

# ImmunoTox Letter

日本免疫毒性学会 : The Japanese Society of Immunotoxicology Vol. 30 No. 1 (通巻 59 号) 2025. 6 月

— 目次 —

第 32 回日本免疫毒性学会学術年会(予告 2) …1  
 岐阜薬科大学 中西 剛

第 14 回(2024 年度)日本免疫毒性学会学会賞 …3  
 旭川医科大学 吉田 貴彦

第 14 回(2024 年度)日本免疫毒性学会奨励賞 …7  
 和歌山県立医科大学 佐々木 泉

第 31 回学術年会 年会賞 ……………10  
 兵庫医科大学 安田 好文

免疫毒性研究の若い力 ……………14  
 岐阜薬科大学 石田 慶士

SOT2025 参加記 ……………17  
 産業医科大学 辻 真弓

ImmunoTox Protocol ……………20

Short talks on the shoulders of giants ……………22  
 中外製薬 橋本 永一

ImmunoTox Letter Digest ……………26

第 32 回日本免疫毒性学会学術年会  
(JSIT2025) (予告 2)

日本免疫毒性学会の第 32 回学術年會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。多数の皆様のご参加をお待ちしております。詳しくは学術年会ホームページをご覧ください。

(<https://www.japanimmunotox.org/jsit2025/>)

期 日: 2025 年 9 月 4 日 (木) ~ 5 日 (金)

会 場: 岐阜市文化センター

住 所: 〒500-8842 岐阜県岐阜市金町 5 丁目 7-2  
(下記リンクは岐阜市文化センターホームページ  
<https://gifu-culture.info/accesss/>)

アクセス: JR 東海道本線・JR 岐阜駅下車 (JR 名古屋から新快速 18 分)、もしくは名古屋鉄道・名鉄岐阜駅下車 (名鉄名古屋駅から特急 24 分)、それぞれの駅から徒歩 10 分 (約 700m)

テーマ: 免疫毒性研究のイノベーション創出への貢献を目指して

内 容:

● 特別講演

- 腸内環境を基盤とした免疫毒性制御の新展開  
國澤 純 先生  
(医薬基盤・健康・栄養研究所)
- TBA  
Dr. Marie-Soleil Piche  
(Charles River)

● 教育講演

- 質量分析イメージングの基礎とその応用研究  
新聞 秀一 先生 (大阪大学)

● シンポジウム

- 「免疫毒性を介した脳機能の破綻」
- オリゴデンドロサイト毒性学  
—ミクログリアの先にあるもの—  
石原 康宏 先生 (広島大学)
  - ゼブラフィッシュの全脳イメージングを用いたミクログリアの評価  
西村 有平 先生 (三重大学)
  - TBA  
黄 基旭 先生 (東北医科薬科大学)
  - 免疫系の活性化に伴う脳機能変容メカニズム  
宮島 倫生 先生 (東京大学)

● 学会賞受賞講演

- 重金属・化学物質・栄養素が誘発するアレルギー・炎症性免疫異常の免疫毒性メカニズムと統合的健康リスク評価  
柳澤 裕之 先生 (東京慈恵会医科大学)

● 学会奨励賞受賞講演

- HLA を介した薬物の免疫毒性を制御する環境因子の探索  
薄田 健史 先生 (富山大学)

● 試験法ワークショップ

「呼吸器感作性試験の開発動向と国内における取り組み」

1. 農薬等の一般化学物質により引き起こされる呼吸器感作性の特徴とその検出法の検討  
福山 朋季 先生 (麻布大学)
2. OECDにおけるレビュー論文の作成と JaCVAM 呼吸器感作性試験編集委員会の活動  
小池 英子 先生 (国立環境研究所)
3. 化学物質の *in vitro* 呼吸器感作性評価における再構成ヒト気管支上皮の活用  
石川 晋吉 先生 (日本たばこ産業)
4. 呼吸器感作性化学物質の正確な予測評価を可能にする3次共培養系の開発  
溝口 出 先生 (東京医科大学)
5. 総合討論

● 一般演題

発表形式: 口頭、ポスター両方の発表を受け付け、学生・若手発表の部門も従来通り設ける予定です。

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。

演題募集期間:

2025年6月3日(火)~7月4日(金)

年会長: 中西 剛 (岐阜薬科大学)

事務局: 第32回日本免疫毒性学会学術年会事務局

〒501-1196 岐阜市大学西1丁目25番地4

岐阜薬科大学 衛生学研究室内

電話: 058-230-8100 (内線 3645)

FAX: 058-230-8117

E-mail: [JSIT2025@gifu-pu.ac.jp](mailto:JSIT2025@gifu-pu.ac.jp)

ホームページ:

<https://www.japanimmunotox.org/jsit2025/>

参加登録問い合わせ先:

株式会社 センキョウ内

〒983-0035 仙台市宮城野区日の出町2-4-2

電話 022-236-7161、FAX 022-236-7163

E-mail: [32jsit@senkyo.co.jp](mailto:32jsit@senkyo.co.jp)

演題申込締め切り日: 2025年7月4日(金)

早期参加登録締め切り日: 2025年7月17日(木)

後期参加登録締め切り日: 2025年8月25日(月)

参加費:

一般会員 早期参加登録 9,000円

後期参加登録 10,000円

当日 11,000円

大学院生会員 早期参加登録 4,000円

後期参加登録 5,000円

当日 5,000円

学部学生 無料

非会員 早期参加登録 11,000円

後期参加登録 12,000円

当日 13,000円

その他、新会員、協賛・後援学会会員割引がありますので詳しくは学術年会ホームページをご覧ください。

懇親会: ホテルグランヴェール岐山

2025年9月4日(木) 18:30~20:30(予定)

<https://grandvert.com/>

一般(会員・非会員) 早期参加登録 10,000円

後期参加登録 11,000円

当日 12,000円

学生(会員・非会員) 早期参加登録 5,000円

後期参加登録 6,000円

当日 6,000円

## 第 14 回（2024 年度）日本免疫毒性学会 学会賞

環境有害因子による免疫毒性 ～ 環境との相互作用の中で生命を衛る医学の源流：免疫毒性学—細分化された研究から統合的視点をもった研究へ— ～

吉田貴彦（旭川医科大学名誉教授）

歴史を重ねつつある日本免疫毒性学会の学会賞を頂けたこと大変有難く存じます。選考の労をお取りくださった皆様に感謝申し上げます。私のアカデミアでの研究歴の後半は免疫毒性学と趣の異なる領域での活動が多かったにもかかわらず受賞できたのは、本学会の発足当時より携わる事ができた事によると思います。この間、ご指導ご交流いただきました諸先生に改めて御礼申し上げます。本稿では、私の研究基盤としてきた「環境との相互作用の中で生命を衛る、いわば医学の源流」とも言える衛生学の立場から免疫毒性学について概観し、昨今の細分化された研究から統合的視点をもった研究への回帰の潮流について述べてさせていただきます。

### 《医学の歴史のなかでの免疫毒性学の位置付け》

古代エジプト時代のパピルスに、病気治療のための自然科学的な薬調合や治療法と宗教的・魔術的な呪文が混在して記されている。古代ギリシア文明時代にはギリシア神話の医神 Asklepios 公衆衛生・社会福祉を受持つアスクレピオスの娘 Hygieia などが登場し、病気や健康は超自然的な力（迷信、呪術）や神々の仕業で起こる現象と捉えられていた。やがて医学の祖である古代ギリシアの医者 Hippocrates (BC460-370) が、「生命を衛る」には環境や生活習慣が好ましくあるべき事を唱えたことに始まり、医学の学問的体系の形成期から、感染症の病原体や化学物質や物理因子による有害性の発現機序が解らないながら、環境や生活要因と生体との相互作用が健康に影響すると考えられていた事がわかる。こうして考えると、医学の祖であるヒポクラテスが唱えたヒトの健康を衛るための環境の重要性は、現代にまで通用する医学における主要な概念であると言えよう。やがて医学は、ローマ帝国から中世の時代にもヒポクラテス医学を継承しつつ、14～16 世紀のルネッサンス時代を経て近代にかけて発展した。16 世紀後半の顕微鏡発明により 1976 年に細菌・微生物が発見されたが、この時点ではそれらが感染症を起こすとの発想は無かった。一方、分娩や外傷の処置の際に手や器具類の洗浄・消毒が感染症防止につながるという感染制御の概念が広がった。ここにもヒポクラテス医学の環境重視の医学の普遍性が見られる。病原微生物と感染症を結付ける微生物病因説の登場は、L. Pasteur による低温殺菌法の発明（1862）と、R. Koch がコッホの原則を提唱し炭疽症が細菌感染によって起こる事を証明（1876）するまで待たねばならない。ウイルス微粒子が捉えられるまでも同様であり、原因が把握されないままゼンメルワイス等による感染制御などが発達した。健康障害の防止の観点から生活習慣を含む外

