

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
	原 雄大	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、ケモカインを利用した免疫細胞の遊走制御を介し、炎症やがんなどの種々の疾患に対する予防法および治療法を開発することを目的としている。

研究成果

▶ 慢性肝炎におけるケモカイン CCL28 の役割

慢性肝炎患者は世界各国で増加している。肝炎ウイルスの感染やアルコールの過剰摂取、肥満等の様々な原因により、肝臓に炎症が生じ、その状態が慢性化することで、肝硬変や肝臓がんへと進行していく。肝硬変の治療薬は未だ無く、肝臓がんについても治療薬はあるものの完治は非常に困難である。したがって、炎症の段階で完治もしくは進行を食い止めることが重要である。ケモカイン CCL28 は、粘膜組織で恒常的に発現しており、その受容体である CCR10 を介して IgA 産生形質細胞を遊走する。IgA は、粘膜組織における主要な防御因子であるため、CCL28 は粘膜免疫において重要な役割を果たすと考えられている。しかしながら、非粘膜組織における役割は不明である。これまでに、慢性肝炎患者の肝臓において、CCL28 の発現増加が認められているものの、病態への寄与については不明である。今回、CCL28 欠損マウスを用いて、慢性肝炎における CCL28 の役割について検討した。四塩化炭素(CCl₄)の慢性投与により、肝炎を誘導したところ、肝臓での CCL28 発現が増加した。続いて、病態に対する CCL28 の影響を検討したところ、CCL28 欠損マウスでは、野生型マウスと比較し、血清 ALT 値の上昇および線維化した肝臓の面積の増加が認められた。また、CCl₄を投与したマウスの肝臓には、IgA 産生形質細胞が浸潤していたが、CCL28 欠損マウスでは、その浸潤が減少していた。肝臓へと浸潤した IgA 産生形質細胞の特徴を解析したところ、抑制性サイトカインの IL-10、免疫チェックポイント分子の PD-L1、アポトーシス誘導に関与する FasL を発現していた。一方、IgA を産生しない形質細胞は、野生型および CCL28 欠損マウス間で浸潤数に変化はなく、IL-10 や PD-L1、FasL を発現していなかった。以上より、慢性肝炎において、CCL28 は、免疫抑制性の分子を発現する IgA 産生形質細胞を病変部へと遊走することで、病態を緩和している可能性が考えられた。

▶ グリオーマにおけるケモカイン受容体 CCR4 の寄与

グリオーマは、脳のグリア細胞が腫瘍化したもので、外科的処置での除去が困難であること、治療薬が極端に少ないことから、極めて難治性である。そのため、グリオーマの病態の詳細な解析が求められている。オプジーボの成功により、がん免疫が盛んに研究されるようになり、これまでに多くのがん種において各種免疫細胞の役割が明らかとなりつつある。がん免疫の中でも、T 細胞、特に制御性 T 細胞(Treg)や Th17 細胞は精力的に研究されている免疫細胞の 1 つであり、末梢組織に発生した腫瘍に対するこれら T 細胞の役割は明らかになってきた。一方、グリオーマにおいても、病変部へのこれら T 細胞の浸潤は確認されているが、その浸潤機序およびグリオーマに対する作用については不明である。また、ケモカイン受容体 CCR4 は、Treg および Th17 細胞の主要な遊走制御因子である。今回、CCR4 欠損マウスを用い、グリオーマにおける CCR4 の関与について検討した。マウスグリオーマ細胞株 CT-2A を脳内に投与することで、モデルマウスを作製した。正常マウスと比較し、モデルマウスでは CCR4 リガンドの CCL17 の発現が認められた。病態への CCR4 の寄与について検討したところ、CCR4 欠損マウスでは、野生型マウスと

比ベ、腫瘍増殖の亢進、死亡日数の短縮が認められた。脳内への免疫細胞の浸潤を解析したところ、CCR4 欠損マウスにおいて、Th17 細胞が有意に減少していた。この時、Treg を始め、他の T 細胞サブセットに変化はなかった。これまでに、グリオーマでは M1 マクロファージが腫瘍の排除を担うこと、Th17 細胞から産生されるサイトカインが、M1 マクロファージへの分極を促進する可能性が報告されている。そこで、脳内のマクロファージの割合を解析したところ、CCR4 欠損マウスでは M1 マクロファージが有意に減少していた。以上より、グリオーマにおいて、CCR4 は Th17 細胞の脳内への浸潤を介し、マクロファージの分極に働きかけることで腫瘍の増殖を抑制している可能性が考えられた。

