

ImmunoTox Letter

日本免疫毒性学会 : The Japanese Society of Immunotoxicology Vol. 27 No.2(通巻 54 号) 2022. 12 月

— 目次 —

第 30 回日本免疫毒性学会学術年会(予告 1) …1
 国立医薬品食品衛生研究所 中村亮介

第 29 回日本免疫毒性学会学術年会報告 ……2
 北海道医療大学 小島弘幸

第 29 回学術年会 年会賞 ……5
 東北大学 黒石智誠

第 29 回学術年会 学生・若手優秀発表賞 ……9
 立命館大学 山口慎一郎
 京都大学 大森一生

免疫毒性に関する Adverse Outcome Pathway
 (AOP)の開発 …… 14
 試験法委員会 AOP 検討小委員会 杉本潤一郎

世界の免疫毒性研究者へのインタビュー 第 11 回
 …… 17

特別名誉会員就任のお知らせ …… 17

第 29 回学術年会でのアンケート結果 ……18

ImmunoTox Letter Digest …… 21

第 30 回日本免疫毒性学会学術年会 (JSIT2023)(予告 1)

日本免疫毒性学会の第 30 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 :2023 年 9 月 11 日(月)～ 13 日(水)
(9 月 13 日は公開シンポジウムのみ)

会 場1 :Shimadzu Tokyo Innovation Plaza

住 所 :〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町
3-25-40 [https://www.shimadzu.co.jp/aboutus/
company/access/tonomachi.html](https://www.shimadzu.co.jp/aboutus/company/access/tonomachi.html)

会 場2 :公開シンポジウム(要登録・参加費無料)

川崎生命科学・環境研究センター(LiSE)
住 所 :〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町
3-25-13 <https://kawasaki-lise.jp/access.php>

アクセス :JR 川崎駅から臨港バス(約 30 分)、または京急大師線小島新田駅下車(約 15 分)から徒歩(約 12 分)、京急空港線/東京モノレール天空橋駅から臨港バス(約 10 分)、羽田空港第 1・第 2 ターミナルからタクシー(約 10 分)、羽田空港第 3 ターミナルから徒歩(約 30 分)

テ — マ: 社会に求められる新たな免疫毒性研究
内 容:

特別講演

1. 日本におけるワクチン開発:SCARDA の取り組み
古賀淳一先生(AMED 先進的研究開発戦略センター(SCARDA)・プロボスト)

2. (演題名未定)

SOT ITSS 招待演者(未定)

30 周年記念講演「免疫毒性学の継往開来」

1. 免疫毒性学の黎明期 ～毒性発現標的としての免疫機構と環境因子による免疫変容～(仮)

吉田貴彦先生(第 4 代理事長)

2. ICH S8 ガイドラインの意義と新たな課題

中村和市先生(第 5 代理事長)

シンポジウム「新規モダリティ医薬品・ワクチン開発における免疫毒性」

1. イントロダクション

石井明子先生(国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部)

2. AAV ベクター製品の免疫毒性評価の課題

松村匠悟先生(アステラス製薬 開発研究)

3. CAR-T 細胞製品の非臨床評価～免疫毒性を中心に～
藤原由佳理先生(ノバルティスファーマ 探索開発部)

4. 核酸医薬品の免疫毒性評価(仮)

演者未定(核酸医薬安全性評価コンソーシアム)

5. 新規モダリティワクチンの理解に必要な免疫研究

高橋宜聖先生(国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター)

教育講演

重症薬疹における細胞死メカニズム

阿部理一郎先生(新潟大学大学院・教授)

試験法ワークショップ(ヒト免疫系を模した評価モデルの現状と将来展望)

1~4. (演者未定)

5. 総合討論

公開シンポジウム 9:10~11:55(予定)

「環境中化学物質の免疫毒性リスク評価」(参加費無料)

1. 環境から曝露される化学物質の健康リスク評価

青木康展先生(国立環境研究所名誉研究員)

2. 医薬部外品及び食品中化学物質のリスク評価

手島玲子先生(岡山理科大学獣医学部)

3. 疫学研究からみた化学物質とアレルギー疾患の関係

山本貴和子先生(国立成育医療研究センターアレルギーセンター、同センター研究所エコチル調査研究部)

4. 免疫毒性に基づく化学物質の健康有害性とリスク評価

小池英子先生(国立環境研究所環境リスク・健康領域)

5. 総合討論

一般演題: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。

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:

2023年6月1日(木)~7月4日(火)(予定)

年 会 長 :中村亮介

国立医薬品食品衛生研究所

事 務 局 :第30回日本免疫毒性学会学術年会事務局

〒210-9501 神奈川県川崎市川崎区殿町

3-25-26 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部内

電話 044-270-6626、Fax 044-270-6627

E-mail jsit2023@nihs.go.jp

演題・参加登録問い合わせ先:

株式会社 コームラ

〒501-2517 岐阜県岐阜市三輪ぶりんどびあ3

電話 058-229-5858、FAX 058-229-6001

E-mail、ホームページ:準備中

第29回日本免疫毒性学会学術年会報告

小島弘幸 (北海道医療大学薬学部衛生薬学講座)

第29回日本免疫毒性学会学術年会は、2022年9月12日(月)、13日(火)の2日間にわたり、北の大地・札幌で開催されました。3年ぶりの現地開催ということもあり、当初は演題申込数や参加者数の減少を懸念していましたが、当日参加申込の数が激減したことを除いては、ほぼコロナ前と変わらぬ数字となりました。多くの皆様方のご協力・ご支援をいただき、無事に年会を開催できましたことを心より感謝申し上げます。

本学会の学術年会では例年、免疫毒性に関して基礎研究を中心とした熱い議論が展開されます。今回の年会では「免疫毒性と疾患-新たな軌跡を描く-」をメインテーマとし、免疫毒性が疾患とどのように結びついているかを改めて考える機会にさせていただき、未来において本年会を振り返った時、皆様の記憶の中にその軌跡が描かれていることを期待しました。本学会のシンポジウムでは、「環境・免疫・疾患」という幅広い角度から免疫毒性を捉えて、6名の若手の先生方に最新のご研究を発表していただきました。①鈴木武博先生(国立環境研究所)からは「妊娠期無機ヒ素曝露による多世代影響とエピジェネティック修飾変化」、②武村直紀先生

(大阪大学大学院薬学研究科)からは「環境中微粒子がもたらす炎症性疾患とその制御」、③下川周子先生(国立感染症研究所)からは「寄生虫感染による自己免疫疾患の抑制メカニズム～衛生仮説の科学的証明へ向けて～」、④畠山浩人先生(千葉大学大学院薬学研究院)からは「がん病態が増悪する免疫チェックポイント阻害剤に対するアナフィラキシー：マウスモデルの解析から」、⑤青山道彦先生(国立医薬品食品衛生研究所)からは「抗体薬物複合体の非標的細胞における毒性に関する研究」、⑥伊藤俊輔先生(中外製薬株式会社)からは「バイオ医薬品の免疫毒性におけるFc受容体の関与」の講演を行っていただき、活発な議論とともに本学会が今後歩む方向性も示されました。

