

ImmunoTox Letter

日本免疫毒性学会: The Japanese Society of Immunotoxicology Vol. 25 No.2(通巻 50 号) 2020. 12 月

— 目次 —

第 28 回日本免疫毒性学会学術年会(予告 1) ……1
岡山理科大学 手島玲子
第 27 回日本免疫毒性学会学術年会報告 ……2
防衛医科大学校 角田正史
第 27 回学術年会 年会賞 ……5
和歌山県立医科大学 佐々木泉
第 27 回学術年会 学生・若手優秀発表賞 ……9
大阪大学大学院 村田雄飛
第 9 回(2019 年度)日本免疫毒性学会奨励賞 11
国立感染症研究所 佐々木永太
シリーズ「免疫毒性研究の若い力」22 ……14
東京農業大学大学院 宇野絹子
第 27 回学術年会でのアンケート結果 ……16
ImmunoTox Letter Digest ……19

第 28 回日本免疫毒性学会学術年会 (JSIT2021)(予告 1)

日本免疫毒性学会の第 28 回学術年会を下記の要領で開催いたしますので、ご案内申し上げます。

期 日 : 2021 年 9 月 6 日(月)~7 日(火)
会 場 : 岡山理科大学獣医学部大講義棟
住 所 : 〒794-8555 愛媛県今治市いこいの丘 1-3
アクセス : 空路 松山空港から車で約 70 分、
リムジンバスで約 80 分、
(愛媛県道 18 号および国道 196 号経由)
鉄道・高速バス 今治駅からはせとうちバス
またはタクシー等で約 6 分
(詳細は岡山理科大学獣医学部ホームページ
<https://www.vet.ous.ac.jp/about/access/>
をご覧ください)

テ マ : 自然免疫と獲得免疫のかかわりと免疫毒性
内 容 :

特別講演

1. 樹状細胞を利用した新しい免疫療法
藤井真一郎先生(理化学研究所生命医科学研究センター
免疫細胞治療研究チーム)
2. Immunogenicity-Related Toxicity
Dr. Jeamine Bussiere (Scientific Executive Director of
Toxicology, Amgen Inc.)

シンポジウム(種々のワクチンの開発状況とその安全性評価
について)

1. ワクチン副反応の個人差の原因となる microRNA の同定
押海裕之先生(熊本大学大学院生命科学研究部免疫学
講座教授)
2. 経鼻ワクチンの安全性
幸義和先生(㈱HanaVax 取締役 最高技術責任者)
3. ヒト化マウスを用いるワクチンの安全性評価法
佐々木永太先生(国立感染症研究所血液・安全性研究部)
4. 魚類ワクチンの開発と今後の展望
飯田貴次先生(岡山理科大学獣医学部魚病学講座)

教育講演

1. 進化から見たアレルギー疾患の意義
(自然リンパ球(ILC-2)の役割も含めて)
松本健治先生(国立成育医療センター研究所免疫
アレルギー・感染研究部)
2. 新型コロナワクチンについて
吉川泰弘先生(岡山理科大学獣医学部学部長)
試験法ワークショップ(In vitro 免疫毒性の現状と今後(仮題)
一般演題:口頭、ポスター両方の発表をうけつけ、学生・若手
発表の部門も従来通り設ける予定。

賞: 年会において優秀な一般演題を発表した会員
に対し、「年会賞」、並びに「学生・若手優秀発
表賞」を贈呈する予定です。

発表形式: 口演・ポスターを予定しています。

演題募集期間:

2021 年 3 月 26 日(金)~ 6 月 25 日(金)(予定)

年 会 長 : 手島玲子

岡山理科大学獣医学部食品衛生講座教授

事務局：第28回日本免疫毒性学会学術年会事務局
〒794-8555 愛媛県今治市いこいの丘1-3
岡山理科大学獣医学部食品衛生講座
電話 0898-52-9199, Fax 0898-52-9022

演題・参加登録問い合わせ先：
株式会社 コームラ
〒501-2517 岐阜県岐阜市三輪ぷりんとびあ3
電話 058-229-5858, FAX 058-229-6001
E-mail、ホームページ：準備中(3月上旬を予定)

第27回日本免疫毒性学会学術年会報告

角田正史 (防衛医科大学校医学教育部衛生学公衆衛生学講座)

第27回日本免疫毒性学会学術年会は、2020年9月26日(土)、27日(日)の2日間にわたり、web学会という形で開催されました。当初は北里大学名誉教授、相澤好治先生のご高配により、北里大学プリズムタワーの会議室をお借りできることになり、北里大学で今年の学術年会は、多くの先人の研究を踏まえ、現代の研究及び臨床に応用し、未来に向けた年会とするという意味で「免疫毒性学の過去、現在、未来」をメインテーマとして開催予定でしたが、ご存知の通り、本年に入りコロナウイルス感染症の世界的大流行により、協議の末、通常開催は断念し、メインテーマはそのままにweb学会として開催することとなりました。

Web開催を行う方向で決定した後に、直面したのが費用の問題でした。オンデマンド方式、ライブ配信方式を学会委託先に試算してもらいましたが、かなり配慮を頂いた試算にも関わらず、オンデマンドで60万、ライブ配信では120万円程度となり、一時は抄録集の誌上発表のみにせざるを得ないと考えました。ここで、運営委員の久田茂先生からあすか製薬のZoom Webinarを用いてライブ配信で行う旨のご提案を頂き、実現の可能性が開かれました。



写真1 久田先生(あすか製薬)、角田、シンポジストの高野政志先生(防衛医科大学校産婦人科学講座教授) 9月26日 あすか製薬会議室にて

最終的には当初予定しておりましたシンポジウム、受賞講演、ワークショップ、若手セッションは、Zoom Webinar を用いてライブ配信で行うこととなりました。若手セッションに関しましては、若い研究者に口頭での発表機会を与えるという趣旨から、口頭発表を実現したいという思いがあり、ライブ配信に含めました。一般演題に関しましては、費用面、情報保護の観点から、抄録集の web 公開に合わせて、学術年会ホームページ上でのポスター発表（9月23日～27日閲覧）とさせて頂きました。当初予定していた海外学術講演は来年に延期となりました。

