

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：84420

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22774

研究課題名（和文）インフルエンザ抗原特異的記憶B細胞を標的とする新規ワクチンアジュバントの開発

研究課題名（英文）Development of a novel vaccine adjuvant targeting influenza antigen-specific memory B cells

研究代表者

野木森 拓人（Nogimori, Takuto）

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 免疫老化プロジェクト・プロジェクト研究員

研究者番号：20870653

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、現行インフルエンザワクチンに併用可能で、インフルエンザ抗原特異的記憶B細胞を標的とする新規アジュバントの開発を目指し、将来的には高齢者においても有効となる新しいインフルエンザワクチンの開発を目標とした。まずは10000化合物からなる低分子化合物ライブラリーから、33化合物を選択し、B細胞株を活性化させるものを17種同定した。さらにヒト末梢血単核細胞を用いて2次スクリーニングを行った結果、3種類の化合物がB細胞を特異的に活性化させることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの予防ワクチン開発の主たる目的としては、初期免疫を誘導して、さらには記憶免疫を形成させることである。しかし、インフルエンザに関しては、毎年の定期ワクチン接種や感染歴等で、小児期以降は記憶免疫が誘導されているのが実際である。本研究はこの点に着目し、記憶免疫反応の活性化による高齢者用インフルエンザワクチンの開発に挑戦するものである。今回同定したB細胞を活性化させる化合物をアジュバントとしてインフルエンザワクチンと併用することで、高齢者にも有効なインフルエンザワクチンの開発に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to develop novel adjuvants that can be used in combination with current influenza vaccines and that target influenza antigen-specific memory B cells, with the goal of developing new influenza vaccines that will be effective in the elderly in the future. First, from a small molecule compound library consisting of 10,000 compounds, we identified 17 compounds that activate B cell lines. A secondary screening using human peripheral blood mononuclear cells revealed that three compounds specifically activated B cells.

研究分野：免疫学

キーワード：インフルエンザ ワクチン 記憶B細胞 アジュバント

1. 研究開始当初の背景

一般的に高齢者は健康成人と比較して、病原体の暴露後の易感染性や、ワクチン効果が低いといった特徴をもつ。これは加齢に伴って個体レベルでの免疫システムの変化に起因しており、この変化のことを総称して「免疫老化」と表現されている。免疫老化現象の結果、例えばインフルエンザ感染症に対する死亡率が上昇する。超高齢社会が到来している我が国においては、インフルエンザ感染の予防及び治療は重要な課題である。

感染症を予防する手段としてワクチンが挙げられ、そのワクチン効果を増大させることを目的にアジュバントを添加し、免疫原性を高める方法が検討されている。アジュバントは一般的に自然免疫に作用し、主に初回免疫時にその効果を発揮するものであると考えられる。一方で、インフルエンザワクチンに関しては、小児期以降の定期予防接種や自然感染により、高齢者ではすでにインフルエンザに対する記憶免疫反応が誘導されている可能性が高く、ワクチン接種が初期免疫とはならないことも考慮する必要がある。

以上の背景から、本研究では「記憶免疫反応を有効に活用することで、高齢者に対するインフルエンザワクチンの有効性が改善するのではないか」との仮説をたて、特に記憶 B 細胞を標的とする新規アジュバントの開発を目指すこととした。