本年会の特別講演では、1題目として12日の午後に、SOT-ITSSから招聘されたJamie C. DeWitt先生(East Carolina University)による「Protecting public health from per- and polyfluoroalkyl substances: Focus on Immunotoxicity」の講演が行われ、近年環境汚染が懸念されている高残留性有機フッ素化合物の抗体産生抑制作用が報告されました。特別講演の2題目は13日の午後に、金井隆典先生(慶応義塾大学医学部)から「潰瘍性大腸炎をインジゴで治療する“光と影”」の演題が報告され、会場の雰囲気が一変したのを覚えています。ダイオキシン受容体を介したインジゴの治療効果のみならず毒性作用についても言及され、まさに「免疫毒性と疾患」に相応しい内容であったと思います。

教育講演としても2題の講演が行われました。1題目は12日の午前、浅香正博先生(北海道医療大学)から「がんはどこまで防げるのか？」の演題で講演が行われ、新たなカミングアウトを含めて先生の熱弁が印象的でありました。教育講演の2題目は13日の午後に、福島若葉先生(大阪公立大学大学院医学研究科)から「ワクチンの有効性と安全性の考え方：疫学の視点から」の講演があり、新型コロナワクチンを含めたワクチンの光と影について疫学データから興味深く解説していただきました。

試験法ワークショップは、「医薬品分子様式の多様化から見えてきた免疫毒性評価の課題」をテーマとして、高橋義博先生(株式会社新日本科学)の「T細胞依存性抗体産生(TDAR)評価の課題」、間哲生先生(第一三共株式会社)の「Cytokine release assay 評価の課題」、久保千代美先生(中外製薬株式会社)の「抗体医薬の免疫毒性評価の課題」、松村匠悟先生(アステラス製薬株式会社)の「核酸・遺伝子治療薬の免疫毒性評価の課題」について4題の講演が行われました。講演終了後の総合討論により、さらに理解が深められました。

一般発表は、口頭発表7題、ポスター発表19題で、口頭発表は本学会の特徴である徹底的に討論するという伝統を守り一演題15分と十分な質疑応答を行えるように設定しました。学生・若手発表は、口頭発表10題、ポスター発表3題と例年に比べて多くなり、こちらも一般発表に負けないくらい熱い議論が交わされました。一般発表から選ばれる年会賞として、黒石智誠先生(東北大学大学院歯学研究科)の「Ni結合タンパク質CXCL4とVitamin D3誘導体はNiアレルギーに対する舌下免疫療法を増強する」に決定しました。また、学会・若手優秀発表賞には、大森一生さん(京都大学大学院工学研究科)と山口慎一郎さん(立命館大学大学院薬学研究科)がそれぞれ選ばれました。さらに、今年度の日本免疫毒性学会賞を受賞さ

れた姫野誠一郎先生 (昭和大学薬学部) 及び奨励賞の久保千代美先生 (中外製薬株式会社)、室本竜太先生 (北海道大学大学院薬学研究院) の受賞講演は 2 日目の午前に行われました。

新型コロナウイルス感染症の流行により 3 年ぶりの現地開催となりましたが、やはり学会は対面形式で会場の空気感が伝わる中での白熱した議論が楽しいことを改めて教えてもらいました。運営にあたりましては、行き届かない面が多々あったことと思いますが、皆様のご協力で年會が無事終了できましたことに感謝申し上げ、皆様方の今後益々のご活躍を祈念いたします。次回は川崎でお会いしましょう！



第 28 回日本免疫毒性学会学術年会 年会賞

Ni 結合タンパク質 CXCL4 と Vitamin D3 誘導体は Ni アレルギーに対する舌下免疫療法を増強する

黒石智誠（東北大学大学院歯学研究科 口腔分子制御学分野）

[背景・目的]

金属から溶出した金属イオンは、接触性皮膚炎を主症状とする金属アレルギーを引き起こす。金属アレルギーは細胞性免疫依存型の IV 型アレルギーに分類され、様々な原因金属の内、ニッケル (Ni) は抗原性検査における陽性率の高さなどから最も重要視されている。現在、金属アレルギーの標準的な治療法は原因金属の除去であり、ステロイド外用剤や抗炎症剤などが用いられる場合もある。しかしながら、いずれも対症療法であり、より根本的な新しい治療法が望まれている。

抗原特異的免疫療法とは、積極的なアレルゲン投与により免疫寛容を誘導するアレルギー治療法であり、アレルゲンの投与方法から経口免疫療法、皮下免疫療法、経皮免疫療法、舌下免疫療法 (sublingual immunotherapy; SLIT) などに分類される。この内、SLIT は、口腔粘膜の免疫寛容的性質から副反応が少なく、比較的安全で効率的な抗原特異的免疫療法として、スギ花粉やハウスダストなどによるアレルギー性鼻炎の治療法として用いられている。

これまでに筆者の所属研究室では、SLIT の作用機序を報告してきた。舌下粘膜に投与された抗原は、舌下粘膜もしくは唾液腺導管の上皮細胞を通して粘膜下に吸収され、周囲の抗原提示細胞に取り込まれる (*Clin. Exp. Allergy*. 2015; 45: 677-686.)。そして、口腔粘膜の CD103⁺CD11b⁺樹状細胞が所属リンパ節である顎下リンパ節へ遊走し、レチノイン酸と TGF- β 依存的に Foxp3⁺制御性 T 細胞 (Treg) を誘導し、免疫寛容が成立する (*Mucosal Immunol*. 2017; 10: 79-90.)。

本研究では、より効率的かつ根本的な金属アレルギー治療法の開発を目指し、マウスモデルを用いて SLIT による Ni アレルギーの抑制効果を検討した。

[実験方法]

Ni アレルギーマウスモデルは、筆者の所属研究室で開発した方法により作製した (*Clin. Exp. Allergy*. 2007; 37: 743-751.)。つまり、マウス腹腔内にリポポリサッカライドを含む Ni 溶液を投与し、Ni に感作した。その後、耳介部に Ni 溶液を皮下接種し (チャレンジ)、耳介部の腫脹を指標として Ni アレルギーの程度を測定した。SLIT は、麻酔下のマウス舌下に抗原溶液を滴下することにより行った。

[結果]

1. SLIT による Ni アレルギーの予防効果

まず、SLIT による Ni への免疫寛容の誘導を検討するため、ナイーブマウスに SLIT を施し、その後、Ni アレルギーを誘導した。その結果、Ni 単独による SLIT は Ni チャレンジによる耳介の腫脹を抑制しなかった。これに対し、筆者らの報告した Ni 結合タンパク質である CXCL4 (*Clin. Exp. Allergy*. 2017; 47: 1069-1078.) と Ni の混合溶液を用いた SLIT は、Ni チャレンジによる耳介の腫脹を有意に抑制した。これらの結果から、Ni 結合タンパク質である CXCL4 により Ni に対する SLIT が増強され、Ni に対する免疫寛容が誘導されたことが示された。