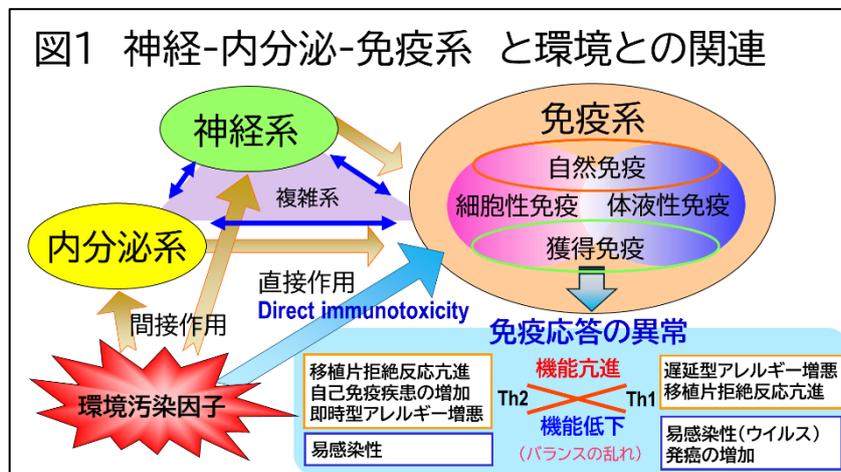
部要因としての環境にアプローチする手法は医学実践の基本的な戦略であると言えよう。

医学の歴史のなかで免疫学とともに免疫毒性学も発展した。10世紀にA. Rhazesが痘瘡や麻疹等の疫病に一度罹患した者は次の感染を免れる事を「天然痘と麻疹の書」に述べて免疫の概念が確立され、やがてE. Jenner等による痘瘡に対する予防接種法が發明されるなど、免疫学は病原体が把握されないままでも実践医学として発展した。やがて、コレラ流行に異なった病因論から取組んだ二人の医学史における偉人、健康を守るための衛生的な環境探求の流れを継承し衛生学の創始者とされるM. J. von Pettenkoferと、コレラ菌の病原性を発見した細菌学の創始者であるR. Kochの研究が融合した事で感染症対策が進み、病原体に対する生体防御に関する免疫学の発展につながった。ここに環境との相互作用の中で生命を衛ることを追求する学問である衛生学と感染症や腫瘍などから生体防御の中核として生命を衛る役割を担う免疫系を極める学問である免疫学の接点が浮かび上がる。その繋ぎを果たしたのが環境要因であることから、免疫系への生体外からの影響を研究する免疫毒性学の重要性が認識できる。こうしたことが、私に「環境との相互作用の中で生命を衛る医学の源流：免疫毒性学」との発想に至らせ、免疫毒性学に愛着を持たせまたかわりを持たせた事を誇りに思わせる要因になっている。

《免疫毒性学の役割》

1960年代中頃から1970年代に、環境汚染化学物質と感染症増加との関連についての報告が見られ始め、1970年代に発癌との関連についての報告も増え、免疫系が関与する病態である感染症や発癌に化学物質が関与するとの理解が進んだ。これが1970年代中頃から1980年代に、免疫力が低下する個体に感染症や発癌が起こり易いというcompromised hostの概念の確立につながり同時に免疫毒性学の学問体系の確立にもつながった。

免疫毒性の定義は、生体外要因が免疫系に作用した結果として生じた悪影響、免疫系の本来の役割である生体防御応答の変容を指す。さらに、免疫系は神経系と内分泌系と共に生体防御機構の枢軸を形成することから、免疫変容の発現は環境有害因子の直接ないし間接的作用で起こる場合がある。また、免疫応答バランスの異常は機能抑制にも亢進にもなるため

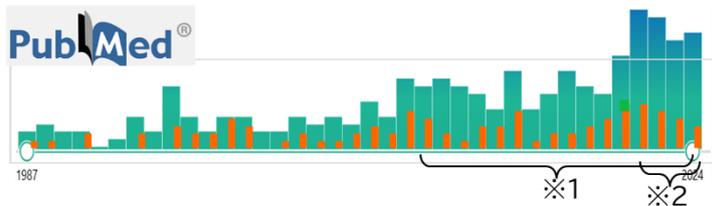


易感染性や発癌、自己免疫疾患やアレルギー疾患の増加や移植片拒絶反応亢進といった両極端な病態が発現する（図 1）。こうした原因物質による病態発現の複雑性故に、見出される疫学的健康影響について被疑環境有害因子を原因と特定することは容易ではない。しかしながら多岐にわたる病態発現が生体防御全般にかかわる事から、免疫毒性がヒト集団に見出される事は大きな問題となる。

1977 年に初期の免疫毒性の総論（J.G. Vos, “Immune suppression as related to toxicology”）が発表され、1980 年 10 月に NIH-NIEHS（米国国立環境衛生研究所）と SOT（米国毒性学会）の共催シンポジウム “Target organ toxicity: immune system” が開催され免疫毒性学の基盤が確立された。環境有害因子の免疫毒性の総論は、先行する原著論文発表に引続き、1978 年の（F.W. Sunderman Jr., “Carcinogenic effects of metals”）をはじめ 1980 年代前半に金属類（Pb、Cd、Hg、As 等）について多く現れ現在に至る。1980 年代中頃から有機塩素系環境汚染化学物質などの総論が現れ近年増加傾向にある。図 2 に 1987 年から 2024 年までの PubMed 検索について環境化学物質に関する免疫毒性のレビュー論文数を示す。環境化学物質に関する免疫毒性のレビュー論文は対象化学物質や着目する免疫毒性の内容が変わりつつ現在まで報告数が増加している。免疫系がかかわる事象についての最近の動向を見ると、SARS-Cov-1 や SARS-Cov-2 による感染症が大気汚染によって重症化すると疫学報告があり、その機序として有害化学物質の代謝に関わる因子である AhR の関与が指摘され、有機リン化合物曝露も酸化ストレスによる抗ウイルス免疫反応の障害を介して重症化すると報告など、環境化学物質が関与する免疫毒性の報告が多くある。

図2 PubMed検索結果からみた免疫毒性学の傾向

検索キーワード: immunotoxicity, environmental chemicals, human, review 1997~2024 213 報



内容が環境生物、環境汚染状況、自然毒(カビ毒など)に特化したものや、毒性一般に触れており免疫毒性について僅かに触れたものを除くと、オレンジ色表示 総数90報

キーワードからhumanを外すと 272報(動物実験が増え)、environmentを外すと 347報(食品、薬剤に関するものが増える)

※1 PFAS(ペルフルオロオクタン酸、PFOS, PFOAなど) など有機フッ素化合物: 2009年以降増加

※2 ナノ粒子、マイクロ・ナノプラスチックによるITXの総論: 2021年から増加

分子生物学的研究手法など最新の研究手法の発達により、微細な構造観察や分子動向やシグナル伝達による生命現象の解析も可能となるなど細分化された研究が多くなっている。他方、病原微生物の感染から発症そして治癒までの過程での、細胞群・液性因子群、シグナ

ル伝達機構で成り立つ免疫応答と環境化学物質への曝露によって惹起される一般毒性としての生体反応との重なりも解明されてきた。あたかも環境化学物質と病原微生物が共役作用をもって、ヒトの健康に挑戦するかのごとくである。今まさに、こうした現象に取り組むのが、免疫毒性学の役割であると言えよう。

実験室での研究は、曝露条件のコントロールが可能な事から単一の化学物質による免疫毒性が評価でき毒性発現の詳細な機序解明も可能である。しかしながら、地球に存在する化学物質は天然由来を含め数千万種類もあり、実社会に生活するヒトは環境中で多くの環境化学物質に同時に曝露されている。さらに、新規に開発される化学物質も相当数にのぼり、今までの概念では解釈できない健康障害も起こりつつある。こうした中で、ミクロのみならずマクロの視点も合わせもつ「ヒトの健康を衛る」との統合的視点をもった免疫毒性学への期待が大きいのではなかろうか。

本学会が若い方々の積極的な参加を得て活発化している様子は嬉しい限りです。免疫毒性学の概念が、古来より続く医学の源流から発しているとの自負をもっていただき、皆様方には、最新の研究手法を身に付けつつ統合的視点に立った研究活動に励んでいただきたいと思い、私からのエールとさせていただきます。