2. 研究の目的

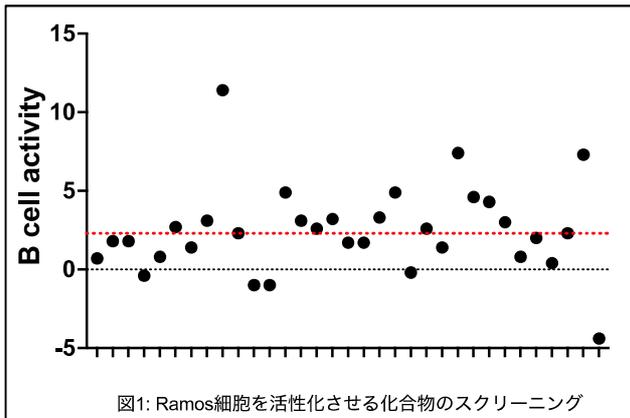
本研究は、特に記憶 B 細胞を特異的に活性化させる新規アジュバントの開発を目的とする。具体的にはまずヒト B 細胞株を用いた低分子化合物ライブラリの一次スクリーニングを行い、B 細胞を活性化させるアジュバント候補を選定する。次にヒト由来末梢血単核球(PBMC)を用いて、アジュバント候補の二次スクリーニングを行うことで、少なくとも *in vitro* において記憶 B 細胞を特異的に活性化させる化合物を得る。

3. 研究の方法

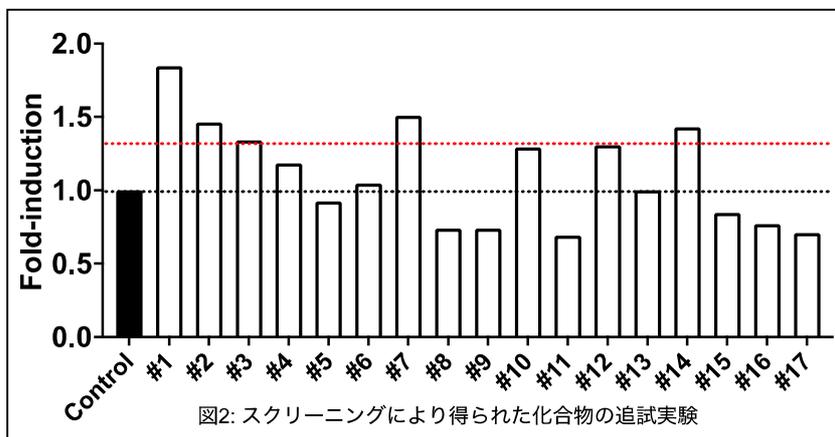
まず 10000 化合物からなる低分子化合物ライブラリから、B 細胞を活性化させるアジュバント候補の一次スクリーニングを行った。B 細胞の活性化を簡便に測定するため、NF- κ B 制御下で secreted embryonic alkaline phosphatase レポーターを発現する Ramos 細胞(ヒト B 細胞株)を用いた。次に、ヒト末梢血単核細胞を用いて、アジュバント候補化合物の活性化能をフローサイトメーターにより検証した。

4. 研究成果

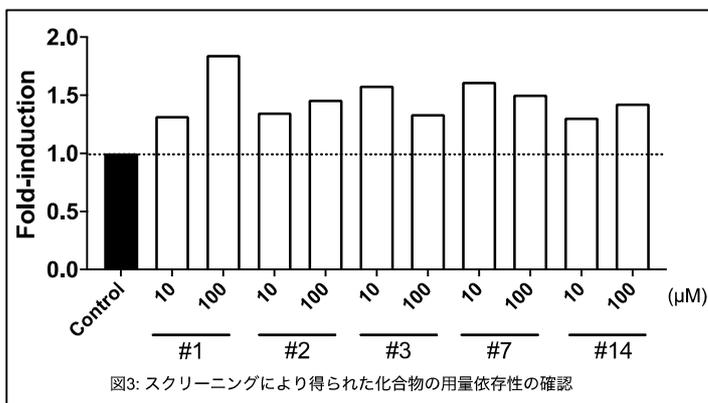
まず初めに NF- κ B プロモータの下流に Secreted Alkaline Phosphatase(SEAP) レポーターを搭載したヒト B 細胞株 Ramos-blue 細胞を用いて、低分子化合物ライブラリから 33 化合物を選択しスクリーニングを行なった。Ramos-blue 細胞に化合物をそれぞれ 100 μ M の濃度となるように添加し、24 時間後に培養液中の SEAP 量を吸光度を測定することで計算した。その結果、B 細胞を活性化させる化合物を 17 種同定した(図 1)。



