

所属長	所属科長	事務(局/部)長
		

令和4年4月5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 33
2. 企画題目	新型コロナウイルス感染症対策に資する免疫記憶 CD8+T 細胞誘導ワクチンの開発

研究代表者

所 属 : _____ 薬学部 _____

職・氏名 : _____ 松尾 一彦 _____



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	新型コロナウイルス感染症対策に資する免疫記憶 CD8+T 細胞誘導ワクチンの開発
研究者所属・氏名	研究代表者：松尾一彦 共同研究者：中山隆志、原雄大、大塚篤司、佐藤雅子、森川敏生、早坂晴子

1. 研究、開発・提案 目的及び内容

本研究では、モデル抗原 OVA (ニワトリ卵白アルブミン) を用いて高活性型 XCL1 をアジュバントとして用いた場合の免疫誘導特性ならびにその誘導機構を明らかにする。そして本ワクチンシステムの普及性、迅速性を高めるために、簡便で低侵襲な経皮ワクチンへの応用を試みた。

2. 研究、開発・提案 経過及び成果

これまでに申請者は高活性型 XCL1 を用いた場合に、長期間生体内に生存できるメモリーCD8陽性 T 細胞を誘導できることを報告している。メモリーT 細胞は、リンパ節で長期的に維持されるセントラルメモリーT 細胞 (TCM)、全身を循環するエフェクターメモリーT 細胞 (TEM)、末梢組織局所に常在するレジデントメモリーT 細胞 (TRM) など、いくつかのサブセットが報告されている。そこで、モデル抗原 (OVA) とともに高活性型 XCL1 あるいは実験的 CD8 陽性 T 細胞誘導アジュバントである poly(I:C) (toll 様受容体 3 アゴニスト) を経肺免疫したマウスの肺局所、所属リンパ節、および脾臓中のメモリーT 細胞サブセットをフローサイトメトリーにより解析した。免疫1週間後では、poly(I:C) ならびに poly(I:C) と高活性型 XCL1 を併用した免疫したマウスにおいては非常に高い CD8 陽性 T 細胞誘導が認められた。そして、免疫記憶が形成される4週間後には、poly(I:C) を併用したマウスにおいては、細胞傷害活性が高いエフェクターメモリーT 細胞や免疫局所に常在するレジデントメモリーT 細胞の誘導効率が高く、高活性型 XCL1 を併用したマウスにおいては、リンパ節に残るセントラルメモリーT 細胞の誘導効率が高いことを明らかにした。さらに、高活性型 XCL1 をアジュバントとして用いた場合には、長期生存に関わる IL-7 レセプター (CD127) の発現が誘導された CD8 陽性 T 細胞での発現割合が高かったのに対して、poly(I:C) を併用したマウスでは、CD8 陽性 T 細胞の細胞傷害活性や活性化マーカーとして用いられる KLRG1 の発現割合が高かった。

そこで次に、高活性型 XCL1 ならびに poly(I:C) によるメモリーT 細胞サブセットの選択的誘導メカニズム解明の一環として、CD8 陽性 T 細胞誘導に関わる樹状細胞サブセット (conventional type 1 DC) の状態について解析した。その結果、poly(I:C) を併用したマウスは cDC1 の活性化マーカー (CD40、CD80、CD86) の発現が有意に上昇し、cDC1 は強く活性化していた。一方で、高活性型 XCL1 を併用したマウスでは、cDC1 の活性化はほとんど見られず、T 細胞誘導の場であるリンパ節に移行した cDC1 の数が有意に増加することが判明した。

以上のことから、cDC1 に強い活性化を与える poly(I:C) は細胞傷害機能の高い CD8 陽性 T 細胞を優先的に誘導し、高活性型 XCL1 は cDC1 のリンパ節への遊走を向上させることで長期生存が可能となる CD8 陽性 T 細胞を優先的に誘導することが示唆された。

さらに申請者は、親水性ゲルパッチを応用した経皮ワクチンに CD8 陽性 T 細胞誘導アジュバントとしての高活性型 XCL1 の有用性について検証した。モデル抗原 OVA とともに高活性型 XCL1 を注射投与あるいは経皮ワクチン製剤による投与を行い、メモリーCD8 陽性 T 細胞誘導効率ならびに cDC1 の生体内挙動について解析した。その結果、経皮ワクチンによる投与は注射投与よりも効率よくメモリーCD8 陽性 T 細胞を誘導し、それは cDC1 のリンパ節への遊走が大きく促進されることによるものであることが示唆された。この結果は、高活性型 XCL1 がメモリーCD8 陽性 T 細胞誘導アジュバントとして経皮ワクチンにも有用であることを示している。

3. 本研究と関連した今後の研究、開発・提案 計画

本申請課題において、cDC1の生体内局在や活性化がT細胞分化を制御することが示唆された。抗原特異的T細胞応答は、樹状細胞からT細胞への抗原提示が必須となる。抗原提示には、抗原刺激とともに共刺激分子(CD70、CD155、OX40L)とサイトカイン(IL-2、IL-15、IL-7)が必要であり、これらはT細胞の分化に大きく影響を与えることが知られている。また、メモリーCD8陽性T細胞の誘導には、樹状細胞のそのほかのサブセットであるcDC2を介したヘルパーT細胞も関与することが報告されている。そして末梢組織で抗原を捕食してリンパ節に遊走した樹状細胞だけでなく、リンパ節に常在するresident DCの重要性も報告されている。これらのことから、高活性型XCL1ならびにpoly(I:C)によるメモリーCD8陽性T細胞誘導機構をより詳細に明らかにするためには、樹状細胞のサブセットごとの状態をシングルセルレベルで解析する必要があると考えられる。これらの解析から、T細胞の生存や各サブセットへの分化を制御するシグナルを突き止め、メモリーT細胞誘導を達成するワクチンアジュバントを開発するための基盤技術の確立を目指していきたい。

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)
日本薬学会第142年会	ポスター	2022年3月28日

5. 研究、開発・提案 課題の成果発表等

本申請課題の内容の一部を含んだReviewを発表した。
Multifaceted roles of chemokines and chemokine receptors in tumor immunity
Matsuo K, Yoshie O, Nakayama T
Cancers (Basel). 2021 Dec 6;13(23):6132.