準備に当たりましては、特に Zoom Webinar の参加方法の周知、予行演習の実施など、久田先生に大変なご尽力頂きました。今回の学術年会の開催が実現に至りましたのは、ひとえに久田先生ならびにあすか製薬様のご尽力の賜物と考えております。学会員は登録により参加、非学会員の方には 2000 円の参加費を頂き参加ということになり、登録締め切り後も参加希望があり久田先生の対応も頂き、登録者数 130 人に達して当日を迎えました。

本年の年会の演題発表数は一般演題 19、若手セッション演題発表 8 となりました。学術年会参加者は 9月26日は参加者 110 名、同時ビュー最大人数 90 名、27日は参加者 99 名、同時ビュー最大人数 86 名となり、2日間いずれか参加された方は 115 名となりました。

本年の学術年会のシンポジウムは年会テーマに合わせて、「免疫毒性学の過去・現在・未来」とし、3人のシンポジストに講演頂きました。元東京大学農学部、鳥山重光先生との共同発表として、近畿大学医学部微生物学、角田郁生教授が「多発性硬化症のウイルス誘導性 CNS モデル：マックスタイラーと野口英世」の講演を行い、野口英世博士の時代にも研究されていた免疫学的手法の毒性学への応用を、過去から現在の多発性硬化症の研究に至るまで概説頂きました。個人的には野口博士ゆかりの北里大学での講演が実現しなかったのは残念な思いが残りました。学会の主要メンバーである大阪大学先導的学際研究機構の吉岡靖雄教授には「免疫毒性学的観点からのワクチン開発」の講演を頂き、現在コロナウイルス感染症の流行下、極めて関心が高いワクチン開発について概説頂きました。防衛医科大学校産婦人科学講座、高野政志教授には「卵巣明細胞癌の発生に関する“毒物”代謝」の講演を頂き、研究の積み重ねで様々な抗がん剤が開発されているものの、なかなか卵巣明細胞癌の予後改善には至っていない厳しい現実も示され、未来に向けて研究者一人一人がやるべきことは多いと感じる講演でした。

27日には受賞講演が行われ、学会賞受賞講演として井上智彰先生（元中外製薬）の「医薬品の *in vivo* 免疫毒性を予測するための *in vitro* 評価系の研究」、奨励賞受賞講演として青木重樹先生（千葉大学大学院薬学研究院生物薬剤研究室）の「HLA 遺伝子導入マウスを用いた特異体質薬物毒性研究」、木戸尊将先生（東京慈恵会医科大学環境保健医学講座）の「亜鉛欠乏症に起因する免疫機能低下に関する研究」の講演が行われました。受賞は毎年のものであり、本年の受賞者である各先生の講演を拝聴できたことは貴重な機会であったと思います。

年会の最後は試験法ワークショップ「最先端技術の免疫毒性評価への展開」が行われ、白崎善隆先生、黒田悦史先生、田川陽一先生、久保千代美先生に多様な観点から最先端技術の紹介を含む貴重なご講演を頂きました。

なお一般演題から年会賞として佐々木泉先生（和歌山県立医科大学生体調節機構研究部）「The roles of unfold protein responses in cholera toxin B-induced interleukin-1 β production」、若手セッションからは学生・若手優秀発表賞として村田雄飛先生（大阪大学大学院薬学研究科）「骨髄由来免疫抑制細胞を介する G-CSF の免疫毒性発現メカニズムの解析」が審査委員の採点の結果、選ばれました。

今回の年会は配信上の目立ったトラブルもなく、時に議論が白熱し、討論時間を超過することもあり、有益な意見交換ができました。また参加者も例年の年会並みに至り、参加者の皆様に心よりの御礼を申し上げます。また年会長の力不足で、多くのご要望にお応えできなかったことにお詫び申し上げます。ただ本年の年会がこのような形で実現できたのは、前述しましたように、久田先生の多大なるご貢献があつてのことで、コロナウイルス感染症流行の収束が未だ見通せない今、年会の在り方については議論が必要で、本年の経験を活かせるにしても前例にはなりえない、ということは皆で共有していかなければならないと存じます。

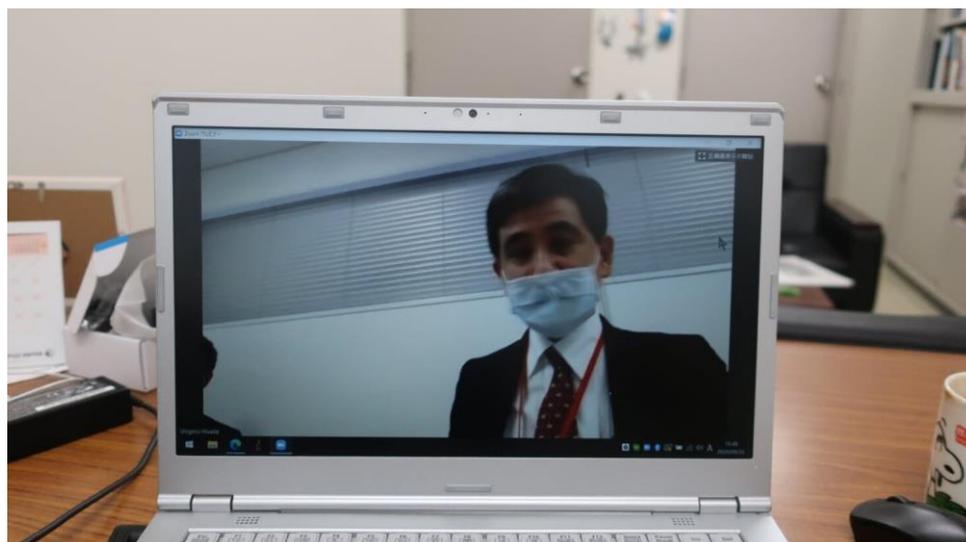


写真 2 web 会議の画面上の様子（角田挨拶）

第 27 回日本免疫毒性学会学術年会 年会賞

The roles of unfold protein responses in cholera toxin B-induced interleukin-1 β production

佐々木 泉 (和歌山県立医科大学 先端医学研究所 生体調節機構研究部)

[背景・目的]