[Ni+CXCL4] の SLIT による免疫寛容誘導をさらに解析するため、adaptive transfer による解析を行った。まず、ナイーブマウスに SLIT を施した後に Ni 感作し、脾臓から non-Treg CD4⁺T 細胞を調整した。そして、この細胞を移入したレシピエントマウスの耳介に Ni チャレンジを行った。その結果、コントロールもしくは Ni 単独の SLIT を施したマウスに由来する細胞を移入した場合、その後の Ni チャレンジにより耳介の腫脹が誘導された。これに対し、[Ni+CXCL4] の SLIT を施したマウス由来の細胞を移入した場合、引き続き Ni チャレンジによる耳介の腫脹は誘導されなかった。つまり、[Ni+CXCL4] の SLIT によりその後の Ni 感作が抑制され、Ni 特異的 CD4⁺T 細胞が誘導されなかったことが示された。

次に、SLIT により誘導された Treg の効果を検討した。マウスに SLIT を施した後、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節および脾臓から Treg を分取し、ナイーブマウスに移入した。その結果、[Ni+CXCL4] の SLIT を施したマウスの顎下リンパ節に由来する Treg を移入したマウスでは、その後の Ni アレルギーが有意に抑制された。これに対し、腸間膜リンパ節および脾臓由来 Treg の移入では、Ni アレルギーは抑制されなかった。これらの結果から、SLIT により顎下リンパ節で誘導された Treg が、Ni アレルギーの抑制に重要であることが示された。

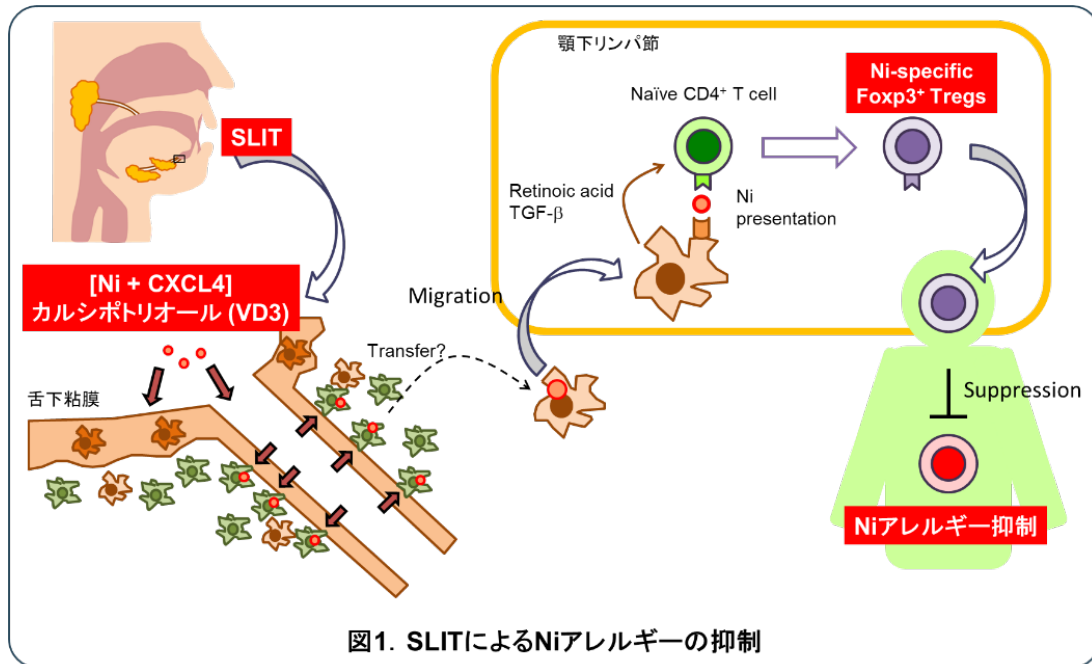
2. SLIT による Ni アレルギーの治療効果

最後に、[Ni + CXCL4] の SLIT による Ni アレルギーの治療効果を検討した。Ni アレルギーを誘導したマウスに SLIT を計 6 回施し、2 回目のチャレンジを行った。その結果、[Ni+CXCL4] の SLIT は、2 回目チャレンジによる耳介の腫脹を抑制しなかった。これに対し、SLIT にビタミン D3 誘導体であるカルシポトリオールを添加することにより、2 回目チャレンジによる耳介の腫脹が有意に抑制され、Ni アレルギーに対する治療効果が認められた。この治療効果は、2 回目チャレンジの 6 か月後に行った 3 回目チャレンジにおいても認められた。これらの結果から、カルシポトリオール添加により SLIT が増強され、一時的な減感作ではなく、持続的な免疫寛容が誘導されたことが示唆された。

[まとめ]

本研究では、1) Ni 結合タンパク質である CXCL4 と Ni を用いた SLIT により、Ni アレルギーが抑制されること、2) この抑制効果は顎下リンパ節で誘導された Treg に依存すること、3) ビ

タミンD3誘導体であるカルシポトリオールがSLITの治療効果を増強することを示した(図1)。ビタミンD3にはTh1分化の抑制やTreg誘導能に加え、MHCクラスIIや共刺激分子の発現が抑制された免疫寛容的性質を持つ樹状細胞の誘導など、様々な免疫制御作用が報告されている。カルシポトリオールによるSLIT増強の詳細なメカニズムは現在解析中である。今後は、他の金属