吉田貴彦先生

## 第 14 回 (2024 年度) 日本免疫毒性学会 奨励賞

病原体センサーを介したサイトカイン産生誘導機構に関する研究

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)

この度は名誉ある 2024 年度日本免疫毒性学会奨励賞を賜り、大変光栄に存じます。選考委員の先生方、ご推薦頂いた千葉大学 青木重樹先生、大阪大学 吉岡靖雄先生に心より感謝申し上げます。また、和歌山県立医科大学の改正恒康教授をはじめとしたラボメンバー、スタッフの皆様にも心より御礼申し上げます。私は第 26 回 (2019 年度) の北九州で開催された学術年会に初めて参加させていただき、第 27 回 (2020 年度) 学術年会では年会賞を、第 28 回 (2021 年度) 学術年会では指導学生が学生・若手優秀発表賞をいただきました。今回の奨励賞と合わせて、改めて選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。私は 2007 年に大阪大学大学院博士課程に進学してから現在に至るまで、首尾一貫して病原体センサーを介したサイトカイン産生誘導機構に関する研究を行ってまいりました。本稿では、マクロファージにおけるサイトカイン産生誘導機構に関する研究をご紹介します。

マクロファージは病原体を貪食すると共に、様々な炎症性サイトカインを産生誘導します。インターロイキン-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ : IL-1 $\beta$ ) は、マクロファージが産生する代表的な炎症性サイトカインであり、まず、病原体センサーである Toll 様受容体などの刺激により IL-1 $\beta$  前駆体遺伝子の発現が亢進し、IL-1 $\beta$  前駆体タンパク質が生成されます。その後、インフラマソームと呼ばれるタンパク質複合体により IL-1 $\beta$  前駆体タンパク質が切断されて活性型の IL-1 $\beta$  となり、様々な炎症誘導活性を発揮します。インフラマソームは、病原体センサー、タンパク質切断酵素 (プロカスペーゼ-1)、およびその両者を連結させるアダプター分子 ASC から構成され、病原体センサーの名を冠して NLRP3 インフラマソームやパイリンインフラマソームなどと呼称され、そのセンサーが認識する刺激に応答し機能します。インフラマソームは、病原体由来の構成成分や毒素に応答する一方で、宿主由来の分子であるアデノシン三リン酸 (adenosine triphosphate: ATP)、尿酸、コレステロール、膵島由来ペプチドなどにも応答します。この機能的特性から、インフラマソームは感染防御に必須の役割を果たす一方で、痛風・動脈硬化・糖尿病などの炎症性疾患の病態形成や免疫毒性にも密接に関与します。しかしながら、生体内マクロファージにおいて、インフラマソームがどのように活性化するのかについてはよくわかっておりません。

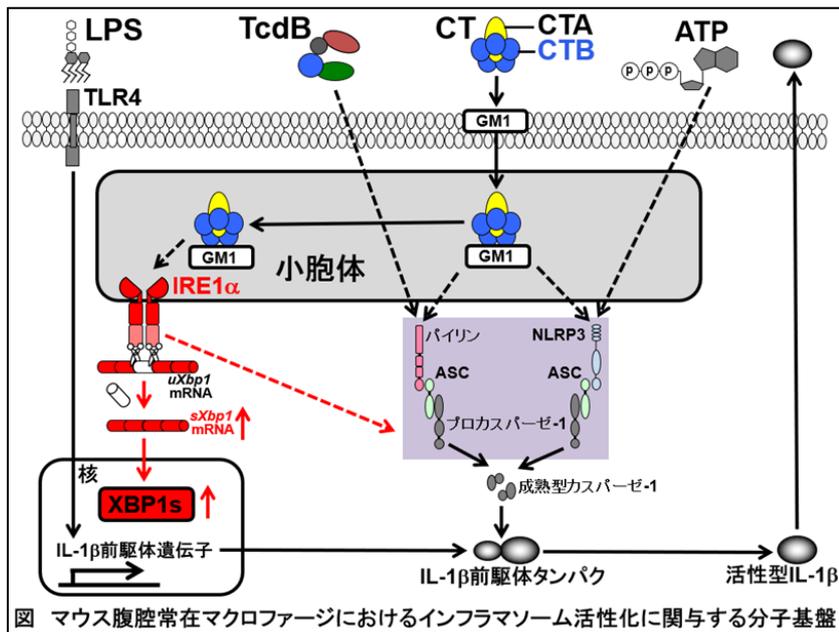
私はこれまで、コレラ菌由来の毒素、コレラ毒素 (Cholera toxin: CT) の免疫増強 (免疫アジュバント) 機能に着目し、その作用機構にインフラマソームが関与することを明らかにしてきました (*International Immunology*, 2019)。CT は、腸管上皮細胞に作用し下痢を引き起こす A サブユニット (CTA) と、細胞膜上の糖脂質ガングリオシド GM1 (以下、GM1) に結合し CT を細胞内に導入させる B サブユニット (CTB) から構成されております。CT は、

マウスの腹腔に常在するマクロファージ（以下、腹腔常在マクロファージ）に作用し、リポ多糖（lipopolysaccharides: LPS）と協調して IL-1 $\beta$  の産生を誘導します。この IL-1 $\beta$  の産生誘導に、NLRP3、Pyrin を病原体センサーとして含む 2 つのインフラマソームが関与することを明らかにしてきました。しかし、CT がどのようにインフラマソームを活性化するのかは不明なままでした。

今回、この点を明らかにするため、LPS で刺激した腹腔常在マクロファージにおいて、CT 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）を行いました。その結果、CT の刺激で 2 倍以上発現が上昇する遺伝子が 853 個得られ、その中には小胞体ストレス応答により誘導される遺伝子が数多く含まれておりました。この結果から、CT は腹腔常在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が明らかになりました。タンパク質は合成された後、小胞体で正しく折りたたまれ、機能します。正しく折りたたまれず異常な構造を取ったタンパク質や、細胞に取り込まれた毒素が小胞体内で蓄積すると、inositol-requiring enzyme 1-alpha (IRE1 $\alpha$ ) などの小胞体ストレスセンサーが活性化され、シャペロン分子やプロテアソーム関連分子の発現が亢進します。これらの機能分子により、構造異常タンパク質が修復または分解され、細胞においてタンパク質の品質が維持・管理されます。この一連の応答は、小胞体ストレス応答と呼称されています。そこで、CT による小胞体ストレス応答の誘導に、糖脂質 GM1 を介した小胞体内への侵入が必要かどうか、GM1 欠損マウスを用いて解析しました。その結果、野生型腹腔常在マクロファージでは、CT が小胞体内へ侵入し、小胞体ストレス応答関連遺伝子群の発現が顕著に誘導されましたが、GM1 欠損腹腔常在マクロファージでは、CT は小胞体内には検出されず、小胞体ストレス応答遺伝子群の発現も全く認められませんでした。すなわち、CT は糖脂質 GM1 を介して小胞体内へ侵入、蓄積し、小胞体ストレス応答を誘導していることが明らかになりました。

次に、小胞体ストレスセンサー IRE1 $\alpha$  が CT による IL-1 $\beta$  産生誘導に関与するかを明らかにするため、IRE1 $\alpha$  の阻害剤や、マクロファージ特異的 IRE1 $\alpha$  欠損マウスを用いて検討しました。その結果、IRE1 $\alpha$  阻害剤の添加あるいは IRE1 $\alpha$  欠損により、CT による IL-1 $\beta$  産生誘導が有意に障害されておりました。以上の結果から、CT で刺激された腹腔常在マクロファージにおける小胞体ストレス応答の誘導には IRE1 $\alpha$  が必須であること、この IRE1 $\alpha$  の活性化が CT による IL-1 $\beta$  産生誘導に必要であることが明らかになりました。

CT は、NLRP3、パイリン両方のインフラマソームを活性化します。そこで最後に、IRE1 $\alpha$  がどちらのインフラマソーム活性に関与しているのかを明らかにするために、NLRP3 インフラマソームの活性化因子 ATP、パイリンインフラマソームの活性化因子クロストリジウム毒素 (*Clostridium difficile* toxin B: TcdB) それぞれの IL-1 $\beta$  産生誘導能を解析しました。その結果、IRE1 $\alpha$  欠損腹腔常在マクロファージにおいて、ATP、TcdB いずれの IL-1 $\beta$  産生誘導能も有意に障害されることが明らかになりました。これらの結果から、小胞体ストレスセンサー IRE1 $\alpha$  は、NLRP3、パイリン両方のインフラマソームの活性化に必要であることがわかりました (図) (*Cell Reports*, 2024)。



小胞体ストレス応答は、生体にとって有害な構造異常タンパク質を感知し排除することによりタンパク質の品質を管理する機構であり、IRE1 $\alpha$ はこの応答に必須の膜貫通分子です。本研究により、生体内マクロファージにおいてタンパク質品質管理機構とIL-1 $\beta$ 産生誘導機構がクロストークしている可能性が示唆されました。本研究で着目したマウス腹腔常在マクロファージは、生物種を超えて保存されており、ヒトの腹腔にも対応するマクロファージが常在しています。今後は、同様の機序がヒトにおいても機能しているのかどうかを明らかにしていきたいと考えております。

サイトカインは免疫細胞の「声」と言われています。会話により人間関係が構築されるように、免疫システムもまた免疫細胞どうしのサイトカインを用いた会話により成立します。私が発する声は微々たるものですが、免疫毒性学会の先生方や学生の学術的創発およびコミュニケーションの一助になれるよう、引き続き努力して参る所存です。免疫毒性学会の諸先生方におかれましては、これからもご指導ご鞭撻のほど何卒よろしくお願いいたします。



佐々木 泉先生

### 第 31 回日本免疫毒性学会学術年会 年会賞

Self-assembling peptide CK2 contributes to the induction of antigen-specific cytotoxic T lymphocyte as a carrier of adjuvant and antigen.

