

所属	薬学部医療薬学科化学療法学研究室	氏名	中山 隆志
----	------------------	----	-------

課題名	ケモカイン系を標的とした免疫機能を増強する医療基盤技術の構築		
研究分担者	氏名	所属	職位
	松尾 一彦	薬学部医療薬学科化学療法学研究室	講師

研究概要

ヒトの身体には、細菌やウイルスといった外部から侵入してきた異物や、体内の異常細胞であるがん細胞などを排除しようとする免疫機能が備わっている。運動機能や認知機能等と同様に、この免疫機能も高齢になると低下していくため、高齢者では感染症やがんのリスクが増加する。

ケモカインは、生体内における種々の細胞の遊走を制御するサイトカインの一群であり、主にリンパ球などの免疫担当細胞の移動に関わっていることから、免疫応答の誘導に重要な役割を果たしている。本研究では、ケモカインによる免疫細胞の遊走を制御することで、高齢により低下した免疫機能を回復させ、炎症やがんなどの種々の疾患に対する抵抗力を促進することを目的としている。

研究成果

1. XCL1 を用いた DNA ワクチンの抗腫瘍効果

細胞障害性 T 細胞 (CTL) は、がん細胞の実質的な排除を担う免疫担当細胞である。これまでに我々は、CD103 陽性樹状細胞が効率的に CTL を誘導可能なこと、この細胞にケモカイン受容体 XCR1 が発現していること、さらに XCR1 のリガンドである XCL1 が CTL 誘導ワクチンアジュバントとして有用である可能性を示した (Matsuo et al., *Front. Immunol.*, 2018)。DNA ワクチンは、病原体タンパク質をコードしている遺伝子をプラスミドに導入し、それを投与することで、体内で病原体に対するタンパク質を産生し、免疫を付与するものである。従来のワクチンは、病原体を用いるため、製造に長期間かかり、かつ危険であるという問題点があるが、DNA ワクチンは、安全かつ短期間の製造が可能である。今回、モデル抗原 OVA に XCL1 を結合した遺伝子をコードするプラスミドを作製し、本プラスミドによる抗腫瘍効果をマウスを用いて検討した。本プラスミドを筋注することで、筋肉および所属リンパ節において CD103 陽性樹状細胞の集積が確認できた。さらに、本プラスミドを 2 回投与した後、OVA を強制発現させたマウスリンパ腫 E. G7-OVA 細胞を皮内接種したところ、腫瘍の増殖が対照群と比較し、有意に低下していた。以上より、抗原とともに XCL1 をコードしたプラスミドは、DNA ワクチンとして有用である可能性が示された。

2. 生薬ヨウバイヒのアトピー性皮膚炎に対する治療効果

アトピー性皮膚炎は、難治性の炎症性皮膚疾患であり、現在ステロイドや抗ヒスタミン薬が臨床適用されているが、副作用等が問題となっている。生薬は、古来より種々の疾患に用いられている。しかしながら、薬理学的プロファイルが不明なものも多いため、様々な疾患に適応できる可能性を秘めていることから、現代においても創薬シーズの宝庫であると考えられている。ヨウバイヒは、これまでに *in vitro* において肥満細胞からの炎症性メディエーターの放出を抑制することが知られているが、実際の病態の治療効果の有無に関しては不明である。今回、アトピー性皮膚炎モデルマウスを作製し、ヨウバイヒの治療効果について検討した。耳介へのヨウバイヒの連日塗布により、耳介皮膚の紅斑や肥厚が抑えられた。この時、耳介皮膚および所属リンパ節において、アトピー性皮膚炎に関連するとされている炎症性サイトカインなどの遺伝子発現量、ならびに好酸球や Th2、Th17 細胞といった免疫細胞の浸潤が低下していた。さらに、ヨウバイヒは、上述した免疫細胞に発現しているケモカイン受容体である CCR3、CCR4、CCR5 に対する阻害活性を有していることを見出した。以上より、ヨウバイヒは、ケモカイン受容体の阻害を介し、アトピー性皮膚炎を抑制する可能性を明らかにした。

3. 関節リウマチにおけるケモカイン受容体 CCR4 の関与

関節リウマチは、自己免疫疾患であり、発症原因の詳細は未だ不明である。近年、本邦では高齢者での関節リウマチの有病率が増加していると報告されており、今後急速に高齢化が進んでいく本邦において、関節リウマチの詳細な病態解明は有意義であると考えられる。関節リウマチには、Th2、Th17、Treg といった種々の T 細胞が関わりと考えられており、また、これらの細胞には CCR4 が共通して発現している。今回、関節リウマチの発症および進行