コレラ毒素 (Cholera toxin: CT) は、コレラ菌により産生されるタンパク複合体であり、1 個の A サブユニット (CTA) と 5 個の B サブユニット (CTB) から構成される。CTB は、細胞膜面上の糖脂質 GM1 に結合し、CT を細胞内へ誘導し、細胞内に侵入した CTA が、細胞内 cAMP 濃度を上昇させ、下痢などの症状を引き起こす。このように CT は、感染症コレラの病因物質として機能するが、同時に、様々な T 細胞応答や抗体産生を誘導するなど、免疫増強 (アジュバント) 活性を持つことも知られている¹。また、CTB も炎症性サイトカイン IL-6 などを産生誘導することが知られているが、CTB や CT がどのような細胞に認識され、どのように免疫アジュバント活性を発揮するのかは詳しく知られていない。

我々は昨年度の本学会にて、CTB が定常状態のマウス腹腔マクロファージに作用し、リポ多糖 (LPS) と協調して炎症性サイトカイン IL-1 β の産生を誘導すること、この誘導に GM1 を介した CTB の細胞内侵入が必須であり、NLRP3 インフラマソームと Pypin インフラマソームの両方が関与することを報告した²。しかし、CTB がどのような機序でインフラマソームを活性化し、どのように IL-1 β の産生を誘導するのかは不明なままである。そこで本研究では、CTB による IL-1 β の産生誘導に関与する分子機序の解明を目指した。

[実験方法]

まず、腹腔マクロファージを LPS 単独または LPS と CTB で刺激し、CTB により誘導される遺伝子群の網羅的解析 (RNA シークエンス) を行った。次に、誘導される遺伝子群の発現が GM1 依存性かどうかを調べるため、GM1 欠損マクロファージを用いた解析を行った。また、CTB は GM1 を介して細胞内侵入後、ゴルジ体を経て小胞体 (Endoplasmic reticulum: ER) に到達することが知られているが³、腹腔マクロファージにおける CTB の細胞内輸送経路はよくわかっていない。そこで、蛍光標識した CTB を用いて CTB の細胞内局在を解析し、その GM1 依存性を、GM1 欠損マクロファージを用いて解析した。さらに、CTB により誘導される遺伝子群が、IL-1 β の産生誘導に関与するかどうかを調べるため、種々の阻害剤を用いて検討した。

[結果]

1. CTB は GM1 依存的に小胞体ストレス応答を誘導する

RNA シークエンスの結果、LPS 存在下で、CTB の刺激で発現上昇する遺伝子が 510 個得られ、その中に小胞体ストレス応答に関与する遺伝子が数多く含まれていることが明らかになった。

この結果から、CTB が小胞体ストレス応答を誘導することが示唆された。小胞体ストレスは、小胞体内に大量に蓄積された異常タンパク (unfolded protein) により引き起こされる。これらの異常タンパクは小胞体ストレスセンサーIRE1 α 、PERK、ATF6 により認識される。IRE1 α はRNA分解活性があり、XBP1 の mRNA 前駆体をスプライシングして sXBP1 mRNA を生成し、これが転写因子 XBP1 となる。PERK は活性化すると ATF4 や CHOP といった転写因子を活性化させ、ATF6 は活性化するとプロテアーゼによる切断を受けた後、核内に移行して転写因子として機能する。これらの転写因子が、異常タンパクの修復や分解除去に関与する分子の発現を誘導する。この一連の応答は小胞体ストレス応答 (unfolded protein response: UPR) と呼ばれている⁴。

そこで、CTB による小胞体ストレス応答に、GM1 が必要かどうかを、GM1 欠損マウスを用いて検討した。野生型あるいは GM1 欠損マウス由来のマクロファージを LPS 単独または LPS と CTB で刺激し、細胞を回収し RNA シークエンスと RT-PCR を行った。RNA シークエンスの結果、野生型マクロファージにおいて CTB 刺激により小胞体ストレス応答遺伝子群の発現が誘導され、この誘導が GM1 欠損マクロファージでは消失した。また、RT-PCR の結果、野生型マクロファージにおいて CTB 刺激により XBP1 のスプライシングと CHOP の発現が誘導されたが、これらの誘導が GM1 欠損マクロファージでは全く認められなかった。これらの結果から、CTB は GM1 依存的に小胞体ストレス応答を誘導することが明らかになった。

2. CTB は GM1 依存的に細胞内に侵入後、ER に到達する

腹腔マクロファージにおける CTB の細胞内局在とその GM1 依存性を解析するため、野生型あるいは GM1 欠損マウス由来のマクロファージに FITC 標識 CTB を添加して培養後、細胞を回収して免疫組織化学染色法により検討した。その結果、野生型マクロファージにおいて CTB と IRE1 α の共局在が認められたが、GM1 欠損マクロファージではこの共局在は認められなかった。このことから、腹腔マクロファージにおいて CTB は GM1 を介して細胞内に侵入後、ER に到達することが示唆された。

3. 小胞体ストレスセンサーIRE1 α のシグナルが CTB による IL-1 β 産生誘導に関与する

CTB による IL-1 β 産生誘導に、どの小胞体ストレスセンサーが関与するかを、各センサーの阻害剤を用いて検討した。まず IRE1 α の阻害剤 4 μ 8c について検討を行った。腹腔マクロファージにおいて、CTB 添加前に 4 μ 8c を加え、刺激後、細胞と培養上清を回収し、細胞は RNA を抽出後 RT-PCR を、培養上清は ELISA を行い、IL-1 β レベルを測定した。4 μ 8c 存在下では、CTB による XBP1 のスプライシングと IL-1 β 産生誘導の両方が有意に障害された。このことから、IRE1 α シグナルは CTB による IL-1 β 産生誘導に関与することが示唆された。同様に PERK や ATF6 についても、それぞれの阻害剤を用いて検討したが、PERK 阻害剤および ATF6 阻害剤存在下で、CTB による IL-1 β 産生誘導は障害されなかった。このことから、PERK も ATF6 も、CTB による IL-1 β 産生誘導に関与しないことが示唆された。

[考察]

本研究により、CTB は腹腔マクロファージに作用し小胞体ストレス応答を誘導すること、特に IRE1 α のシグナルが IL-1 β 産生誘導に必要であることが示唆された (図)。