アレルギーへの応用なども検討し、将来的な臨床応用に繋げていきたいと考える。

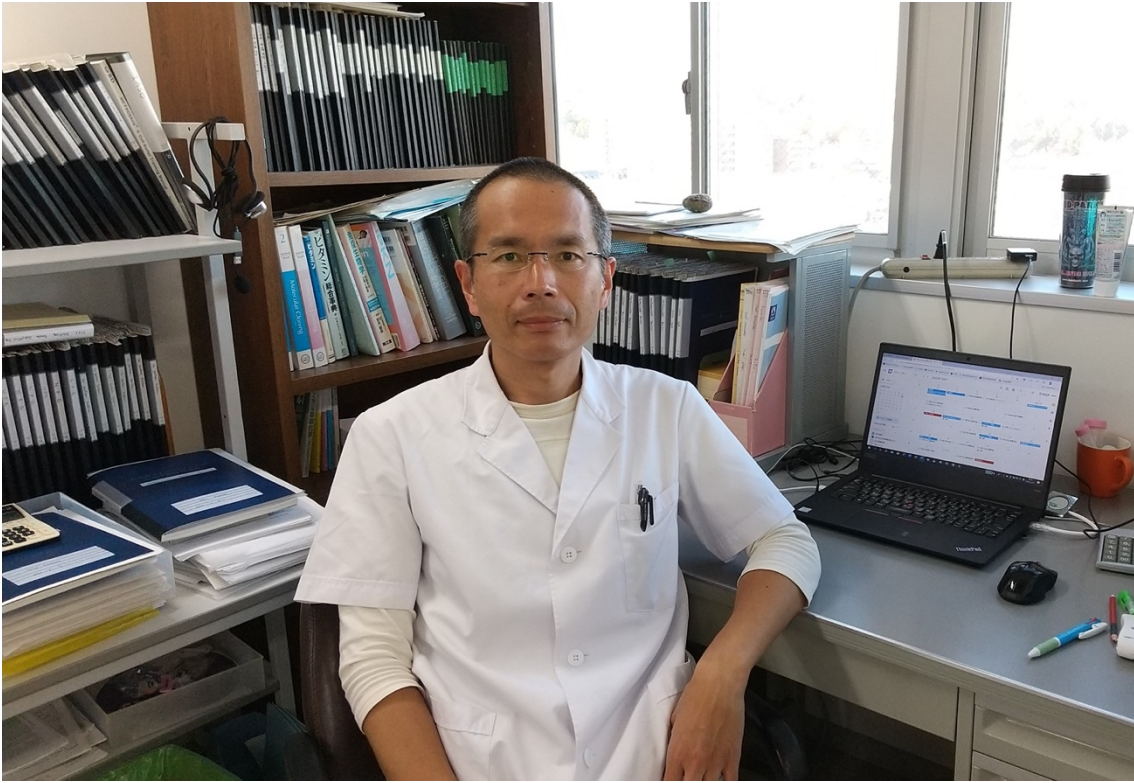
【謝辞】

この度は、第29回日本免疫毒性学会学術年会において年会賞をいただき、大変光栄に存じま
す。年会長の小島弘幸先生ならびに選考委員の諸先生方に深く感謝いたします。金属アレルギー
は古典的なIV型アレルギーとして免疫学の教科書にも掲載されていますが、金属イオンの抗原
提示機構など、その本質はいまだ解明されていません。今後もさらに研究を継続、発展させ、金
属アレルギーの本質解明に取り組んでいきたいと思ひます。引き続き免疫毒性学会の諸先生方
のご指導・ご鞭撻を頂戴できれば幸いです。

本研究は、東北大学大学院歯学研究科口腔分子制御学分野で実施されたものであり、菅原俊二
教授をはじめ、研究室メンバーの皆様にご心より御礼申し上げます。

【自己紹介】

1997年北里大学大学院衛生学研究科修士課程修了。その後、生物系特定産業推進機構の出資
事業であった(株)ティーセル研究所で乳房炎の研究に従事し、その成果をもって2004年に博
士号を取得(日本獣医畜産大学、獣医学博士)。2004年より現所属。「金属アレルギーの病態解
明と予防・治療法の開発」、「口腔粘膜における免疫機構の解明」を主な研究テーマとする。ラボ
では金属アレルギーと格闘し、自宅ではヘビメタルを愛聴する、「金属」にあふれた毎日です。



黒石智誠先生



第 29 回日本免疫毒性学会学術年会 学生・若手優秀発表賞

単層カーボンナノチューブと多層カーボンナノチューブに対するマクロファージ炎症応答解析

山口慎一郎 (立命館大学薬学研究科 博士前期課程 2 年免疫微生物学研究室)

1. はじめに

この度は学生・若手優秀発表賞をいただき、大変ありがとうございます。これを励みに博士後期課程に進学してさらに研究に精進したいと思います。私は立命館大学薬学研究科免疫微生物学研究室に所属し、中山勝文先生にご指導いただき、環境微粒子に対するマクロファージ応答分子機構の解明を行なっています。現在、とりわけその安全性が問題となっているカーボンナノチューブに焦点をあてて研究に取り組んでいます。本稿では、その研究成果の一部を紹介させていただきます。申し訳ございませんが、発表内容はまだ論文発表していないため、一部のタンパク質名を伏せて紹介させていただくことをご了承願います。

2. 研究内容

近年のナノテクノロジーの発展に伴い、多種多様なナノ材料が開発されています。その中でもカーボンナノチューブ (CNTs) は炭素からなるナノ材料であり、医薬やバイオ、エネルギー分野、電気電子分野など様々な分野で使用されています¹⁾。カーボンナノチューブは数種類あり、複数層に重なった多層 CNTs (MWCNTs) は、動物実験においてアスベスト様の毒性が報告されています²⁾。単層 CNTs (SWCNTs) は MWCNTs よりも毒性が低いと考えられており、ドラッグデリバリーに応用する研究が報告されています³⁾。

しかし、これら CNTs が生体内でどのような受容体によって認識されているかはよく分かっていませんでした。私たちの研究グループは、前年の本大会で T cell immunoglobulin mucin (Tim) 4 が CNT 受容体として機能することを報告しました⁴⁾。しかし Tim4 は一部のマクロファージにしか発現しておらず、またヒトでの Tim4 の発現はよくわかっていません⁵⁾。そのため私たちは、Tim4 以外に CNTs を認識する受容体が存在するのではないかと考えました。Tim4 と CNTs の認識には、Tim4 の細胞外の芳香族アミノ酸クラスターが必須であることが判明しました⁴⁾。この結果から私たちの研究グループは、Tim4 と同様に芳香族アミノ酸クラスターをもつ受容体の *in silico* 探索を行ない、新たなヒト CNT 受容体として CNT-R1 を単離しました。そこで本研究では、CNT-R1 を介した SWCNTs および MWCNTs による炎症応答の違いを明らかにすることを目的としました。

まず初めに CNT-R1 による CNTs の認識について、CNT-R1 の細胞外領域と mouse IgG2a の Fc 領域を融合した CNT-R1-Ig 融合タンパク質を作製し解析しました。Tim4 と同様に CNT-R1 は、SWCNTs および MWCNTs を認識することを明らかにしました。次に CNTs は生体内に入るとマ