安田好文（兵庫医科大学医学部免疫学）

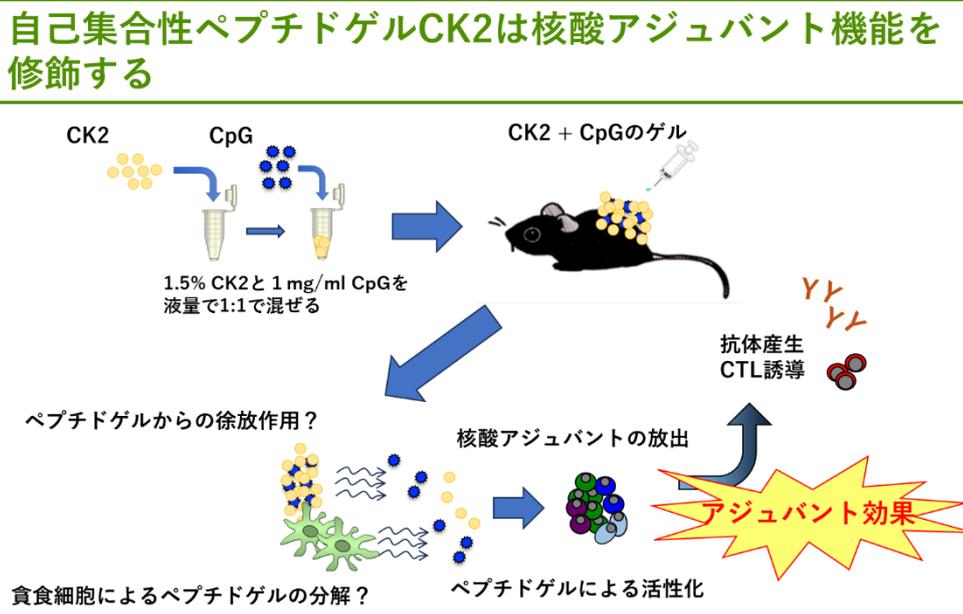
この度は第 31 回免疫毒性学会年会において栄えある年会賞に選出していただきまして誠にありがとうございました。審査に当たられた先生方には、私たちのポスター「Self-assembling peptide CK2 contributes to the induction of antigen-specific cytotoxic T lymphocyte as a carrier of adjuvant and antigen」を高く評価していただき深く感謝いたします。本年会は弊教室の黒田悦史教授が年会長ということで、ポスター発表時以外は裏方として運営に従事しておりましたので、賞をいただくことなど全く想定しておらず、まさに棚からぼたもち、犬も歩けば、で、であり、名前を呼ばれた時はなぜ自分が呼ばれたのか分からずポカンとしてしまいました。私はこれまで主に寄生虫感染免疫について糞線虫という腸管寄生線虫を用いて IL-33 や TSLP などの上皮由来サイトカインと ILC2 の役割を中心に研究してきました。線虫は細菌などと比較して非常に大きく、貪食では排除できない生体にとって厄介な侵入者です。それに対し免疫系は Th2 型免疫応答を誘導し、好酸球、肥満細胞、好塩基球、マクロファージなどの免疫細胞のみならず、上皮細胞の分化や筋収縮による腸管の蠕動、大量の抗体や抗菌物質産生などを総動員して体から追い出そうとします。この時に起こっている現象は非常に複雑で、いまだになぜ Th2 型免疫応答が誘導されるのかすら結論が出ていません。その中で寄生虫の外殻成分であるキチンが Th2 型免疫応答を誘導するアジュバント活性を持つことを見出し、一時期は alum とも合わせてその作用機序を細々と研究しておりました。残念ながらこの時のデータは発表まで至りませんでした。今回の研究はワクチンアジュバントの研究ということでこの時の研究経験を活かすことができました。今回、免疫毒性学会の年会賞をいただいたわけですが、本学会の存在を知ったのは数年前に黒田教授が着任されてからのことです。しかし、誠に申し訳ないのですが実はいまだに免疫毒性とは何か？よくわかっておりません。免疫に対する毒性か、免疫による毒性なのか、と勝手に思っております。これまで本学会には過去何度か非会員として参加しておりましたが、学会の演題をみているとどちらの категория に属する発表もあるように思われますが、どの演題も実践的で大変興味深く拝見しておりました。今回初めて演題を登録するため入会し、入会初年度参加者無料制度を利用しての発表でしたので、これまで長く学会を支えてこられた先生方を差し置いて受賞したことには大変恐縮しております。

今回の発表では自己集合性ペプチドゲル CK2 のアジュバント/キャリアとしての働きについて報告いたしました。CK2 は共同演者の藤本の所属する株式会社メニコンで開発されたハイドロゲルです。その成分は 13 アミノ酸からなるペプチド SPG-178 であり、これが水溶

液中で自己集合することで $\beta$ シートを形成し、さらに繊維状に絡み合っただゲルを形成しています。化学合成によって作成されたペプチドですので動物由来成分不含であり、無色透明で中性という性質を有しています。非常に安定性が高く常温で保存可能であり、種々の安全性（細胞毒性、感作性、刺激性、急性／亜急性全身毒性、慢性／亜慢性全身毒性、・遺伝毒性、埋植、発熱性、血液適合性）について確認されています。その透明性や安定性、安全性から、緑内障観血的手術時に手術部位への血液の流入を抑えて観察しやすくするために用いる眼科用視野確保剤「シアーズ」として医療機器承認（承認番号：30600BZX00110000）を得ています。このようなゲルですが、アルギニンを多く含むことで正に荷電しており、負に荷電した物質をよく吸着する性質も持っています。この性質を利用し、体内に抗原を長く滞留させるワクチンアジュバント／キャリアとして使用できるのではないかとしてメニコンから私たちのもとへ相談があったことが研究の始まりでした。

Covid19 のパンデミック以来、世界中で感染症に注目が集まっています。その制御にはワクチンが有効であり、さまざまなワクチンが開発されてきていますが、現行のインフルエンザスプリットワクチンなどほぼ抗原のみの投与は十分な効果があるとは言い難いものがあるように思われます。そこで強く免疫を誘導するためには抗原に加えてアジュバントを添加する必要がありますが、副反応の問題が出てきます。現在の日本で最も使用されているアジュバントは水酸化アルミニウム (alum) ですが、毎年接種が必要なコロナやインフルエンザウイルスなどに対するワクチンでは alum は有効性が認められない、あるいは小児に対する発熱などの副反応があり使用されていません。またコロナで緊急承認された mRNA ワクチンは抗原蛋白の作製を必要とせず強い免疫誘導能があるという大きなメリットがありますが、皆様ご存知の通り強い痛み、発熱など大きな副反応があり、人々に大きな不安感、抵抗感を持たせてしまっており、今後安心して使用するためにはさらなる改良が必要と思われる。そこで本研究では、安全性が高く投与部位で一定期間抗原を保持して抗体産生を誘導しその後体内で分解される CK2 について、新規キャリア物質としての可能性を検討しました。上記のように自己集合性ペプチドゲル CK2 は単体では生体に対して特に反応性を示しません。実際、骨髄由来樹状細胞に添加しても IL-6 や TNF $\alpha$  などの炎症性サイトカイン等は調べた限り発現上昇はみられませんでした。しかし、抗原（卵白アルブミン：OVA）と混合して皮下投与すると alum や Addavax と同様の強い OVA 特異的抗体産生誘導作用を示します。誘導されてきた抗体のクラスは主に IgG1、IgE であり、Th2 型免疫応答を誘導しているものと考えられました。抗体産生を目的としたワクチンであればこれでも十分ですが、アレルギーと関連する IgE が増加するのは望ましくありませんでした。そこで、アレルギーの原因となる IgE を減らしウイルスや細菌感染に有効な Th1 型/細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 優位な免疫応答を誘導するため、Th1 を誘導することが知られている核酸アジュバント (CpG-DNA ; K3) を CK2 と混合することにしました。CK2 は正に荷電しているため、負に荷電している核酸アジュバントは CK2 によく吸着します。OVA を抗原として、CK2/K3 混合物をアジュバントとしてマウスに免疫したところ、CK2/OVA のみに比較して K3 を添加することによ