この 17 種の化合物に関して、再度再現実験を行った結果、Ramos 細胞を活性化させる化合物を 5 種類同定した(図 2)。



さらにこれら化合物について、Ramos-blue 細胞に対して濃度を振って添加したところ、用量依存的な活性化が見られた(図 3)。



以上の結果から、培養細胞レベルでヒト B 細胞を活性化させる化合物を 4 種同定した。次にヒト末梢血単核球を用いて、化合物の B 細胞特異性検証した。各種免疫担当細胞の活性を同時に測定するために、フローサイトメーターにより各細胞を分画し、Ca フラックスアッセイを行った。その結果、B, C, D の 3 種類の化合物がヒト末梢血中の B 細胞を活性化させることを見出した(図 4)。

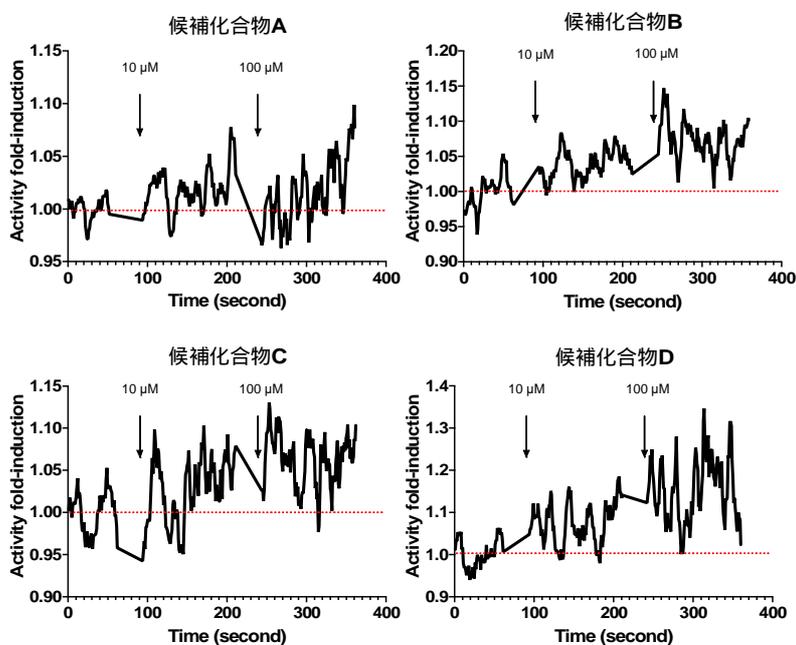


図4: ヒト PBMCに候補化合物を添加した際のカルシウムフラックスアッセイ

以上の結果から、本研究で見出した候補化合物は、培養細胞のみならずヒト B 細胞を活性化することが明らかとなった。

本研究により、ヒト B 細胞を特異的に活性化させる化合物の同定に成功した。今後はインフルエンザワクチンを接種した各年齢層のマウスおよびサルに対して、Boost の際に本研究により見出した化合物をアジュバントとして添加することで、抗体産生が増強されるか検証する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nogimori T, Moriishi E, Ikeda M, Takahama S, Yamamoto T	4. 巻 99(9)
2. 論文標題 A 22-color panel for the measurement of antigen-specific T-cell responses in human and nonhuman primates.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cytometry A	6. 最初と最後の頁 884-887
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cyto.a.24460	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野木森拓人
2. 発表標題 次世代フローサイトメーターを用いた免疫老化解析
3. 学会等名 第5回理論免疫学ワークショップ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村上弘大、秋田裕史、東口公哉、野木森拓人、高濱正吉、小林省吾、土岐祐一郎、江口英利、山本拓也
2. 発表標題 次世代型フローサイトメーターを用いた膀胱癌微小環境の解析
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 東口公哉、秋田裕史、村上弘大、野木森拓人、高濱正吉、小林省吾、土岐祐一郎、江口英利、山本拓也
2. 発表標題 消化器癌における癌抗原特異性 CD8T 細胞反応の量的・質的評価
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------