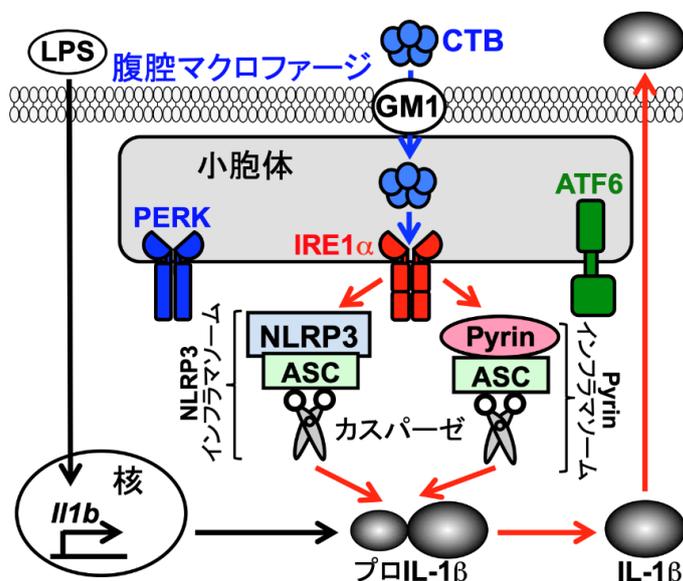


図. CTBによる小胞体ストレスセンサーIRE1 α を介したIL-1 β 産生誘導

小胞体ストレス応答は、生理的には形質細胞が抗体を産生する際や、膵臓の β 細胞がインスリンを産生する場合に活性化されるが、近年、糖尿病や炎症性疾患の病態に関与することもわかってきて注目されている⁵。しかし、免疫アジュバント活性における小胞体ストレス応答の役割はほとんどわかっていない。また、小胞体ストレスセンサーの分子基盤の解明も進んではいるが、その研究は、培養細胞株にツニカマイシンなどの薬剤を添加して誘導された、いわば人工的な小胞体ストレス応答を評価しているものが多く、生理的条件下での小胞体ストレスセンサーの役割については不明な部分が多い。本研究により、CTB が生体内のマクロファージに作用し小胞体ストレスリガンドとして機能することが明らかになっただけでなく、小胞体ストレスセンサー IRE1 α が CTB を認識し炎症性サイトカイン IL-1 β の産生を誘導する、すなわち小胞体ストレスセンサーが病原体センサーとして機能する可能性も示唆された。今後は、どのように CTB が IRE1 α を活性化するのか、IRE1 α からどのような機序によりインフラマソーム活性化に繋がるのかを解明し、小胞体ストレスセンサーの新たな機能的意義を見出していきたい。

[参考文献]

1. Lycke, N. (2012) Nat Rev Immunol., 12, 592-605
2. Takashi, O. et al. (2019) Int Immunol., 31, 657-668
3. Lencer, W. I. and Tsai, B. (2003) Trends in Biochemical Sciences., 28, 639-645

4. Walter, P. and Ron, D. (2011) *Science.*, 334, 1081-1086

5. Hetz, C., Zhang, K. *et al.* (2020) *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 21, 421-438

[謝辞]

今回、このコロナ禍で様々な学会が中止になっている中、リモートという形で貴学会を開催していただきましたこと、心より感謝申し上げます。本会において、私の研究発表を、栄誉ある年会賞に選出して頂きましたこと、大変光栄に思っております。二度目の学会参加で年会賞を受賞できるとは思ってもみませんでした。身に余る光栄であり、年会長の角田正史先生ならびに審査員の先生方に深く感謝申し上げます。

本稿に関わる研究は、和歌山県立医科大学先端医学研究所生体調節機構研究部にて実施されたものであり、改正恒康教授をはじめとしたラボメンバー、スタッフの皆様に心より御礼申し上げます。

[自己紹介]

2001年北海道札幌東高校卒業。2005年室蘭工業大学工学部応用化学科卒業。2007年北海道大学大学院医学研究科修士課程修了。2011年大阪大学大学院医学系研究科博士課程修了後、大阪大学免疫学フロンティア研究センター 特任研究員、寄付研究部門助教を経て、2014年10月より、和歌山県立医科大学先端医学研究所生体調節機構研究部 助教に着任。2019年3月より同大学にて講師を務めております。免疫増強剤の作用機序を解明することで、より安全で有効な免疫増強剤の開発に貢献したいと考えて研究しています。趣味は将棋と卓球です。



佐々木 泉先生

第 27 回日本免疫毒性学会学術年会 学生・若手優秀発表賞

骨髄由来免疫抑制細胞を介する G-CSF の免疫毒性発現メカニズムの解析

村田雄飛 (大阪大学大学院 薬学研究科 博士前期課程 2 年
ワクチン・免疫制御学プロジェクト)

この度、第 27 回日本免疫毒性学会学術年会におきまして学生・若手優秀発表賞を拝受いたしました。身に余るほどの光栄であり、年会長の角田正史先生ならびに審査員の先生方に深く感謝申し上げます。

私は学部 1 年次に受けた授業で免疫学の奥深さに感銘し、それ以来免疫学に対して強い関心を抱くようになりました。その後、免疫学を研究できる研究室を探していた折に、現在の恩師である立花雅史先生と出会いました。そして学部 3 年次の研究室配属では、幸いにも立花雅史先生のいらっしゃったワクチン・免疫制御学分野に配属が決定しました。

現在私は立花雅史先生のご指導の下、骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC) の研究に取り組んでおります。この MDSC を介して顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) が免疫毒性を発現するメカニズムに関する研究成果を、幸運にもこの度の学術集会で発表させていただくことができました。

MDSC は担がん病態下や炎症時に出現する細胞で、T 細胞や NK 細胞に対する抑制能を有することが知られております。また G-CSF はがん化学療法に伴う主要な副反応である好中球減少症の予防薬として用いられている一方で、担がん生体において MDSC の増加や腫瘍転移の促進などの作用を有することも報告されており、MDSC の免疫抑制能増強を介した免疫毒性が示唆されます。がん化学療法において、好中球減少症の発現は患者さん自身を感染症の危険に晒すことになるだけではなく、それに伴う治療スキームの延期や中止により当初のがん治療効果が見込めなくなるということにもつながりかねません。したがって MDSC を介した免疫毒性を回避するために G-CSF を使用しないことは現実的ではありません。このような背景から、私たちは G-CSF が MDSC の免疫抑制能に与える影響を検討し、その免疫毒性発現メカニズムの解明に着手しました。