クロファージに認識されます。しかし CNTs の針状の構造によって完全に取り込むことができず、リソソーム障害を介して炎症性サイトカインの IL-1 β が分泌されます⁶⁾。CNT 取り込み後のリソソーム障害の解析のため、CNT-R1 を発現するヒト単球由来細胞株 THP-1 (CNT-R1/THP-1) に、EGFP と Galectin-3 の融合タンパク質を発現した細胞を樹立しました。Galectin-3 はリソソーム障害がなければ細胞質に発現していますが、リソソーム障害が起きるとそれを修復しようとリソソーム障害箇所を集積します⁷⁾。この Galectin-3 の局在の変化を蛍光顕微鏡で解析しました。その結果、MWCNTs では Galectin-3 がドット上に現れることでリソソーム障害が起きており、SWCNTs では細胞内に取り込まれるがリソソーム障害が起きていないことを明らかにしました。さらに炎症性サイトカインの分泌量を解析しました。CNT-R1/THP-1 に SWCNTs および MWCNTs で刺激し、ELISA で IL-1 β および IL-8 の分泌量を解析しました。その結果、MWCNTs は IL-1 β および IL-8 の分泌を誘導しました。それに対して SWCNTs は IL-8 の分泌を誘導し、IL-1 β の分泌は誘導しませんでした。以上の結果をまとめると、CNT-R1 は MWCNTs と SWCNTs を認識することを明らかにしました。また詳細は省略しますが、CNT-R1 のシグナル伝達には spleen tyrosine kinase (Syk) が重要であることを確認しています。MWCNTs は CNT-R1 から Syk を介して IL-8 および IL-1 β の分泌を誘導することを明らかにしました。SWCNTs は CNT-R1 から Syk を介して IL-8 の分泌を誘導することを明らかにしました。以上のことから CNT-R1 はヒトにおいて CNTs に応答して炎症を引き起こすマクロファージ受容体であることが示唆され、現在その機能解析を進めています。

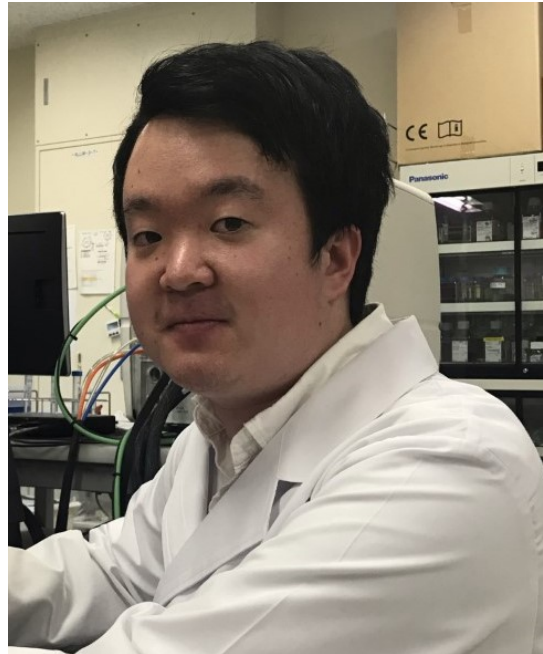
3. 謝辞

第 29 回日本免疫毒性学会学術年会において学生・若手優秀発表賞に選出していただき、本年会の年会長である小島弘幸先生、並びに選考していただいた先生方に感謝申し上げます。

最後になりますが、本研究を進めるにあたってご指導いただいた立命館大学薬学部の中山勝文先生に感謝申し上げます。また CNT 受容体の *in silico* 探索を行なっていただいた立命館大学生命科学部の笠原浩太先生に感謝申し上げます。

4. 参考文献

- 1) De Volder et al., *Science*, vol. 339, pp535-539, 2013.
- 2) Poland et al., *Nat. Nanotechnol.*, vol. 3, pp423-428, 2008.
- 3) Genady et al., *ACS Appl. Nano Mater.*, vol. 3, pp11819-11824, 2020.
- 4) Omori et al., *Cell Rep.*, vol. 34, pp108734-108754, 2021.
- 5) Kobayashi et al., *Immunity*, vol. 27, pp927-940, 2007.
- 6) Franklin et al., *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 34, pp173-202, 2016.
- 7) Maejima et al., *Embo J.*, vol. 32, pp2336-2347, 2013.



山口慎一郎先生



第 29 回日本免疫毒性学会学術年会 学生・若手優秀発表賞

環境中微粒子が COVID-19 関連タンパク質の発現と機能に与える影響

大森一生（京都大学大学院工学研究科 環境衛生学講座 修士 2 年）

この度、第 29 回日本免疫毒性学会学術年会において発表の機会を頂いたことに加え、学生・若手優秀発表賞を賜りました。身に余る光栄であり、年会長の小島弘幸先生ならびに審査委員の先生方に、この場をお借りし深く感謝申し上げます。

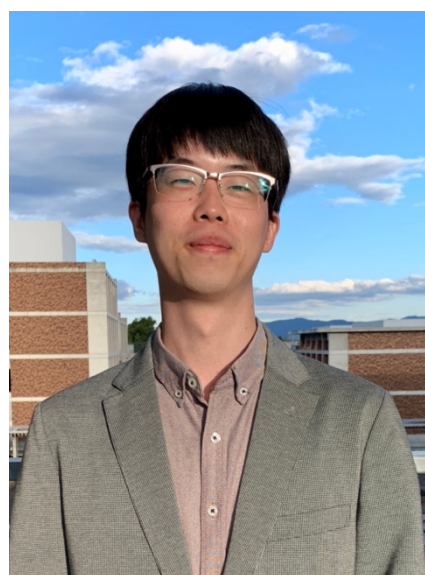
私は高校時代にシーア・コルボーン著『奪われし未来』を読み、環境中の合成化学物質が人体の健康に影響を与えている可能性があることに強い衝撃を受け、環境問題について広く学ぶことを志し大学へ進学いたしました。現在所属する環境衛生学講座では、高野裕久先生のご指導の下、大気中に存在する環境汚染物質、中でも環境中微粒子が生体に与える影響について研究しております。ここでは、私の研究テーマであります新型コロナウイルス感染症（COVID-19）と環境中微粒子の関連についてご紹介させていただきます。

新型コロナウイルスの感染拡大以降、大気汚染物質、とりわけ粒子状の形態をとる物質と COVID-19 との関連についての疫学調査が実施されてまいりました。そして、特に PM2.5 や PM10 に短期・長期にわたって曝露されることにより、COVID-19 の発症率や重症化率そして死亡リスクが増加することが数多く報告されています (*Environ. Res.*, **203**, 111930, 2021)。環境中微粒子が COVID-19 の発症等に影響を与える機構として、PM2.5 等の粒子にウイルスが付着し拡散するという説や、大気汚染物質に慢性的に曝露されることにより肺の機能や免疫機能が低下し、ウイルス感染に対し脆弱になっているという説が提唱されていますが、詳細については明らかとなっておりません。

我々の研究グループでは、新型コロナウイルスの細胞内へのエントリー経路に着目しています。新型コロナウイルスはウイルス表面に存在する S タンパク質と宿主細胞表面に発現した ACE2 が結合し、さらにタンパク質分解酵素である TMPRSS2 により S タンパク質が切断を受けることで宿主細胞との膜融合が進行し、ゲノム RNA を宿主細胞内へ侵入させます。これまでに当研究グループでは、日本国内の一般大気から捕集した PM2.5 をマウスへ気管内投与し、肺組織中の II 型肺胞上皮細胞において ACE2 と TMPRSS2 の発現量が増加することを明らかにしました (*Environ. Res.*, **195**, 110722, 2021)。しかしながら、実環境中の PM2.5 は様々な成分を含む混合物であるため、どのような成分が影響を与えるのかについて不明でした。さらに、ウイルスの細胞内侵入過程においては ACE2 と TMPRSS2 が活性を保っている事が重要ですが、マウス肺組織における ACE2 と TMPRSS2 の機能の変動については評価できていませんでした。