り狙い通り OVA 特異的 IgE の産生は検出されなくなりました。しかし意外なことに IgG1 は低下せず、むしろやや増加し、さらに狙い通りに著しい IgG2c の産生誘導が認められました。つまり CK2 単独では Th2 誘導性だったものが K3 の添加により Th1 誘導性になったと考えられます。さらに、K3 の添加によって OVA 特異的 CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞が活性化するのか検討するため、K3/CK2/OVA で免疫したマウスに OVA タンパクを経鼻投与し、肺に集積する細胞を H-2Kb-OVA(SIINFEKL)-tetramer を用いて染色しました。K3/CK2/OVA 免疫マウスでは CD8 陽性/tetramer 陽性細胞が有意に増加しており、アジュバント K3 を CK2 に吸着させて用いることで CD8 陽性 T 細胞が抗原特異的に活性化されること、さらに肺からの抗原によるブーストによって肺に集積することがわかりました。またこの肺細胞を OVA ペプチドで刺激したところ、CD4, CD8 陽性 T 細胞いずれも IFN $\gamma$  産生が増加しており、CK2 に K3 を混合することで Th1 型/CTL 優位な免疫応答が誘導されることが明らかとなりました。この間、マウスは特に体重減少などの強い副反応はみられず、今後さらに詳細に調べることとなりますが安全性についても今のところ問題なさそうです。このように CK2 は核酸アジュバントと抗原の両方を吸着し、投与部位にこれらを滞留させて穏やかにゆっくりと免疫を誘導するキャリアとして働くと考えられます。今後は安全性に加え、体内での動態や免疫誘導機序を解析し、さらには実際にウイルス感染モデルなどを用いて実際にワクチンとして有効なのか検証していきたいと考えております。



今回の我々の研究では CK2 と K3 の混合によるワクチン効果についてご報告致しましたが、メニコンとしては多くの皆様にお試しいただきたいということですので、皆様の研究に関連して CK2 を使用してみたいという方がおられましたら安田 [koubun@hyo-med.ac.jp](mailto:koubun@hyo-med.ac.jp) までご連絡ください。

末筆になりましたが、本研究の遂行にあたっては弊教室の黒田教授を始めとした教室員のみなさま、および株式会社メニコンの方々には研究のアイデアから実験、討論に至るまで大変ご協力をいただきました。この場を借りて心より御礼申し上げます。



安田好文先生（左）  
と黒田悦史先生（右）

## 免疫毒性研究の若い力

神経分化レポーターマウスを利用した化学物質の発達神経毒性評価

石田慶士（岐阜薬科大学衛生学研究室）

この度は日本免疫毒性学会 ImmunoTox Letter への執筆の機会を賜り、心よりお礼申し上げます。私が日本免疫毒性学会の年会に初めて参加させていただいたのは、2024年に兵庫医科大学で開催された第31回学術年会でした。先生方の活発な議論や、展示に参画されている企業様のフラッシュプレゼンテーションなど、学会活性化に向けた多様な工夫が随所に見られ、大変アクティブで雰囲気の良い学会であると感じました。私はこれまで、化学物質の発達神経毒性（developmental neurotoxicity: DNT）を主な研究テーマとしてまいりましたが、今後はこれに免疫毒性の視点を加え、より発展的な研究を展開していきたいと考えております。そのためにも本学会で免疫毒性学への理解を深めたいとの思いから、今年度より入会いたしました。まだ免疫毒性学に関しては学ぶべきことが多くございますが、今後は微力ながら本学会の発展に貢献していく所存ですので、何卒よろしくお願い申し上げます。

さて私は、2018年に広島大学大学院医歯薬保健学研究科にて博士号の学位を所得しました。その後、日本学術振興会特別研究員PDに採用され中西剛先生が主催する現在の研究室に異動し、現職に至ります。本稿では岐阜薬科大学にて私がこれまでに行ってきた研究について、その研究背景とあわせてご紹介させていただきます。

### 1. 化学物質のDNTリスク評価の現状

近年、自閉スペクトラム症（ASD）や注意欠陥多動症などの神経発達症に罹患する子供の増加が大きな社会問題となっており、その要因の1つとして化学物質の曝露が指摘されています。現在、化学物質のin vivo DNT試験はOECD TG426等が確定試験としてガイドライン化されていますが、多くの時間・コスト・実験動物を必要とするため、ガイドラインに準拠したin vivo DNT試験をルーティンで行うことは非現実的な状況です。現状として化学物質のDNT試験は、規定の試験結果から必要と判断された化学物質に対してしか実施されておらず、DNTが評価された化学物質は産業利用されている化学物質のうち、わずか0.2%程度に留まっています。このような背景から、化学物質のDNTリスク評価を効率的に行うために、簡便かつ客観的な評価法の開発が急務とされています。

### 2. レポーターマウスを用いた生体発光イメージング

レポーターマウスは（組織）特異的なプロモーターの制御下でレポーター分子が発現する遺伝子改変マウスであり、レポーター分子の発現を可視化することで生理活性物質の生体内作用の検出や遺伝子産物の生体内局在のトレースが可能となります。代表的なレポータ

一分子としては緑色蛍光タンパク質（GFP）に代表される蛍光タンパク質や発光酵素ルシフェラーゼ（Luc）が知られています。それぞれのレポーター分子には長所・短所があるため研究目的に応じて選択しますが、Luc を用いた生体発光イメージングは、生体内での高いシグナル/ノイズ比のため感度が良く、定量性に優れているという利点を有します。私たちはこれまでに独自に作製したエストロゲン応答配列の制御下で Luc を発現するレポーターマウスを用いて、エストロゲン作動性化学物質の新規スクリーニング試験系を構築するとともに、様々な化学物質のエストロゲン/抗エストロゲン作用の有無を報告してきました(1, 2)。これらの研究成果は、経日的かつ非侵襲的に同一個体でその作用を高感度に定量化できるレポーターマウスが化学物質のエストロゲン化学物質評価において非常に有効なツールとなり得ることを示唆しています。

### 3. 神経分化レポーターマウス（Syn-Rep マウス）の作製と DNT 評価への応用

前述の背景のもと、レポーターマウスが DNT 評価にも応用できる可能性を考え、私たちは神経細胞分化マーカーの1つであるシナプシン 1（シナプス構成タンパク質）のプロモーターの制御下で Luc を発現するレポーターマウス（Syn-Rep マウス）を考案・作製しました。一般的に発達期のシナプス形成は出生前後で急速に進行し、その数は出生直後にピークを迎えますが、その後必要なシナプスを残し余剰なシナプスを除去する「シナプス刈り込み」と呼ばれる過程を経て、成熟期には機能的で無駄のない適切なシナプス数が維持されます。実際に、Syn-Rep マウスの脳 Luc 活性は生後数日でピーク値を示した後に、日齢が進むに従って低下し、離乳期以降は安定的な活性レベルが確認されました。すなわち Syn-Rep マウスの発達期脳における Luc 活性の経時変化パターンはシナプス構築状態を反映している可能性が示唆されました。

次に Syn-Rep マウスの脳における生体発光イメージング解析により化学物質の DNT を検出できるか否かを検証しました。抗てんかん薬のバルプロ酸（VPA）は、妊娠中の服用により出生児において ASD 等の神経発達症の発症リスクを高めることが報告されており、マウスモデルにおいても胎児期曝露により ASD 様の症状を誘導することから、DNT 陽性対照物質の候補として挙げられています。そこで、ASD 様症状の誘発条件で VPA を妊娠 Syn-Rep マウスに曝露し、産まれた児動物の脳 Luc 活性を生体発光イメージングで定量解析しました。その結果、非曝露群と比較して VPA 曝露群では脳 Luc 活性が低下することが明らかとなりました。さらに、VPA 曝露群では発達期と成熟期における大脳皮質の神経細胞数の減少も確認されたことから、生体発光イメージングの結果は脳内の神経細胞の状態を反映している可能性が示唆されました。以上の結果より、Syn-Rep マウスを用いた生体発光イメージングは、化学物質の DNT を効率的に評価するための有用なツールとなり得ることが示されました(3)。