始めに G-CSF が MDSC 分化に与える影響について検討したところ、G-CSF 存在下で MDSC を分化誘導することにより、MDSC サブセットのひとつである好中球様 MDSC が減少し、もう一つのサブセットである単球様 MDSC が増加することが示されました。一細胞あたりの免疫抑制能は単球様 MDSCの方が強いことから、G-CSF により MDSC の免疫抑制能が増強する可能性が考えられました。そこでこの MDSC を CD4 陽性 T 細胞と共培養したところ、G-CSF 存在下で分化誘導した MDSCの方が、G-CSF 非存在下のものよりも T 細胞増殖を強く抑制することが明らかとなりました。さらに RNA-seq により両条件の MDSC のトランスクリプトームを解析したところ、 γ -glutamyltransferase 1 (*Ggt1*) が G-CSF による免疫抑制能増強に寄与する候補遺伝子として見つかりました。*Ggt1* は、細胞外グルタチオンの加水分解を担う唯一の酵素である γ -

glutamyltranspeptidase (GGT) をコードしており、MDSC の GGT 活性を評価したところ、G-CSF 添加により増強することが示されました。また MDSC の主な免疫抑制分子である Arginase-1 や iNOS の発現も G-CSF 添加により上昇し、さらに GGT 阻害剤の添加によって、その発現上昇が打ち消されました。実際に 3LL 担がんマウスにこの GGT 阻害剤を投与したところ、腫瘍の進展阻害が認められました。これらの結果から、G-CSF による免疫抑制能の増強は GGT を介したものである可能性が示されました。当研究室ではグルタミン酸が MDSC の免疫抑制能を増強することを見出しており（第 24 回学術年会にて発表済み。 *Biol Pharm Bull*, 2018）、GGT を介した細胞外グルタチオン分解によるグルタミン酸の生成が、G-CSF による免疫毒性作用の本質として重要である可能性が考えられました。本研究成果は、がん化学療法に伴う好中球減少症の発現を予防する G-CSF の薬理効果を損なうことなく、G-CSF が有するもう一方の作用である MDSC を介した免疫毒性のみを阻害できる可能性を示したものであると考えております。

この度の発表では、非常に多くのご質問・ご助言をいただいたこと、深く感謝しております。今回の受賞を励みに日々の研究活動にますます精進し、免疫毒性学の発展に少しでも貢献できるよう努めて参る所存です。日本免疫毒性学会の先生方におかれましては、今後ともご指導ご鞭撻のほど、何卒宜しくお願い申し上げます。

最後になりますが、本研究を推進するにあたり、始終御懇篤なるご指導ご鞭撻を賜りました岡田直貴先生、立花雅史先生に謹んで深謝いたします。また本研究の遂行にあたり、多大なる御協力を賜りました当研究室の川崎太寛学士、ならびに大阪大学免疫学フロンティア研究センター奥崎大介先生に心より御礼申し上げます。



村田雄飛先生

第9回(2019年度)日本免疫毒性学会奨励賞

2019年度日本免疫毒性学会奨励賞を受賞して

佐々木 永太 (国立感染症研究所 血液・安全性研究部)

この度は、2019年度日本免疫毒性学会奨励賞を賜り、ご推薦頂いた先生方、ならびに選考委員の先生方に心より御礼申し上げます。

私が免疫毒性学会に初めて参加させていただきましたのは、第22回(2015年)の高野先生が年会長をお務めになられた学術大会からであります。初めての参加となりましたが、環境化学物質、抗体医薬やワクチン等を対象とした免疫毒性の研究は、これまでに触れたことのなかった分野であり、新鮮で強い刺激を受けたことを記憶しております。またその大会にて、初めての参加にもかかわらず年会長賞を賜りました。

今回の受賞は、「ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) および新規末梢血ヒト化マウスを用いたアジュバントの安全性評価法の構築とワクチン開発への応用」に対していただきました。私は、大学院博士課程在籍当時、医薬品の肝毒性発症に関する機序を、マウスモデルにて、免疫学的および薬物代謝学的に解析する研究に取り組み、このことが”安全性”に関する研究に携わるきっかけとなりました。大学院修了後は、厚生労働省の施設等機関である国立感染症研究所に入所し、ワクチンアジュバントの安全性および作用機序に関する研究を開始しました。

ワクチンは小児から高齢者まで幅広い年齢のヒトに接種されることから高い安全性が求められます。私は現職場に入所以降、ゲノミクス解析を応用し、遺伝子発現変動のデータを用いてワクチンの免疫原性から毒性までの予測情報を得ることができないかと考え、研究を行って参りました。すなわち、ゲノミクス解析の情報から、ワクチンの有効性や安全性に必要な情報を取り出すことができないか、と考えました。このような手法は既に、合成医薬品などの毒性評価に有用であることが数多く報告されておりましたがワクチン等の生物学的製剤においては、抗体産生、体重変動や病理組織評価等の解析に留まっており、新たな安全性評価系に関する報告もほとんどありませんでした。ワクチンの場合は、少々乱暴ですが、その作用機序を大別しますと、自然免疫と獲得免疫のステージに分けることができます。近年ワクチンの有効性向上の重要なツールとして認識されているアジュバントの場合は多くが自然免疫に作用することや、ワクチン免疫の方向性を決める自然免疫に興味を持っていたことから、まずは自然免疫応答に着目することとしました。また、病原体感染予防ワクチンには様々な病原体に対するワクチンが存在しますが、多くの人に接種され、開発製剤のバリエーションが比較的豊富な不活化インフルエンザワ

