

令和 2 年 12 月 22 日

若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 202080160

氏 名 三好 修也

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。
なお、下記記載の内容については相違ありません。

記

1. 派遣先：都市名 Pirbright (国名 英国)
2. 研究課題名 (和文) : 口蹄疫に対する長期持続防御免疫の賦与に関する研究
3. 派遣期間：令和 2 年 9 月 7 日 ~ 令和 2 年 12 月 8 日 (92 日間)
4. 受入機関名・部局名：Molcular virology group, The Pirbright institute
5. 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

偶蹄目の家畜に甚大な被害をもたらす口蹄疫ウイルス (FMDV) に対するワクチンの評価はこれまで主にワクチン接種した直後における中和抗体価に主に頼ってきた。次世代型ワクチンにおいては長期持続するワクチンの開発は一つの大きな課題である。しかしながら、この中和抗体価は抗原刺激がなければ長期的に持続するものではない。宿主を守る防御免疫を長期的に評価するには、記憶細胞を検出する方法を確立する必要がある。その中で、細胞性免疫を量的に評価できる FMDV 特異的牛 MHC クラス II テトラマーの開発は記憶細胞の検出及び解析に必要である。英国パーブライト研究所では、FMDV 構造蛋白における複数の新しいエピトープを同定し、そのエピトープを認識する FMDV 特異的 CD4 陽性 T 細胞の表現型を解析した。FMDV 特異的 CD4T 細胞の解析には抗原刺激を行い培養した *in vitro* の実験系と採血後凍結保存された末梢血単核球をフローサイトメトリーによって直接解析する *ex vivo* の実験系に分けて行った。抗原刺激で培養したすべての FMDV 特異的 CD4T 細胞系においてヘルパー1 型 T 細胞を示す IFN- γ の産生が認められた。また、同定された四つのエピトープのうち一つを認識する FMDV 特異的 CD4T 細胞においては IL-17A を産生するヘルパー17 型 T 細胞の存在も示唆された。また、最後のワクチン接種から 4 年半以上経つ牛において、各 FMDV エピトープ特異的 CD4T 細胞が、CD4T 細胞 10^6 個中五から数十個ほど存在することが確認された。また、*ex vivo* で解析された大部分の FMDV 特異的 CD4T 細胞がエフェクターメモリー T 細胞もしくはセントラルメモリー T 細胞に属していたが、その割合はエピトープによって特徴があることが確認された。今回の派遣で遂行した長期的に記憶されている防御免疫の直接定量・解析は、FMDV 研究において初の試みであり口蹄疫ワクチンに対する宿主応答への理解を深めるだけでなく、今後のワクチン開発・評価につながるため有意義なものであったと考えている。

6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

【研究成果発表等の見通し】

本研究では牛 MHC クラス II テトラマーによるエピトープマッピング法や長期持続防御免疫細胞の解析によって宿主の口蹄疫ウイルス構造認識や長期持続防御免疫の表現型が明らかにされた。今回の派遣で得られた成果をまとめ、Dr. Julian とメール等で綿密に連絡を取り合い、数か月以内に研究論文として学術誌に投稿する予定である。また、国内・国際学会においても研究結果を報告する予定である。

【今後の研究計画の方向】

① 牛におけるペプチド/MHC クラス II 分子複合体と T 細胞受容体の構造解析

口蹄疫ウイルス特異的 CD4T 細胞のフローサイトメトリーによるシングルセルソーティング及び T 細胞受容体 mRNA をシーケンス解析することにより、エピトープを認識する T 細胞受容体の特性を明らかにしていく。さらに他の MHC クラス II 分子における口蹄疫ウイルスのエピトープ同定により、牛の抗原認識における法則性に対する理解を深めていく。牛 MHC クラス II アリルのターゲットとしては多くの牛で保有される BoLA-DRB3*001:01, DRB3*011:01, DRB3*015:01 アリルが候補に挙がるが、すでに牛 MHC クラス II テトラマーの要素である可溶性 MHC class II 分子の発言プラスミドの作製、及び発現・精製を行っている。エピトープと牛 MHCII 分子の組合せの情報は、将来的に未知の病原体に対するエピトープ予測ツールの開発にもつながる。

② 次世代組換えワクチンの評価

現在パーブライト研究所では次世代型組換えワクチンの開発を行っており、来年上半期には次世代組換えワクチンと従来型のワクチンを牛 MHC クラス II テトラマーを用いて評価するための動物実験を計画している。従来の評価法である血清学的評価とともに比較していくことでワクチン接種後の防御免疫形成過程における新たな免疫学的知見が得られることが大いに期待される。

7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

はじめに、本プログラムに採用していただき深く感謝申し上げます。今までに何度か海外に渡航する機会がありましたがどれも短く、腰を据えて研究を進めていくことができていませんでした。今回、コロナ禍の影響でスケジュールを大幅に変更した中での海外渡航でしたが、三か月間海外の研究者と意見を交わしながら実験を試行錯誤しながら進めていくことができ、新しい評価法・実験系を確立させることができました。

受入研究室では、ウイルス感染時における初期宿主免疫との相互作用を分子生物学的に解明する研究を始め、次世代ワクチンの開発、ウイルス複製用細胞の改良等を幅広く行っており、今回の派遣ではワクチンの作製・精製法や口蹄疫ウイルスの取り扱いに至るまで指導していただき、今後の研究における技能の選択肢を格段に広げていただきました。また、パーブライト研究所は口蹄疫ウイルスのリファレンスラボであるほか、様々な動物感染症を専門分野とする研究者が世界中から集まっており、違う分野における研究者の方々と新たな共同研究のプランを話し合う機会にも恵まれました。

海外渡航において言葉の壁はありますが、研究という一つの目標に向かうのでコミュニケーションも取りやすく、それに伴い普段の会話における不安についても解消されていきました。近い将来再び海外における研究生活を送り、さらに国際的な研究視野を深めていきたいと考えるようになりました。