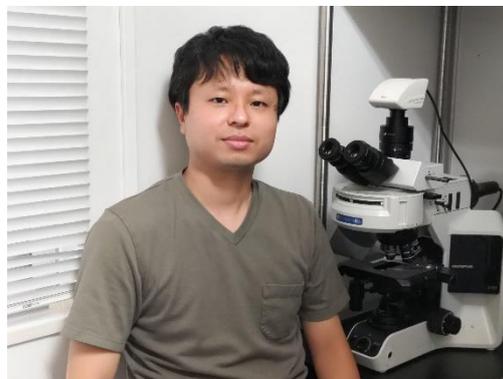
4. 化学物質による母体免疫活性化 (MIA) を介した DNT の解明に向けて

近年、妊娠期の MIA が児の脳発達に悪影響を与えることがヒト疫学調査より明らかになりつつあります。また、一部の化学物質については、その DNT 誘導メカニズムに MIA が関与している可能性が示唆されています。しかしながら、MIA を介して DNT を誘導する化学物質の種類や、その分子メカニズムの全容については不明な点が多いのが現状です。この問題を解決するために、現在私たちは Syn-Rep マウスを用いて母体の免疫状態と児の脳発達の相関関係を明らかにするための研究を進めております。本研究で得られる知見は化学物質による MIA を介した DNT メカニズムの基礎的な理解に役立つとともに、MIA 誘導性 DNT リスクを検出するための新たなエンドポイントの確立にもつながると考えております。将来的には見出したエンドポイントを毒性ガイドライン試験に組み込むことができれば、化学物質リスク評価の効率化や精度向上にも貢献できると期待されます。

最後に、上記研究に取り組むにあたり多大なるご指導・ご助言を賜りました中西剛教授、松丸大輔准教授、ならびに実験にご協力をいただいた目加田京子嘱託職員、岐阜薬科大学衛生学研究室の学生みなさまに厚く御礼申し上げます。また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・ご支援を賜りますよう、何卒よろしくお願い申し上げます。

<参考文献>

1. Yoshida I<sup>†</sup>, Ishida K<sup>†</sup>, Yoshikawa H, Kitamura S, Hiromori Y, Nishioka Y, Ido A, Kimura T, Nishikawa JI, Hu J, Nagase H, Nakanishi T, *J. Hazard. Mater.* 385, 121526 (2020). (<sup>†</sup>Equal contribution)
2. Ishida K, Furukawa M, Kunitani M, Yamagiwa R, Hiromori Y, Matsumaru D, Hu J, Nagase H, Nakanishi T, *J. Hazard. Mater.* 445, 130461 (2023).
3. Ishida K, Tatsumi K, Minamigawa Y, Mori K, Matsumaru D, Nagase H, Kanda Y, Takuma K, Nakanishi T, *Biochem. Pharmacol.* 206, 115332 (2022).



石田慶士先生

## SOT2025 参加記

若手研究者の皆様へのメッセージ「海外の学会にぜひ参加してみてください」

辻 真弓（産業医科大学医学部衛生学）

コロナ禍中のため参加を中断していた SOT に今年やっと参加できました。

しかも今年はアメリカ フロリダ州オーランドでの開催です。

海外の学会参加は、移動距離が長くしんどい（エコノミー席に 8~10 数時間は腰にきます）、滞在日数が長くなる（日本でやらなくてはならない仕事がどんどん溜まっていく）、参加費が高い（研究費が乏しくなる）、旅費が高い（円安の今は特に・・・）とデメリットもありますが、そのデメリットを超える良さがあります。日本の学会とは異なるスケール感、参加者数の多さ、プログラムの多彩さに圧倒されます。何気なく話していた外国の方が、実は有名な雑誌の Editor であった・・・といったこともあります。日本ではなんとなく話しかけにくい大先輩研究者とも、海外の開放的な雰囲気の中で、気楽に話す機会が多くあります。そして、「自分の研究は果たして海外の研究者に興味を持ってもらえるのか？」という不安に対する答えを得る貴重な機会にもなります。国籍も様々な研究者との語らいの中で、自分の研究の方向性や方法をブラッシュアップすることができます。

さて、ここからはざっくりばらんに SOT（アメリカでの学会）出張報告をさせていただきます。アメリカでの学会に参加する場合、国内線への乗り継ぎが必要な州での開催なのか、それとも直通で行ける州での開催なのか。飛行機代金も重要ですが、乗り継ぎ時間が短いと、うっかり予定の便に乗れない・・・ということも出てきます。今回私は往路 羽田⇒ヒューストン⇒オーランド、復路オーランド⇒ワシントン D.C. ⇒羽田で出張しました。ワシントン D.C. での国際線乗り継ぎは、時間にならないと開かないシャトルゲートを通り抜

ワシントン D.C. での乗り継ぎ  
時間にならないと乗り継ぎシャトル  
に乗るためのゲートが開かない！



ければならず、ハラハラしました。空港によって乗り継ぎの方法が違うので、毎回ドキドキしてしまいます・・・。

さて、無事にオーランドについて、時差ボケマックスの頭に何とか活

をいれたら会場に向かいます。フロリダの晴天を眺めた後は、いよいよ会場です。

SOT の会場は、シンポジウム会場に加え、企業の展示ブースとポスター会場があります。ここを覗くだけでも非常に楽しい気分になります。日本の企業からの出展もちよいちよひあります。熊本城を見かけたので、ふらりと寄って写真をパチリ・・・最近の実験技術の進歩に驚きながらいろいろな国から出展されているブースをのんびりまわります。



ポスター会場のおすすめは、朝の無料コーヒーです！いつの時間にいつでも提供されているわけではありません。プログラムをチェック&館内のアナウンスに気を付けておいてくださいね！コーヒー1杯3~4ドル。コロナ前ではそんなもんか！と気にもならなかったのに、今は円に換算するとちょっとブルーになってしまいます・・・。

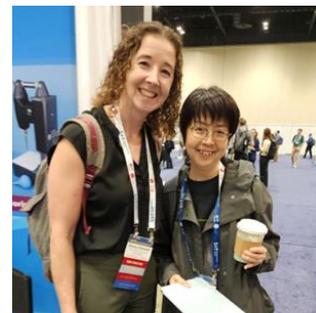


朝のおすすめ 無料コーヒーコーナー

無料コーヒー片手にポスターを眺めていると「そのコーヒーどこにあったの?!」としょっちゅう聞かれました。そこからちょっと会話を広げて、研究についてのディスカッションを繰り広げる・・・というぜいたくなひと時を過ごすことができました。また、コーヒー周辺は、仲の良い海外の研究者にであうスポットでもあります。



さて、昨今プラネタリーヘルスは医学部教育のテーマの一つになっています。ということで、時差ボケに負けず、朝一番のオープニングセッションに参加しました。お金がかかっているなあ～と思わせる TED 形式でのセッション。うれしかったのは、「様々な地



おひさしぶり！の挨拶

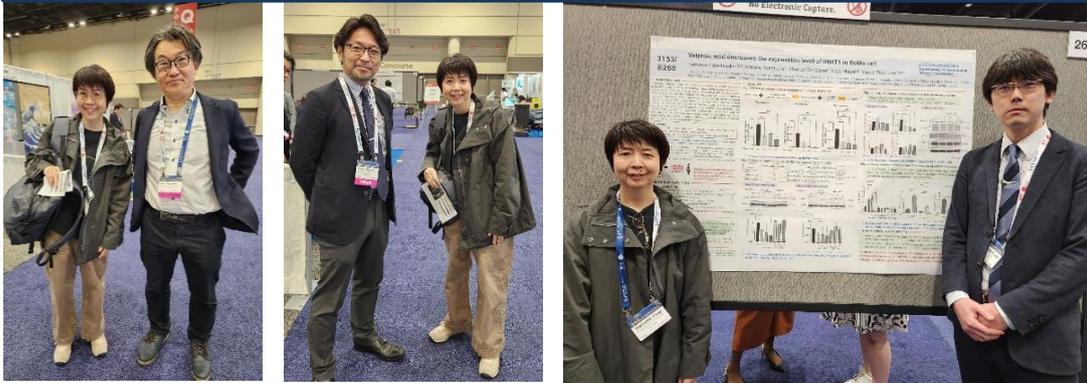


朝一番のオープニングセッション

球環境の悪化に起因する事象等に立ち向かっていく研究者の皆さんに感謝。皆さんは素晴らしい」という発言を聞いたときですね。研究者として感謝される言葉を聞くことってなかなかないので・・・そのあとは、興味のあるセッションを聞きに行ったり、JSOTのブースに遊びに行ったり、ぶらぶらポスターを見に行ったり。