クチンに着目することとし、研究に着手しました。

不活化インフルエンザワクチンには、全粒子ワクチンと呼ばれるウイルス粒子を丸ごとホルマリンで不活化した免疫原性の高いワクチンと、ウイルス外殻に存在する主にヘマグルチニンやノイラミニダーゼからなるスプリットワクチン (現在の季節性インフルエンザワクチンで使用されている) が主要な不活化ワクチンとして存在します。全粒子ワクチンは免疫原性が高く副反応発症頻度も高い、一方でスプリットワクチンは免疫原性が低く副反応発症頻度は極めて低いことが知られておりました。そこで、この性質の異なる2つのタイプのワクチンをマウスに接種することにより得られる肺のゲノミクス解析結果を比較することから着手しました。その結果1型 interferon (IFN) 関連遺伝子や、抗原提示に関する遺伝子等が、全粒子ワクチン特異的に発現上昇を示すマーカーとして単離されました。次に、これらの遺伝子がワクチンによる毒性や有効性にどのように関与しているのか興味を持ち解析を行いました。その結果、1型 IFN シグナルや、1型 IFN 誘導性の遺伝子が全粒子ワクチンによる白血球減少毒性 (マウスで認められる血液毒性) を高精度で予測できることを見出しました。また、全粒子ワクチンの活性を反映するバイオマーカー遺伝子として抽出した遺伝子セットを用いることで、全粒子ワクチンに類似したアジュバントの毒性 (1型 IFN による毒性) を予測可能であることが R848 や poly I:C などの既存の毒性が比較的高いアジュバントを用いた検証から明らかになってまいりました。さらに、最近の研究結果では、肺に発現する特定の遺伝子の発現レベルを評価することで、経鼻ワクチンのアジュバント効果や、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導ならびに粘膜傷害性を部分的に予測可能であることを見出しました。研究開始当初は、僅か20個にも満たない遺伝子を用いて、このようなアジュバントの重要な作用を予測できるとは予想しておりませんでした。現在は、この遺伝子による評価法を新たなアジュバント探索に応用できないか、と考えその可能性を探っております。

一方でこれらのデータはマウスでの検証結果であり、ヒトによる免疫毒性をどの程度反映できているのかを、部分的にでも検証することができないか、と考えました。そこでまずヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を用いた *in vitro* の解析を行ったところ、1型 IFN に関連する遺伝子発現変動はマウス *in vivo* に類似したデータが PBMC で得られることを見出しました。さらに、PBMC で再現性が得られなかった遺伝子について、末梢血ヒト化マウスで再現ができないか検証しました。ヒトとマウスではサイトカインやケモカインはクロスしないものが多々ありますが、一部の遺伝子においては、ヒト PBMC とマウスの肺の相互作用で発現変動を示している遺伝子があることが判明しました。PBMC や、末梢血ヒト化マウスモデルは、モデルの不安定さや、コストの問題から、安全性試験に応用することは容易ではありませんが、ヒトへの外挿性を予測する優

れたツールであることがわかりました。

これらの基盤的な研究は、大阪大学・医薬基盤研の石井健 先生 (現 東大医科研 教授) が主宰されている研究班の中で実施させていただき、さらに幸運なことに、2017 年より継続して石井先生らの研究グループの一員として、ゲノミクス解析を応用したワクチンアジュバントの評価系構築に関する研究に深く取り組むことができるようになりました。この研究活動の中で、安全性という枠組みのみならず、基礎的な学問である免疫学の奥深さと面白さを知ることができました。これらの貴重な経験を活かし、今後の研究をさらに発展させて参りたいと考えております。

一方で、ワクチンの安全性研究開始後の5年間を振り返って見ますと、当初は安全性を中心とした毒性学的な視点で研究を進めて参りましたが、毒性や有効性をコントロールするには、免疫学という体系的な理解が必要であるということを実感しております。そこで、免疫毒性に携わる研究者として、ワクチンの安全性向上に貢献するには何ができるかと考えましたところ、その一歩として、月並みですが免疫学的な知見によって、ワクチンの有効性や安全性を科学的に説明できるようになることを目指すことだと思っております。そのためにも、今後も免疫学をベースとした毒性学研究に取り組み、ワクチンアジュバントの研究を発展させるとともに、ゲノミクス解析から得られた知見から、様々な視点でワクチンアジュバントの安全性や有効性に係る作用機序を解明していきたいと考えております。

最後になりますが、現在のアジュバント研究においてご指導いただいております東京大学医科学研究所 教授 石井健先生、兵庫医科大学 主任教授 黒田悦史先生、実験をサポートいただいております国立感染症研究所 血液・安全性研究部の皆様、ならびに免疫毒性学会の諸先生方に御礼申し上げますとともに、今後とも指導ご鞭撻を賜りますよう、宜しく願い申し上げます。



佐々木 永太先生

シリーズ「免疫毒性研究の若い力」22

非アルコール性脂肪性肝炎と免疫学的因子の関連

宇野絹子（東京農業大学大学院 農学研究科 食品栄養学専攻
食品安全評価学研究室）

この度、日本免疫毒性学会 Immuno Tox Letter での執筆の機会を与えていただきましたこと厚く御礼申し上げます。第27回日本免疫毒性学会学術年会への参加並びに発表させていただいたことは貴重な経験で、大変勉強になりました。免疫毒性学に関わる研究について浅学ではありますが、この機会をお借りして、私の研究をご紹介します。