研究発表

論文

1. Matsuo K, Kitahata K, Kaibori Y, Arima Y, Iwama A, Ito M, Hara Y, Nagakubo D, Quan YS, Kamiyama F, Oiso N, Kawada A, Yoshie O, Nakayama T. **CCR4 involvement in expansion of Th17 cells in a mouse model of psoriasis.** *J. Invest. Dermatol.*, 141, 1985-1994, 2021
2. Sakai R, Ito M, Komai K, Iizuka-Koga M, Matsuo K, Nakayama T, Yoshie O, Amano K, Nishimasu H, Nureki O, Kubo M, Yoshimura A. Kidney GATA3+ regulatory T cells play roles in the convalescence stage after antibody-mediated renal injury. *Cell. Mol. Immunol.*, 18, 1249-1261, 2021
3. Matsuo K, Yoshie O, Nakayama T. **Multifaceted Roles of Chemokines and Chemokine Receptors in Tumor Immunity.** *Cancers*, 13, 6132, 2021
4. Matsuo K, Yoshie O, Kitahata K, Kamei M, Hara Y, Nakayama T. **Recent Progress in Dendritic Cell-Based Cancer Immunotherapy.** *Cancers*, 13, 2495, 2021

学会発表

日本薬学会第 142 年会 (名古屋)、2022 年 3 月 25-28 日

1. 吉田 裕亮、亀井 萌百、松尾 一彦、大月 真由子、原 雄大、権 英淑、神山 文男、中山 隆志: 高活性型 XCL1 の腫瘍局所投与による XCR1 陽性樹状細胞の集積向上は、腫瘍微小環境を改善して抗腫瘍効果を示す
2. 長谷 尚俊、亀井 萌百、松尾 一彦、森末 悠亮、古川 玲緒奈、原 雄大、中山 隆志: 高活性型 XCL1 のワクチンアジュバントとしての免疫誘導特性
3. 藤井 太希、松尾 一彦、北畑 孝祐、須佐美 陽子、西川 莉央、原 雄大、権 英淑、神山 文男、中山 隆志: アトピー性皮膚炎モデルマウスにおけるアスコルビン酸誘導体 DDH-1 の Th2 型免疫応答抑制効果

第 50 回日本免疫学会学術集会 (奈良)、2021 年 12 月 8-10 日

4. Shinya Yamamoto, Kazuhiko Matsuo, Osamu Yoshie, Takashi Nakayama: P2X receptor agonist promotes antigen-specific CD8+ T cell responses through CD70+ DC-mediated Th17 induction
5. Kosuke Kitahata, Kazuhiko Matsuo, Daisuke Nagakubo, Osamu Yoshie, Takashi Nakayama: CCR4 mediates expansion of Th17 cells in lymph nodes of mouse psoriasis
6. Kazuhiko Matsuo, Osamu Yoshie, Takashi Nakayama: CCR4 involvement in the expansion of regulatory T cells in a mouse model of food allergy

第 71 回日本薬学会関西支部総会・大会 (東大阪)、2020 年 10 月 9 日

7. 板井 悠里、山本 真也、松尾 一彦、中山 隆志: P2 受容体を標的とした新規 CTL 誘導ワクチンアジュバントの開発 - $\alpha\beta$ -ATP は CD70 陽性樹状細胞による Th17 誘導を介して CTL を誘導する-
8. 海堀 祐一郎、松尾 一彦、中山 隆志、長久保 大輔: 大腸杯細胞への分化におけるケモカインの関与
9. 細川 隼矢、原 雄大、松尾 一彦、義江 修、中山 隆志: CCL28 は IgA 産生形質細胞の遊走を介して慢性肝炎病態を抑制する
10. 須佐美 陽子、佐藤 雅子、松尾 一彦、藤井 陽菜、中山 隆志: ビタミン D 活性体 MC903 を用いたアトピー性皮膚炎モデルにおける CCR4 の寄与
11. 蔭山 雄太、北畑 孝祐、松尾 一彦、義江 修、中山 隆志: 乾癬における CCR4 を介した Th17 細胞遊走の制御機構の解明
12. 森末 悠亮、亀井 萌百、松尾 一彦、長谷 尚俊、古川 玲緒奈、中山 隆志: 高活性型 XCL1 によるメモリー CD8+T 細胞誘導機構の解析
13. 山本 真也、松尾 一彦、義江 修、中山 隆志: ケモカイン CCL28 の皮膚がんにおける役割 -CCL28-CCR3 系を介した好酸球遊走による腫瘍免疫活性化機構の解明-
14. 吉田 裕亮、亀井 萌百、松尾 一彦、大月 真由子、権 英淑、神山 文男、中山 隆志: 高活性型 XCL1 を用いた XCR1+ DC のがん組織への集積向上はがん微小環境を改善してがん増殖を抑制する
15. 阪口 真美、松尾 一彦、山本 真也、山根 大輝、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 の炎症筋肉への浸潤および筋修復への影響
16. 藤井 陽菜、佐藤 雅子、須佐美 陽子、松尾 一彦、中山 隆志: ビタミン D 活性体 MC903 を用いたアトピー性皮膚炎モデルにおけるケモカイン受容体 CCR4 阻害剤の治療効果