日本ではなかなか会えない研究者や、日本でもよく合う研究者と楽しく語ったりして、夕方会場を後にします。

何となく寂しくなったら JSOT ブースの近くや日本人研究者発表を見に行きましょう！



さて、せっかくの海外出張。お楽しみも必要です。だって会場にもユニバーサルスタジオの宣伝がしてあるのですもの～～。ということで、スターウォーズ好きの私はワールドディズニーワールドへ。大好きなスターウォーズの世界にどっぷりつかって、リフレッシュ！

海外での学会参加は、日本の学会参加とは異なる魅力がたくさんあります。開放的な雰囲気の中で、国内外の研究者と気軽に話すことは、若い研究者の皆さんにとって、必ず良い経験になります。また、海外の街をそぞろ歩くことで、活力を充電することもできます。

ぜひ、海外の学会に参加してみてください！そして SOT で私を見かけたら声をかけてくださいね。無料コーヒー片手に語りましょう。

ワーケーション推進？！



WDW でストームトルーパーに遭遇！



ミレニアムファルコンで  
逃走！



## JSIT ImmunoTox Protocol

学術編集委員会

ImmunoTox Letter 第 57 号で 20 年ぶりに復活した「JSIT ImmunoTox Protocol」の第 2 弾です。前回は【細胞調整法】を 3 本ご紹介しましたが、今回は【疾患モデル動物】をキーワードとしました。近年、動物実験における 3R の原則に基づき、実験動物を用いない解析法が開発されています。しかしながら、複雑な病態をより深く理解するために、in vivo 解析が重要な研究手法であることに変わりはありません。そこで今回は、免疫毒性学研究で頻繁に登場する、皮膚、呼吸器、腸管における炎症性疾患に対するモデルマウスをご紹介いたします。前回同様、ImmunoTox Letter ではプロトコルのタイトルと概要のみを掲載しています。プロトコルの詳細については、学会 HP の「資料・情報」の会員専用エリアに格納しております。学会員の皆様はユーザー名とパスワードを入力することで、プロトコルをご確認いただけます。

学術編集委員会では、学会員の皆様からご紹介頂けるプロトコルを大募集中です。皆様の研究をアピールする絶好の機会としてご利用ください。また、取り上げて欲しい実験手法のリクエストなど、「JSIT ImmunoTox Protocol」に対するご意見・ご要望などもぜひお寄せ下さい。

マウスを用いたアレルギー性皮膚炎症モデル作成法

福山朋季（麻布大学 獣医学部 薬理学研究室）

### <概要>

一般的に Th2 型免疫反応誘導の高い雌性 BALB/c マウスに、Th2 型免疫反応を誘導するハプテンであるトリレン-2, 4-ジイソシアナートを複数回経皮感作する事により作製する。ハプテンは Th2 型免疫反応を誘導するようなオキサゾロンやトリメリト酸無水物でも代替する事が可能である。除毛した腹部皮膚に初回感作、3 週間後に再感作を行った後に、低濃度被験物質を耳介ないし除毛した背部皮膚に惹起する事で、皮膚炎症および搔痒行動を誘導する事が可能となる。感作から惹起までのスケジュールが固定化されている事で、被験物質曝露と炎症や搔痒反応の直接的な関連を調査しやすいという利点がある一方、炎症以外の皮膚の機能的な変化が見れない事が本試験法の限界となる。

#疾患モデル動物

## 微粒子経気管投与によるマウス肺障害モデルの誘導・解析方法

武村直紀（大阪大学 大学院薬学研究科 生体応答制御学分野）

### <概要>

日本をはじめとする先進諸国では、都市化や工業化に伴う大気汚染が深刻な社会問題となっている。汚染された空気には肉眼では捉えられない数  $\mu\text{m}$  以下の微粒子が飛散しており、これらを吸入することが種々の呼吸器疾患の発症や増悪の要因となっている。このような微粒子の代表例としては、工場や自動車の排気ガスに含まれる PM2.5 やディーゼル排気微粒子、また近年さまざまな用途で利用が進むシリカや酸化チタンといった工業マテリアルが挙げられるほか、アジア地域では砂漠から飛来する黄砂も同様の作用を示すため注意が払われている。これらの微粒子は免疫細胞を刺激して組織障害を引き起こすと考えられているものの、その機序については、分子、細胞、生体のあらゆるレベルにおいて未解明な点が多く、その解明に努め、有効な対策の立案を目指すことは免疫毒性学研究の使命であると言える。本稿では、シリカ粒子をマウスに経気管投与して肺障害を誘導する手法と、評価法の一つとして肺に集積する免疫細胞を分離する手法を紹介する。汎用性の高い手法であるので、他の物質を肺に投与する実験にも大いに利用して頂きたい。

### #疾患モデル動物

## マウス腸炎モデルの作成及びフローサイトメトリー解析

窪田篤人（北海道医療大学 薬学部 衛生薬学講座）

### <概要>

デキストラン硫酸ナトリウムを用いたマウス腸炎モデルは、炎症性腸疾患の疾患モデルマウスとして世界的に汎用されている。特にこの炎症は、潰瘍性大腸炎に類似した病理像として、大腸粘膜表層の発赤、びらん、潰瘍を呈する。更に、脾臓や腸間膜リンパ節、パイエル板など多岐に渡る免疫組織に影響を与える。脾臓は免疫応答に加え、造血、血液クリアランスの場として機能する。脾臓は肉眼的に判別が容易であることに加え、調整や初代培養に用いる実験材料が安価に入手可能であることから、簡便かつ広範囲の免疫機能評価に適用することが可能である。そこで本稿では、マウス腸炎モデルの作成とマウス脾臓細胞の調整法に加えてフローサイトメトリー解析、初代培養系の解析例を示す。

### #疾患モデル動物

## Short talks on the shoulders of giants

免疫原性研究の先に我々が見る現実と遙かなる景色

橋本永一

(中外製薬株式会社トランスレーショナルリサーチ本部安全性バイオサイエンス研究部)

この度は日本免疫毒性学会 ImmunoTox Letter への寄稿機会を賜りましたこと、心より感謝申し上げます。まだまだ浅学の身ではございますが、本紙面をお借りして製薬企業におけるバイオ医薬品の非臨床免疫原性研究の現状と将来の展望につきましてご紹介させていただきますと幸いです。

バイオ医薬品開発における免疫原性とは、抗体医薬品などのタンパク質製剤が生体内において”非自己”として認識されることでバイオ医薬品に対する免疫応答が誘導され、望ましくない臨床事象を誘導すること、と定義されております<sup>1</sup>。免疫原性反応に伴う抗薬物抗体 (ADA) の産生はバイオ医薬品の薬物動態や薬効、安全性に影響を与えうることが知られています<sup>2</sup>。例えば高コレステロール血症を対象に開発されていた抗 PCSK9 抗体 bococizumab は Phase 3 試験において約半数の患者さんで ADA の産生が誘導され、薬効減弱も確認されたことから免疫原性が一因となって開発中止となるなど、免疫原性はバイオ医薬品開発上の課題の一つとなっています<sup>3</sup>。

こうした課題に対応するためにバイオ医薬品に対する様々な非臨床免疫原性評価法が報告されており、例えばバイオ医薬品による T 細胞活性化を細胞増殖<sup>4</sup>や IL-2 産生<sup>5</sup>等の指標を用いて評価するヒト in vitro 免疫原性ポテンシャル評価、樹状細胞を用いた抗原提示ペプチド配列に対する評価<sup>6</sup>などが実施されております。また最近では機械学習をベースとした in silico 抗原提示ペプチド予測手法なども報告されております<sup>7</sup>。これらの手法はバイオ医薬品の免疫原性を予測する上で非常に有効であり、こうした評価方法を適切に組み合わせることで免疫原性懸念の低い候補分子の創出を目指すことになります。一方で免疫原性の誘発要因は多岐に渡り<sup>8</sup>、現行の手法だけでは予測が困難なバイオ医薬品も存在することから、現在の手法では考慮できていなかった要素を含めた予測精度向上に向けた研究が精力的に進められております。