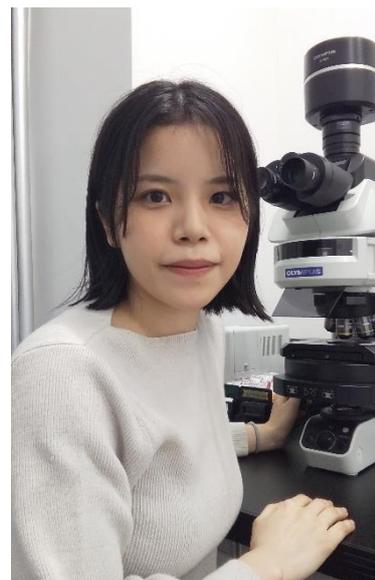
私は、東京農業大学で学部生のころから、ラットを用いて非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) の研究に取り組んで参りました。NASH は、飲酒歴がないにも関わらず、脂肪肝を発症し、肝臓における炎症や線維化を誘発する生活習慣病の1つです。ウイルス性や、自己免疫性などのその他の肝炎の治療薬の開発が進む一方で、根治的な治療薬が未だ開発されておらず、世界的に患者数の急増が懸念されています。NASH から進行する可能性がある疾患として、肝硬変や肝がんが挙げられ、重症化する前に病態を制御する必要があります。私は、Fischer 344 ラットを用いた、食餌誘発性 NASH モデルにおいて、病態の早期から重症期に至るまでの病態を検討致しました。具体的には、コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸食 (CDAА 食) を与えることにより、肝臓に誘発された炎症や、線維化を中心に関連する因子の探索を、3日間給餌から、2週間、4週間、13週間、26週間及び52週間給餌と経時的に行い、病態進行の推移を解析しております。CDAА食は、中性脂肪を肝臓から肝外組織へ輸送する VLDL の合成を低下させ、摂餌早期から脂肪肝や酸化ストレスを誘導し、肝臓において炎症性細胞浸潤を誘導させることができる食餌誘発性の動物モデルであり、摂餌4週以降から線維化を惹起します。前述の通り、肝臓の線維化が進行することで発症する重篤な肝硬変は不可逆的とされ、根治させるには肝移植のみとされています。可能な限り早期の段階での病態の制御が必要となるため、経時的に線維化及び線維化を惹起する炎症のメカニズムに着目し解析しました。

肝臓における炎症や線維化の惹起は、門脈血を通して、腸管からの二次胆汁酸、LPS、及び炎症性サイトカインの流入がする、「腸肝関連」が関与します。二次胆汁酸は肝星細胞の細胞老化を促進し、SASP 因子を分泌させることで肝病態の発症や進行に関与することが報告されています (Shin Yoshimoto, *et al.*, Nature, 2013)。LPS は肝臓の Kupffer 細胞の Toll-like receptor (TLR) に作用し、炎症性サイトカインの産生を促すことが示され、さらに肝星細胞上においても発現する TLR と作用することで、肝星細胞の活性化を誘導し、肝線維化の進展が促されます (Seki E, *et al.*, Nat Med, 2007)。病態の進行に寄与する関連因子の腸管からの流入には、腸管における脂質の消化吸收系の変動 (Hiroki Utsunomiya, *et al.*, J Gastroenterol, 2017) 及び腸管バリア機構の破綻が影響し、これらの改善は、腸管の病態のみならず肝病態の改善にも効果があります (Takaomi

Kessoku, *et al.*, *Gastroenterol Hepatol*, 2020)。CDAA 食誘発 NASH モデルラットにおいても、TLR family の変動、腸管における脂質の吸収系の変動が遺伝子発現解析によって明らかとなり、さらに腸管バリア機構の破綻が遺伝子発現解析及び病理組織学的にも示唆され、CDAA 食誘発 NASH モデルラットにおいても、肝病態の進行への腸肝連関の関与が示されました。

同モデルラットにおける肝臓の病理組織学的解析によって、CD68 陽性マクロファージの増加が観察されました。M1 または M2 マクロファージの分極は解析中ではありますが、血液中のサイトカインを解析したところ、Th1 型のサイトカイン産生が亢進していることが明らかとなり、前述の通り、腸管バリア機構の破綻も示唆されることから LPS の流入も疑われ、M1 マクロファージの活性化が誘導されている可能性が示されました。2017 年に NASH の重要な因子であると報告された CD44 は、ヒアルロン酸のレセプターであり、Cancer stem cell マーカーとしても有名ですが、その欠損によって M2 分極を亢進させることが示され、CD44 の発現と M1/ M2 マクロファージ分極は、NASH の進行に関与していることが明らかとなりました (Stephanie Patouraux, *et al.*, *Hepatology*, 2017)。今後は、本モデルによるマクロファージの分極と CD44 についても詳細な解析を行っていきたいと考えております。

NASH 病態は、肝臓の病変が主となる疾患であることから、肝臓を中心に解析を行って参りましたが、免疫学・毒性学的観点から解析を行うにあたり、全身の総合的な解析の必要性を強く感じました。本研究に取り組むにあたり日頃よりご指導いただいている中江大教授、美谷島克宏教授、並びに煙山紀子助教、そして本学会において貴重なご意見並びにご指導をいただいた諸先生方に重ねて御礼申し上げますとともに、今後ともご指導、ご鞭撻を賜りますよう、宜しく願い申し上げます。



宇野絹子先生

第 27 回学術大会でのアンケート結果

学術・編集委員会

去る 2020 年 9 月 26 日から 27 日に新型コロナウイルス感染拡大防止のため急遽 Web 形式にて開催されました学術年会期間中および年会後に参加者へ下記内容のアンケートを行い 50 件の回答を頂きました。有り難うございました。集計結果を纏めましたので御報告申し上げます。選択式質問への回答、および 2.1)-②と 2.2)-①の記述回答についても要約をグラフ化し、今号の ImmunoTox Letter に掲載します。記述式質問への回答は分類し一覧表として別途纏めました。そちらを含む全回答結果は学会 HP の学術年会のページ内の第 27 回学術年会欄に掲載いたしますので、併せて是非ご欄ください。

