

所属長	所属科長	事務(局/部)長
		

令和3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. 34
2. 企画題目	Th17 細胞を介した CTL 誘導ワクチンアジュバントの開発

研究代表者

所 属 : 薬学部医療薬学科職・氏名 : 教授 中山 隆志

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	Th17細胞を介したCTL誘導ワクチンアジュバントの開発
研究者所属・氏名	研究代表者：中山 隆志（薬学部医療薬学科） 共同研究者：森川 敏夫（薬学総合研究所）、早坂 晴子（理工学部生命科学科）、松尾 一彦、原 雄大（薬学部医療薬学科）、佐藤 雅子（医学部皮膚科学）

1. 研究、開発・提案 目的及び内容

細胞傷害性T細胞（CTL）は、ウイルス感染症において重要な役割を担うエフェクター細胞である。しかしながら、既存のワクチンは、抗体の誘導は可能である一方、CTLの誘導はほとんど出来ない。また、一般的な投与方法である経皮投与や筋肉投与では、肺などの呼吸器における粘膜免疫の誘導効率は非常に低い。近年、腸管内において同定されたCD70陽性樹状細胞（DC）は、ATPによるP2受容体の刺激を介してTh17細胞を誘導できること、また、Th17細胞がCTLを誘導できることがそれぞれ報告された。当研究室では、これまでにCD70陽性DCがマウスの鼻粘膜固有層にも存在すること、腸管内のCD70陽性DCと同様に、Th17細胞の誘導能を有していることをin vitroにおいて見出した。本研究は、P2受容体アゴニスト $\alpha\beta$ -ATPを用いて、このDCサブセットを標的とした経鼻投与ワクチンを開発することで、肺において安全かつ効率的にCTLを誘導でき、新型コロナウイルスにも有効な予防・治療法を構築することを目的としている。

2. 研究、開発・提案 経過及び成果

まず、マウス鼻粘膜固有層中のCD70陽性DCの特性解析を行った。腸管組織のCD70陽性DCは、種々のP2X受容体サブタイプを発現しているため、これら受容体の発現をreal-time PCR法により検討した。鼻粘膜固有層中のCD70陽性DCは、腸管組織のそれと同様にP2X受容体1、2および4を発現していた。一方、これらの受容体は、鼻粘膜固有層のCD70陰性のDCや脾臓中のDCでは発現していなかった。また、P2受容体アゴニスト $\alpha\beta$ -ATPにより刺激した際、腸管組織内のCD70陽性DCと同様に、Th17細胞関連のサイトカインやインテグリンの発現増加が認められた。

次に、モデル抗原OVAとP2受容体アゴニスト $\alpha\beta$ -ATPを経鼻投与することで、マウス体内でTh17細胞やCTLを誘導できるか検討した。OVA単独処置と比べ、 $\alpha\beta$ -ATPを共処置することで、鼻粘膜固有層中においてTh17細胞およびCTLが顕著に増加した。この時、Th1細胞やTh2細胞など他のT細胞サブセットは誘導されなかった。続いて、この $\alpha\beta$ -ATPにより誘導されたCTLが、全身的な免疫応答に関与するのか、腫瘍モデルを用いて腫瘍増殖により評価した。OVAと $\alpha\beta$ -ATPで免疫したマウスの皮内に、OVAを強制発現させたマウスリンパ腫E.G7-OVA細胞を移植したところ、OVA単独群ではやPBS処置群と比べ、顕著に腫瘍増殖が抑制された。また、OVAと $\alpha\beta$ -ATP処置における鼻粘膜固有層中でのTh17細胞およびCTL誘導、腫瘍増殖の抑制は、P2受容体の阻害薬であるsuraminの投与により阻害されたことより、CD70陽性DC上のP2受容体を介した反応である可能性が考えられる。

これまでは、モデル抗原OVAを用いていたが、実用化を見据え、腫瘍抗原を用いた。マウスメラノーマ細胞株B16-F10由来の腫瘍溶解液を、 $\alpha\beta$ -ATPとともに経鼻投与し、B16-F10細胞を皮内投与した。腫瘍溶解液と $\alpha\beta$ -ATPを処置したマウスでは、腫瘍増殖が有意に減少した。さらに、肺でのCTL誘導の効果について検討するため、B16-F10細胞を静脈内投与し、肺転移モデルを作製した。腫瘍溶解液と $\alpha\beta$ -ATPの投与により、肺での腫瘍コロニー数の減少が認められた。

3. 本研究と関連した今後の研究、開発・提案 計画

今後、さらに P2 受容体アゴニスト $\alpha\beta$ -ATP を用いて、鼻粘膜固有層中の CD70 陽性 DC を標的とした経鼻投与ワクチンの可能性を検討する。CD70 陽性 DC を介して誘導された免疫応答の肺での影響を調べるために、B16-F10 細胞を用いた肺への転移モデルを用い、 $\alpha\beta$ -ATP 免疫時の肺での Th17 細胞および CTL 誘導について検討する。また、より強力に Th17 細胞や CTL を誘導可能な条件および化合物の探索を行う。

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

--