における CCR4 の関与についてマウスモデルを用いて検討した。CCR4 遺伝子の欠損および CCR4 阻害薬の投与により、関節リウマチの症状の軽減が認められた。さらに、病変部において、Th17 の浸潤、炎症性サイトカインである IL-6 および IL-17 の発現が増加していたが、これらは CCR4 阻害薬の投与により低下した。一方、Treg や Th2 の関与はほとんどない可能性が示された。以上より、CCR4 が関節リウマチの治療標的となり得る可能性が示された。

研究発表

学術論文

- 1) Takamura S, Kato S, Motozono C, Shimaoka T, Ueha S, Matsuo K, Miyauchi K, Masumoto T, Katsushima A, Nakayama T, Tomura M, Matsushima K, Kubo M, Miyazawa M. Interstitial-resident memory CD8⁺ T cells sustain frontline epithelial memory in the lung. *J. Exp. Med.*, **216**, 2736-2747, 2019.
- 2) Fox JC, Thomas MA, Dishman AF, Larsen O, Nakayama T, Yoshie O, Rosenkilde MM, Volkman BF. Structure-function guided modeling of chemokine-GPCR specificity for the chemokine XCL1 and its receptor XCR1. *Sci. Signal.*, **12**, eaat4128, 2019.
- 3) Higuchi T, Matsuo K, Hashida Y, Kitahata K, Ujihara T, Taniguchi A, Yoshie O, Nakayama T, Daibata M. Epstein-Barr virus-positive pyothorax-associated lymphoma expresses CCL17 and CCL22 chemokines that attract CCR4-expressing regulatory T cells. *Cancer Lett.*, **453**, 184-192, 2019.

学会発表

第 18 回あわじ感染と免疫国際フォーラム 2019 年 9 月 10-13 日

- 1) Kazuhiko Matsuo, Shinya Yamamoto, Daisuke Nagakubo, Osamu Yoshie, Takashi Nakayama. Roles of chemokine CCL28 in mucosal immune defense.
- 2) Momo Kamei, Kazuhiko Matsuo, Kosuke Kitahata, Osamu Yoshie, Takashi Nakayama 「A highly active form of XCL1 is a useful vaccine adjuvant strongly inducing long-lived memory cytotoxic T lymphocytes」
- 3) Shintaro Higashiyama, Kazuhiko Matsuo, Shinya Yamamoto, Osamu Yoshie, Takashi Nakayama 「CCR4 is involved in suppression of antigen-specific immune responses through Tregs recruitment to the muscle tissues」

第 84 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 2019 年 8 月 2-3 日

- 4) 亀井萌百、松尾一彦、北畑孝祐、義江修、中山隆志 「構造安定化 lymphotactin/XCL1 によるがん免疫誘導機構」
北畑孝祐、松尾一彦、有馬優香、岩間有咲、長久保大輔、義江修、中山隆志 「乾癬の発症および重症化における Th17 細胞遊走を介したケモカイン受容体 CCR4 の役割」
- 5) 東山慎太郎、松尾一彦、畑綾香、義江修、中山隆志 「筋修復に対するケモカイン受容体 CCR4 欠損の影響」
長尾遥佳、松尾一彦、長久保大輔、義江修、中山隆志 「ケモカイン受容体 CCR4 はアトピー性皮膚炎に重要な役割を果たす」
- 6) 細川隼矢、松尾一彦、義江修、中山隆志 「ケモカイン受容体 CCR4 の Th17 増殖を介した腫瘍免疫活性化における役割」
- 7) 須佐美陽子、松尾一彦、長尾遥佳、中山隆志 「ケモカイン受容体 CCR4 を標的とした Th2 細胞遊走阻害によるアトピー性皮膚炎治療」
- 8) 森末悠亮、松尾一彦、亀井萌百、山本真也、東山慎太郎、義江修、中山隆志 「ケモカイン受容体 CCR4 を介した Treg による抗原特異的免疫応答抑制メカニズム」
- 9) 山本真也、松尾一彦、山崎真子、長久保大輔、義江修、中山隆志 「腫瘍組織におけるケモカイン CCL28 の発現とその役割」

第 48 回日本免疫学会学術集会 2019 年 12 月 11-13 日

- 10) Haruka Nagao, Kazuhiko Matsuo, Takashi Nakayama 「Cutaneous administration of a CCR4 antagonist ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions induced by dibutyl phthalate and a hydrogel patch containing ovalbumin」
- 11) Kosuke Kitahata, Kazuhiko Matsuo, Yuka Arima, Arisa Iwama, Daisuke Nagakubo, Osamu Yoshie, Takashi Nakayama 「CCR4 is involved in psoriasis pathogenesis by inducing Th17 cell proliferation and skin skin-migration」
- 12) Kazuhiko Matsuo, Momo Kamei, Kosuke Kitahata, Osamu Yoshie, Takashi Nakayama 「Induction of long-term memory CD8⁺ T cell responses by a stabilized form of XCL1/lymphotactin」