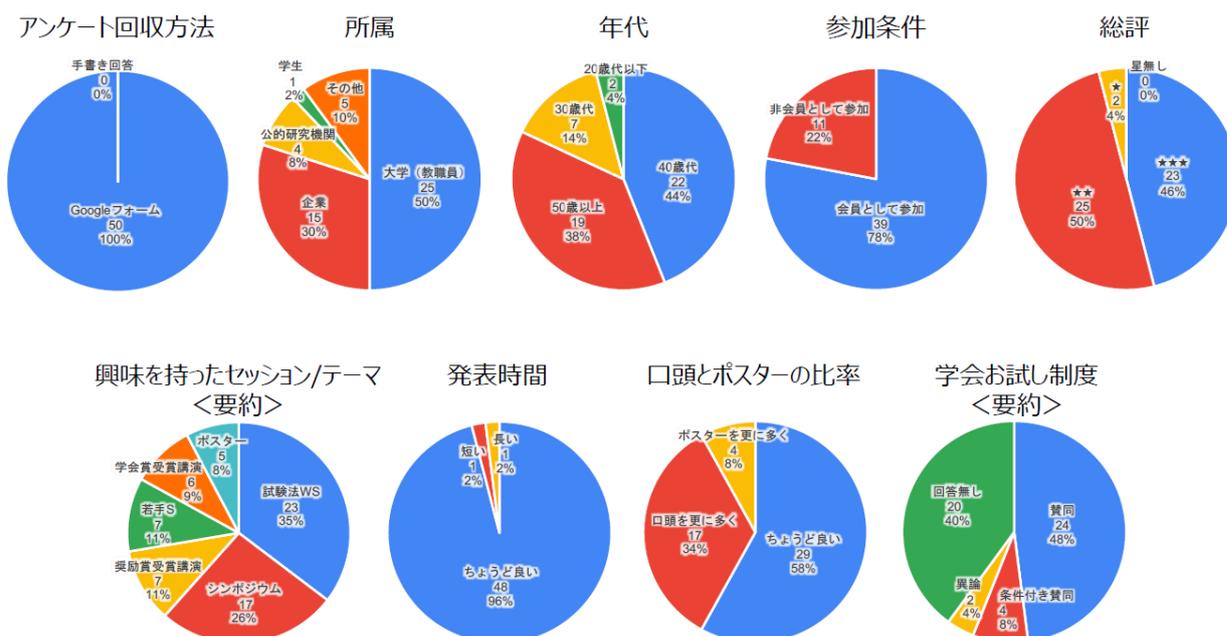
★ アンケートの内容 ★

1. ご所属、年代、参加条件（会員 or 非会員として）について
 - 1) ご所属について：企業、公的研究機関、大学(教職員)、学生、その他
 - 2) ご年代について：20 歳代以下、30 歳代、40 歳代、50 歳以上
 - 3) 参加条件について：会員として参加、非会員として参加
2. 日本免疫毒性学会学術大会について
 - 1) 今回（第 27 回、2020 年）の学術大会について伺います。
 - ① 初の web 開催となりましたが、総評はいかがだったでしょうか。：★★★★, ★★★, ★, 星無し
 - ② 興味をもたれた（おもしろかった、勉強になった等）セッションやテーマをあげてください。
 - ③ 発表時間はいかがでしたか？：長い、短い、ちょうど良い
 - ④ 口頭とポスターの比率（バランス）はどうでしたか？：口頭を更に多く、ポスターを更に多く、ちょうど良い
 - ⑤ その他ご感想等ありましたら御願います。
 - 2) 学会お試し制度、Web 学会のあり方、次回以降の学術大会について、テーマなど
 - ① 現行の「学会お試し制度」（非会員でも 1 回に限り参加費のみで演題発表ができる）について聞かせてください
 - ② 学術年会 Web 開催の今後のあり方について、今後取り上げてほしいテーマ、若手セッションのあり方、その他ご意見等ありましたらご記入下さい。
3. 日本免疫毒性学会の今後の活動や方向性等について、ご意見やご提案等ありましたら、ご記入ください。
4. ImmunoTox Letter (6 月と 12 月の年に 2 回発行している学会誌；日本語版と英語版があり、それぞれの pdf 版を学会 HP に掲載中) について、ご意見、ご提案等ありましたらご記入ください。

Web 開催となり、アンケートは全て Google フォームから回答を受け取りました。全体としては星二つ以上の総評が大多数であり、また自由記載の回答内容からも参加者が概ね満足できた大会であったことが窺えます。興味を持ったセッション/テーマ<要約>のグラフや回答内容からは、参加者の過半数が試験法 WS やシンポへ興味を示した一方で、様々に広く興味を持っていたことが確認できます。発表時間は、ほとんどが「ちょうど良い」と答えていますが、昨年と比べて口頭とポスターの比率については「口頭を更に多く」の意見が多く、一般演題も口頭発表が欲しかったという意見も複数有り、今後の Web 開催への検討課題が浮かびます。学会お試し制度については多くが賛同し継続が望まれますが、異論もあり、制度の効果検証も常に必要でしょう。抄録集はオンラインのみとなりましたが、ePoster を除いた抄録集の配布への希望も多くあり、検討すべき課題でしょう。手作りした初の Web 学会へ賞賛の声が多くありますが、その一方で「二日目に zoom へログイン出来なかった」「直前に勤務先メール宛てに送信されたため、要旨集を入手できなかった」など不具合へのコメントもあり、今後も有り得る Web 開催へ向けての貴重な情報源として共有すべきでしょう。回答数は例年の 2 倍でした。On site での開催時にも、年会中はスライド供覧による QR コードから、年会後はメール送信する URL リンクから、完全ペーパーレスアンケートを実施することが可能であり、今後への好材料でしょう。ウィズコロナ、ポストコロナにおいて免疫毒性研究は一層重要性を増すと考えられ、学術年会・ImmunoTox Letter・学会 HP に加えて Facebook や Twitter アカウントを活用し、本学会の魅力と成果を一層発信できればと思います。

(Y・N 記)

第27回日本免疫毒性学会学術年会アンケート結果（選択式質問回答および2.1)-②, 2.2)-①の回答要約）



編集後記

北国は雪の便り。雪と言えば桜田門外の変。その時、井伊直弼は45歳。つまり安政の大獄での辣腕は40代前半の話。ペリーの黒船来航の際、37歳にして筆頭老中だった阿部正弘は、どう対応すべきか広く意見を公募し、素晴らしい意見書を提出して急遽幕府に採用されたのが当時29歳の勝海舟。時代を変えるのは、若者とバカ者とよそ者だそうです。第21回年会で、奨励賞をとったばかりの4人にシンポジウムの企画から内容からすべて任せ、あの年会長、何考えとるんやと颯爽でしたが（確かに丸投げ）、今や4人とも理事として学会を担う中心に。学生・若手優秀発表賞も今年は8人が応募。世代交代は着実に進み、若者とバカ者（懇親会で踊るし）とよそ者（歓迎）がどんどん活躍し、JSITの未来は明るいのではないかと。

(S・H 記)

編集・発行：日本免疫毒性学会

編集発行責任者：中村 和希

編集委員会：黒田 悦史、小島 弘幸、
坂入 鉄也、新藤 智子、
角田 正史、手島 玲子、
中村 亮介、西村 泰光、
姫野誠一郎

原稿送付先：tennenunagi108@gmail.com