酸球は、CCR4 のリガンドである CCL17 や CCL22 を産生すること、Th2 サイトカインは、好酸球を遊走するケモカインである eotaxin の気道上皮細胞からの産生を誘導することが知られており、Th2 細胞および好酸球は相互に作用しあっている。本研究課題では、CCR4 および CCL28 (CCR3 のリガンドの 1 つ) を欠損したマウスを用い、モデル抗原である OVA 誘発の気管支喘息モデルマウスを作製し、その病態および肺への免疫細胞の浸潤を解析した。

CCR4 欠損マウス

肺への免疫細胞の浸潤をフローサイトメトリー法により解析した。CCR4 欠損マウス、野生型マウスともに、OVA 投与群の肺で Th2 細胞および好酸球の増加が認められたが、両遺伝子型間で両細胞の肺への浸潤数に差はなかった。CCR4 は、Th17 細胞や制御性 T 細胞にも発現していることが知られていることより、これらの細胞の浸潤についても解析したが、OVA 投与群で増加がみられたものの、両遺伝子型間で差はなかった。また、ELISA 法により、血清中の IgE 濃度を測定したが、こちらに関しても両遺伝子型間で差はなかった。したがって、喘息病態における肺への免疫細胞の遊走に対して、CCR4 はほとんど寄与しない可能性が考えられた。

CCL28 欠損マウス

CCL28 欠損マウスでは、野生型マウスと比較し、好酸球および Th2 細胞の肺への浸潤が有意に減少した。さらに、血清中の IgE 濃度の減少、気道過敏性の亢進の減弱といった病態の軽減が認められた。CCR3 は、好酸球に主に発現していることより、CCL28 は CCR3 を介して好酸球を遊走すると考えられる。しかしながら、その詳細な評価は行われていない。そこで、CCL28 による好酸球の直接的な遊走をケモタキシスアッセイにより確認した。マウスの肺や腹腔内等より好酸球を単離し、アッセイを行ったところ、予想に反して、CCL28 では遊走されなかった。この結果より、少なくともマウスの好酸球の遊走に CCL28 の寄与は低い可能性が考えられた。

CCL28 は、CCR3 以外にも CCR10 を受容体としている。これまでに CCR10 は、IgA 産生の形質細胞に発現していることが知られているが、他の細胞種での CCR10 の発現はほとんど知られていない。これまでに、マウスナイーブ CD4 陽性 T 細胞を *in vitro* 下で Th2 細胞に分化させた際、CCR10 を発現すること (Shankar et al., *J. Immunol.*, 188, 6347–6356, 2012) が報告さ

れていることより、CCL28がCCR10を介して肺へとTh2細胞を遊走している可能性を考えた。そこで、喘息モデルマウス肺のTh2細胞でのCCR10発現をフローサイトメトリー法により解析したところ、CCR10の発現が認められた。さらに、免疫染色法によりCCR10とIL-4のシグナルが共局在していた。これらの結果より、CCL28は、従来考えられていた好酸球の遊走には関与せず、CCR10を介したTh2細胞の遊走に関与する可能性が考えられた。

3. 本研究と関連した今後の研究、開発・提案 計画

今後、肺疾患における肺への免疫細胞の遊走機序について詳細に検討していく。まず、今回見出したCCL28によるTh2細胞の遊走についてケモタキシスアッセイにより直接的に確認する。また、本研究課題では、好酸球やTh2細胞が病態に深くかかわる気管支喘息のモデルマウスで解析を行ったが、それ以外の免疫細胞の遊走について解析を行うため、他の肺疾患であるCOPDや肺癌のモデルマウス、また他のケモカイン系遺伝子欠損マウスについても解析する。

4. 研究成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)

5. 研究、開発・提案 課題の成果発表等

--