そこで現在、ヒト肺胞上皮由来の培養細胞に対して、酸化チタン粒子 (TiO₂)、ディーゼル排気粒子 (DEP)、黄砂 (ASD) という特性の異なる環境中微粒子を曝露した際の ACE2 と TMPRSS2 の発現と機能に与える影響について検討を行っています。TiO₂ は触媒活性を有するナノ粒子として、塗料や化粧品など身の回りの製品に使用されています。DEP はディーゼル燃料の不完全燃焼により生じ、炭素コア粒子に硫酸塩や硝酸塩、多環芳香族炭化水素や金属など多様な成分が吸着しています。また、ASD は中国大陸内陸部の乾燥地域由来の土壌鉱物粒子で、細菌や真菌などに由来する毒性分子が吸着していることが特徴です。本研究では、我々が日常的に曝露されるこれらの環境中微粒子のいくつかは ACE2 と TMPRSS2 の発現や機能を増強することを明らかにし、環境中微粒子が新型コロナウイルスの細胞内侵入さらに COVID-19 の発症等を促進させるメカニズムの一端を示しました。今後は、細胞表面における発現量変動メカニズムの解析や、発現や機能を制御する方法の探索などを進めていく所存です。

最後になりますが、本研究を進めるにあたりまして、日頃よりご指導いただいている高野裕久先生および環境衛生学講座の皆様、そしてこの度の学術年会の発表に際して貴重なご質問ご助言をいただいた先生方に深く感謝申し上げます。



大森一生先生

免疫毒性に関する Adverse Outcome Pathway (AOP) の開発

杉本潤一郎 (試験法委員会 AOP 検討小委員会)

この度は日本免疫毒性学会 *ImmunoTox letter* へ執筆の機会を頂き厚く御礼申し上げます。本年度の学術年会の総会におきましてご報告させていただきました試験法委員会 AOP 検討小委員会の活動の成果として、昨年 10 月に OECD に承認された免疫毒性に関する AOP (adverse outcome pathway on inhibition of calcineurin activity leading to impaired T-cell dependent antibody response) につきまして、開発から承認に至る経緯を紹介させていただきます。

AOP は標的分子への作用である分子開始イベント (molecular initiating event: MIE) から始まり、主要イベント (key event: KE) を介して最終の有害影響である有害性発現 (adverse outcome: AO) の間の因果関係の経路に関する既存の知識を記述し、つなぎ合わせた概念的なフレームワークであるとされています。

化学物質の安全性評価には、迅速かつ低コストで高精度の評価法が求められ、更に動物福祉の観点から動物実験代替法の必要性が高まっていることから *in vitro* および *in silico* の試験法の開発及び OECD におけるテストガイドライン化が急速に進んでおり、“試験と評価のための統合的アプローチ (integrated approaches to testing and assessment: IATA)”が必要とされています。IATA を用いた安全性を評価では、AOP に基づいて *in silico*、*in vitro* 及び *in vivo* の情報を組み合わせて化学物質の安全性を評価し、対象となる毒性エンドポイントの AOP がその理論的基盤になるため、現在様々な毒性に関する AOP が開発されています。

本邦の AOP 開発は、厚生労働行政推進調査事業費補助金化学物質リスク研究事業のもとに研究班が組織されて複数の AOP の開発が進められています。その中の免疫毒性に関する AOP 開発を本学会が担当することとなり、2015 年 1 月に試験法委員会 AOP 検討小委員会を立ち上げ、私も委員として参加させていただきました。

まずは、タクロリムス (FK506) による免疫抑制に関する AOP の開発を目指し、試験法委員会の先生方からのご助言をいただきつつ、小委員会の先生方と共に作業を進めてまいりました。当初は AOP に関する情報や OECD の承認に至った AOP が少なく、ユーザーズハンドブックも整備されていなかったことから、開発の進め方に四苦八苦しつつ進めていた記憶がございます。文献調査より得られた知見を AOP テンプレート及び AOP-Wiki の入力フォームに則り、分子レベル、細胞レベル、組織レベル、臓器レベル等それぞれの階層において重要なイベントを抽出・整理し、KE の測定法、KE 間の関連性 (KE relationship: KER)、その妥当性に関するメカニズムや種差等を含む情報を集積し、2016 年 6 月に AOP-Wiki へ「The Adverse Outcome Pathway on binding of FK506-binding protein 12 (FKBP12) by calcineurin inhibitors leading to immunosuppression」として登録致しました。

手探り状態から開始したこともあり、編集作業を通じて MIE、KE 及び AO の設定の重要性、MIE から AO に至る経路と関与する KE 及び KER を明らかにすることにより、AO に対して何

を評価すべきかが明確になり、それぞれの知見の重み付け (weight of evidence) がなされ、問題とする毒性事象をより整理された形で見ることができるようになることを学びました。また、AOP は化学物質ごとではなく MIE ごとに作成されること、AOP テンプレート及び AOP-Wiki の入力項目が違うこと (AOP-Wiki にはより多くの詳細な情報の入力が必要)、免疫抑制につながる経路は単純ではなく MIE から AO に至る AOP を構成する KE とそれ以外 KE に分けられ関連性が不明瞭な事象についてどう扱うのか等、対応に大変苦労致しました。

最初の review となる 2017 年 3 月の internal review においては、reviewer より MIE は化合物特異的であるべきではないこと (より一般的な記載とし他の AOP での利用を考慮すべき)、登録時に苦慮した MIE から AO に至る AOP を構成する KE とそれ以外 KE に関する記載の重みづけの曖昧さ、KER の記載の不十分さ、AOP では AO も一つであるべき等の指摘を受け、MIE を「FKBP12 の FK506 (Stressor) との結合」から「calcineurin 阻害」に変更し、FK506 以外の Stressor も追加致しました。また、AO も「移植拒絶反応の抑制、アトピー性皮膚炎改善、易感染性」から、規制上の重要な評価項目である「T-cell dependent antibody response (TDAR) の抑制」に絞り各 KE の内容をより T 細胞の記載に限定させ、MIE から AO に繋がる経路の確実さを補填するため各 KER の記載を充実させる等対応し、Internal review を通過することが出来ました。