生体において免疫原性が誘導されるメカニズムは非常に複雑であり、その理解のためには学問分野を超えた協働が必要になります。例えばバイオ医薬品の疎水性などの物理化学的性状<sup>9</sup>や凝集体形成<sup>10</sup>は免疫原性に影響を与えることが知られておりますが、そうした性質を適切に予測系に組み込むためには分子としてのバイオ医薬品に対する理解を深めることが不可欠です。また製剤中に含まれる産生細胞由来の異種タンパク質である host cell protein (HCP) を始めとする不純物による免疫原性への影響も報告されております<sup>11</sup>が、その理解・解決のためにはバイオ医薬品の製造部門との協力が必要となります。加えてバイオ

医薬品の開発においては ADA による臨床開発上の影響 (clinical impact) も考慮する必要があり<sup>1, 12</sup>、臨床部門との連携が求められることとなります。さらに近年ではそうした多岐に渡る免疫原性の誘発因子を機械学習により統合的に解析した予測モデルの開発も進展しておりますが、こうした予測モデル構築においてはデータサイエンティストとの協働も重要となります<sup>13, 14</sup>。

このような学問領域横断的な取り組みのためには関係者間の共通認識の醸成が大切ですが、背景や考え方の異なる研究者同士のコミュニケーションには苦勞することも多く、なかなか協働が上手く進まないケースもごございます。例えば新しい免疫原性評価系を構築した場合、生物学者の立場からは「良い評価系ができた!」と想っていても、抗体最適化や製造、臨床開発など異なる立場の研究者にとっては「基準値が厳しすぎる/緩すぎる」「実際の現場での活用イメージがつかない」といった感想になってしまいなかなか活用してもらえない、といったこともごございます。また新しい評価系の構築に向けて連携する場合も研究の進め方の違いに起因するすれ違いやゴールイメージを十分に共有できておらず価値を認識してもらえない、といった事情で協働が前に進まないこともごございます。こうしたケースでは研究者同士が互いの立場や考え方に対する理解を深めて歩み寄ることが必要になりますが、そのためには対等な立場で自由闊達に意見を交わし、共通理解を醸成していく環境が不可欠です。幸い製薬企業においては「ヒト予測性の向上を通じてより安全で効果的なバイオ医薬品を患者さんの元へ届ける」という最終的なゴールの共通認識は得られており異分野の研究者間で連携しやすい環境ではあるのですが、やはり協働を深めるにあたっては前述のような課題に直面することも多いです。しかしながらそういったハードルを乗り越えて仲間と共に新しい評価手法の構築に成功し、バイオ医薬品開発に貢献できた際は喜びもひとしおです。

免疫原性研究は非常に複雑な生体反応の理解への挑戦であり、あたかも濃霧の山中で彷徨っているかのような気持ちになることも少なくありません。しかしながら先人たちの積み重ねた研究成果に基づいて”巨人の肩の上に立つ”ことで遥か遠くの頂への道を見通していくと共に、異分野の新しい視点から周囲を見渡すことでこれまで気付かなかった素晴らしい風景を見つけていくこともできるのではないのでしょうか。今後も本学会の皆様を始めとする高い専門性を持った研究者同士のつながりを大切にしながら、日々研究に邁進してまいります。

#### 【引用文献】

1. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (2014), Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products.
2. Smith A, Manoli H, Jaw S, Frutoz K, Epstein AL, Khawli LA, Theil FP. (2016): Unraveling the Effect of Immunogenicity on the PK/PD, Efficacy, and Safety of Therapeutic Proteins. *J Immunol Res.* :2342187. doi: 10.1155/2016/2342187.
3. Ridker PM, Tardif JC, Amarenco P, Duggan W, Glynn RJ, Jukema JW, et al. (2017): Lipid-Reduction Variability and Antidrug-Antibody Formation with Bococizumab. *N Engl J Med* 376, 1517-1526. doi: 10.1056/NEJMoa1614062

4. Ito S, Ikuno T, Mishima M, Yano M, Hara T, Kuramochi T, Sampei Z, Wakabayashi T, Tabo M, Chiba S, Kubo C. (2019): In vitro human helper T-cell assay to screen antibody drug candidates for immunogenicity. *J Immunotoxicol.* 16(1):125-132. doi: 10.1080/1547691X.2019.1604586.
5. Arata Y, Motoyama S, Yano M, Ikuno T, Ito S, Matsushita T, Takeiri A, Nishito Y, Yabuki N, Mizuno H, Sampei Z, Mishima M, Honda M, Kiyokawa J, Suzuki H, Chiba S, Tabo M, Kubo C. (2023): Rapid in vitro assessment of the immunogenicity potential of engineered antibody therapeutics through detection of CD4+ T cell interleukin-2 secretion. *mAbs*, 15(1). doi: 10.1080/19420862.2023.2253570
6. Sekiguchi N, Kubo C, Takahashi A, Muraoka K, Takeiri A, Ito S, Yano M, Mimoto F, Maeda A, Iwayanagi Y, Wakabayashi T, Takata S, Murao N, Chiba S, Ishigai M. (2018): MHC-associated peptide proteomics enabling highly sensitive detection of immunogenic sequences for the development of therapeutic antibodies with low immunogenicity. *MABs*. 10(8):1168-1181. doi: 10.1080/19420862.2018.1518888.
7. Racle J, Guillaume P, Schmidt J, Michaux J, Larabi A, Lau K, Perez MAS, Croce G, Genolet R, Coukos G, Zoete V, Pojer F, Bassani-Sternberg M, Harari A, Gfeller D. (2023): Machine learning predictions of MHC-II specificities reveal alternative binding mode of class II epitopes. *Immunity*, 56(6), 1359-1375.e13. doi: 10.1016/j.immuni.2023.03.009
8. Harris CT, Cohen S. (2024): Reducing Immunogenicity by Design: Approaches to Minimize Immunogenicity of Monoclonal Antibodies. *BioDrugs*. 38, 205-226. doi: 10.1007/s40259-023-00641-2
9. Ausserwoger H, Krainer G, Welsh TJ, Thorsteinson N, Csillery E, Sneideris T et al. (2023): Surface patches induce nonspecific binding and phase separation of antibodies, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 120 (15) e2210332120. doi: 10.1073/pnas.2210332120
10. Pham NB, Meng WS (2020): Protein aggregation and immunogenicity of biotherapeutics. *Int J Pharm.* 30;585:119523. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119523
11. Holley CK, Cedrone E, Donohue D, Neun BW, Verthelyi D, Pang ES, Dobrovolskaia MA. (2021): An In Vitro Assessment of Immunostimulatory Responses to Ten Model Innate Immune Response Modulating Impurities (IIRMI)s and Peptide Drug Product, Teriparatide. *Molecules*. 26(24):7461. doi: 10.3390/molecules26247461.
12. U. S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (2019), Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products –Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection
13. Shakhnovich V, Meibohm B, Rosenberg A, Kierzek AM, Hasenkamp R, Funk RS, Thalhauser CJ, van der Graaf PH, Wang YMC. and Hamuro L. (2020): Immunogenicity in Clinical Practice and Drug Development: When is it Significant? *Clin Transl Sci*, 13: 219-223. doi: 10.1111/cts.12717
14. Sauna ZE, Jawa V, Balu-Iyer S, Chirmule N. (2023): Understanding preclinical and clinical immunogenicity risks in novel biotherapeutics development. *Front Immunol.* 14:1151888. doi: 10.3389/fimmu.2023.1151888.



橋本永一先生

## 編集後記

昨年から復活した「JSIT ImmunoTox Protocol」はいかがでしょう？論文や成書などで実験手法を知ることが出来ますが、実際にやってる人に聞くのが一番の近道です。興味を持たれたプロトコルがありましたら、「JSIT ImmunoTox Protocol を読みました!!」と直に聞いてみてはいかがでしょう。そこから共同研究に発展することになれば、この企画は大成功です。9月に開催される第32回学術年会が絶好のチャンスになることと思います。岐阜で皆様とお会いできることを楽しみにしています。

新年度が始まり早くも3ヶ月が過ぎました。担当講義が前期に集中しており、夏休みまでは慌ただしい毎日が続きます。好きなラジオ番組の名言「八月過ぎたら大晦日」を胸に刻み、充実した日々を過ごして行きたいと思います。

(T. K. 記)

### 編集・発行：日本免疫毒性学会

編集発行責任者：齋藤 嘉朗

編集委員会：間 哲生、青木 重樹、

木戸 尊将、黒石 智誠、

黒田 悦史、坂入 鉄也、

角 大悟、西村 泰光、

室本 竜太、柳澤 利枝

原稿送付先：[toshinobu.kuroishi.e1@tohoku.ac.jp](mailto:toshinobu.kuroishi.e1@tohoku.ac.jp)