2020 年 2 月の external review においては、更に Stressor に一般化学物質情報を増やすことを指摘されたため各 KE (MIE、AO 含む) における Stressor を更に追加し、IL-2 と IL-4 の産生抑制が AO である TDAR につながる点について、文献情報が乏しいことから関係性が弱いとの指摘も受け、IL-4 を削除して IL-2 のみの記載にすることも検討致しましたが、その後の文献調査による追加情報により IL-4 の産生抑制も TDAR の抑制要因として残すこととなりました。また、TDAR の阻害は CN 阻害剤のみならず、非医薬品を含めて多くの因子により様々な経路で抑制されるが、これらについて記載されていない (これらも評価できる AOP であるべき) との指摘も受けましたが、本 AOP としては MIE が限定されるので、様々な機序による TDAR 抑制を評価できる AOP を開発することは難しい旨を追記し、これらの対応により external review を通過することが出来ました。

最後に、AOP 承認前に OECD におけるパブリックコメントの募集が実施され、TDAR アッセイの方法をガイドラインごとに詳細に記載すること、本 AOP のみで in vivo 免疫毒性試験が免除される IATA を構築するのは困難であるものの本 AOP と同様にいくつかの TDAR 抑制を AO とする AOP を組み合わせてネットワークを形成して IATA 開発に活用されるべきであること、本 AOP の EU 地域での規制上の重要性についても記載すること等の指摘を受け、それらに対応後、2021 年 10 月 15 日に OECD の AOP プログラムにおいて初めての免疫毒性に関する AOP として登録され、OECD の iLibrary にも収載されました。

各 review を通じて、特に KER の記載 [KE 間の生物学的関係、前後関係 (用量、反応時間、発生頻度等)、関係の不確実な部分、前後の KE 間における閾値・用量反応性、上流 KE の変動から下流 KE の変動が生じる時間関係、KE 間の用量反応関係を変動させる当該 AOP 以外の要因、下流 KE の変動から上流 KE の変動させるポジティブ・ネガティブフィードバック] の充実

を求められた印象が強く残っています。また、Stressor に一般化学物質情報の追加することを含めた、より一般的・汎用的な AOP の作成を reviewer から要望される印象はありましたが、当初より本プロジェクトにおいては免疫毒性の AOP 作成を主目的としている背景から、本 AOP のみですべてを網羅することは難しく複数の AOP のネットワークを構築することで達成できると考えていたため、reviewer にはその意思を伝え AOP にもその旨を記載することが重要であると感じました。

現在では、コーチ制度（開発初期段階から EAGMST のメンバーの先生がコーチとして支援していただき、ユーザーズハンドブックの要件が満たされていることや scientific review を受けることができることを保証するコンプライアンスチェックを実施）の導入や、review 制度の変更（internal/external review が scientific review に変更）等、開発当初から様々な変更点がございませう。また、本委員会では、現在、免疫抑制に関する 2 つの AOP と免疫活性化に関する 2 つの AOP の開発を小委員会の先生方とともに承認に向け開発を進めているところでございませう。

本 AOP の開発において得られた経験や様々な AOP に関する情報を、現在 AOP を開発している/しようとしている先生方と広く共有できるように、また、更なる AOP の開発に貢献できるように尽力させていただければ幸いでございませう。

今後とも免疫毒性学会の諸先生方に於かれましては、ご指導ご鞭撻のほど賜りますようお願い申し上げます。



世界の免疫毒性研究者へのインタビュー 第11回

- Real Voices of International Immunotoxicologists -

みなさん、こんばんは。すっかり秋も深まり早くもサンタの足音が聞こえる季節となりました。2022年は、3年ぶりに学術年会を現地にて開催することができ、そして海外から講師も招聘され、晴れてこのコーナーも復活することができました！みなさまお待たせしました！このような点からも、現地開催であるから叶う人と人の交流、つながり、を作ることができるのだと、改めて噛みしめます。さて、今回は札幌にてご講演下さいました Jamie DeWitt 先生にインタビューさせていただきました。寄せて下さった御返事には、今回の学術年会へ参加された御感想や御礼、初めての日本への渡航を on off 楽しまれている様子、そしてご講演からも伝わった PFAS の免疫毒性に関する研究への情熱が Exciting に伝わってきます。素敵な御写真、そして後ろにうつるメッセージにも注目です！記事は英語版 ImmunoTox Letter に御座います。皆様にご一読頂けますと幸いです（学会 HP, Letter ページの右列）。Merry Christmas, and Happy New Year!!

(Y・N 記)

特別名誉会員就任のお知らせ

本年度の日本免疫毒性学会総会にて、特別名誉会員として海外から Jack Dean 博士ならびに Mike Luster 博士の就任が承認されました。両先生は、免疫毒性評価の基礎を築かれ、また米国毒性学会（SOT）Immunotoxicology Specialty Section (ITSS)と本学会との連携にもご尽力されました。おめでとうございます！！

両先生から喜びのコメントをいただいております。英語版 ImmunoTox Letter にございます。こちらもご一読頂けますと幸いです。

(E・K 記)

第 29 回学術大会でのアンケート結果

学術・編集委員会

去る 2022 年 9 月 12 日から 13 日に、札幌にて 3 年ぶりに対面形式で参加者へ下記内容のアンケートを行い 47 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 29 回学術年会欄に掲載いたしますので、併せて是非ご覧ください。

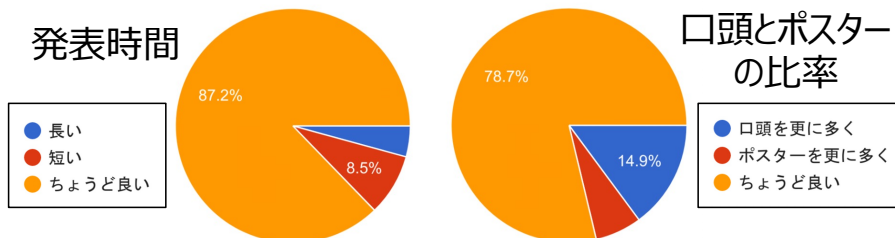
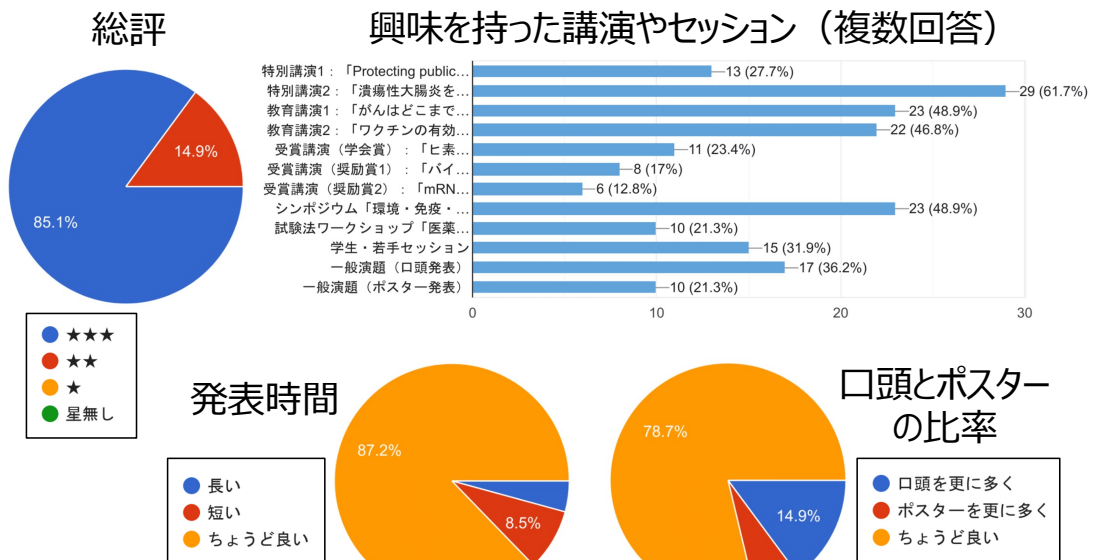
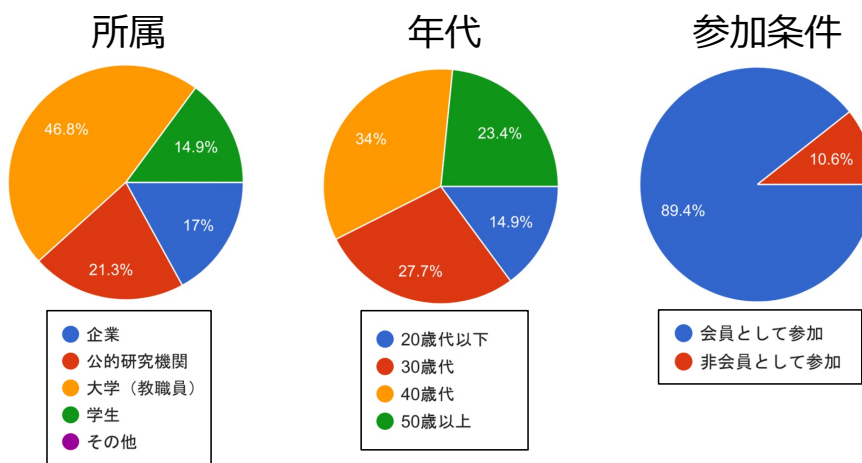
★ アンケートの内容 ★

1. ご所属、年代、参加条件（会員/非会員として）について
 - 1) ご所属について
 - 2) ご年代について
 - 3) 参加条件について
 2. 日本免疫毒性学会学術大会について
 - 1) 今回（第29回、2022年）の学術大会について伺います。
 - ① 3年ぶりの現地開催となりましたが、総評はいかがだったでしょうか。
 - ②-a 興味をもたれた講演やセッションはどれでしょうか？
 - ②-b 上記セッション上記セッション（シンポジウム・試験法ワークショップ・学生若手・一般口演・一般ポスター）の中で特に興味を持たれた演題について聞かせてください。【記述式】
 - ③ 発表時間はいかがでしたか？
 - ④ 口頭とポスターの比率（バランス）はどうでしたか？
 - ⑤ その他ご感想等ありましたら御願います。【記述式】
 - 2) 入会初年度年会費無料制度、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-a 「非会員の入会初年度年会費無料制度」についてご存じでしょうか？
 - ①-b 「非会員の入会初年度年会費無料制度」について要望はありますか？
 - 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、バナー広告主からの情報（事務局送信メール文末のJSIT BLINC News）への興味、その他ご意見等ありましたらご記入下さい。【記述式】
- <その他>
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。【記述式】
 4. ImmunoTox Letter (6月と12月の年に2回発行している学会誌; 日本版と英語版があり、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。【記述式】

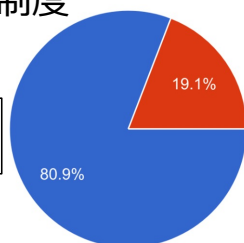
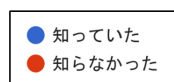
今年は久しぶりの現地開催となりましたが、2 度の Web 開催で慣れたこともあり、アンケートは全て Google フォームから回答を受け取りました。総評は 8 割以上が★3 つであり、残りも★2 つと好評を維持しています。興味を持った講演やセッションでは、特別講演 2 が一位ですが、2 つの教育講演とシンポジウムが 5 割弱の支持を受けて続き、学術年會を多様な視点で参加者が楽しんでいる様子が分かります。発表時間や口頭発表とポスター発表の比率については多くの参加者が満足していますが、一層の工夫の必要性を求める声も聞こえます。非会員の入会初年度年会費無料制度については、既に 8 割で認知されており、要望も少ない状況ですが、裏を返すと新たなキャンペーンによる活性化策の必要性も感じられます。後半の表には、興味を持った講

演やセッションの複数回答の内容や、記述式質問への回答について、年代及び所属に分けて掲載しています。まずは、多くの好評の声が届いており、参加者が満足された学術年会であったことが分かります。そして発表内容についての賞賛の声も多く、学会参加者の研究レベルが年々向上していると参加者が感じていることも読み取れます。その他、学術年会の今後のあり方や、学会の今後の活動や方向性についてなど、様々な建設的な意見も届いています。また、学会媒体である ImmunoTox Letter 誌面の活性化に向けても提案が寄せられています。それらの声を学会役員はもとより会員それぞれで共有し、本学会の一層の発展に一丸となって進めればと思います。

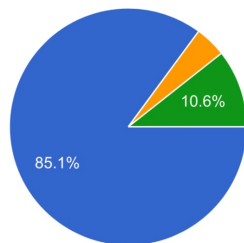
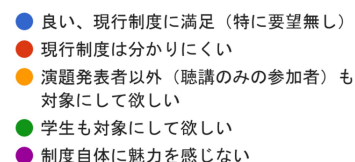
(Y・N 記)



非会員の入会初年度 年会費無料制度 の認知度



非会員の入会初年度 年会費無料制度 についての要望



編集後記

大盛況の第 29 回学術年会から早くも 3 ヶ月が過ぎました。3 年ぶりの対面での学会ということでコロナにも気を配りつつ、準備段階から色々ご苦労があったことと思いますが、参加者の多くが改めて対面の学会の重要さと楽しさを感じ、非常に充実した 2 日間を過ごすことができました。年会長の小島弘幸先生および関係者の皆様の多大なるご尽力に心より感謝いたします。来年は記念すべき第 30 回の年会です。中村亮介先生を年会長とし川崎にて開催です。公開シンポジウムも企画されており、今から非常に楽しみです。

また 10 月より齋藤嘉朗先生が理事長にご就任され、それに伴って各委員会のメンバーも大きく変更になりました。今回から学術編集委員会も新体制となりましたが、ImmunoTox Letter の発行も含め至らない点も多々あるかと思ひます。気分一新で頑張りますので温かく見守りくだされば幸いです。

(E・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：kuroetu@hyo-med.ac.jp