

4. 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に対する長期獲得免疫成立機構の解明

名古屋大学大学院医学系研究科 微生物・免疫学講座 分子細胞免疫学 教授 西川 博嘉

概要

本研究は新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)に対する免疫応答を詳細に検討することで SARS-CoV-2 に特徴的な長期の獲得免疫応答の成立機構を解明し、より効果的なワクチンおよび治療法を最適化することを目的として解析を行なった。健康人の SARS-CoV-2 ワクチン接種者から血液を採取し、単離した CD8+T 細胞を SARS-CoV-2 スパイクタンパク質由来ペプチドで刺激した結果、CD8+T 細胞の活性化が誘導されることが明らかとなった。SARS-CoV-2 スパイクタンパク質ペプチドのうち高い反応性を示したペプチドを用いてペプチド/MHC マルチマーを作成し、SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞を同定した。さらに、同定した SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞の免疫学的フェノタイプをシングルセルレベルで網羅的に分子発現解析した結果、誘導された SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞は慢性感染や急性感染により誘導される T 細胞のフェノタイプとは異なり、特徴的な表現型をもつことを見出した。今後、さらに SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞の機能変化の解析を進め、SARS-CoV-2 に特徴的な長期獲得応答の成立機構を明らかにしていく。

貴財団の研究助成により、SARS-CoV-2 特異的免疫応答解析を円滑に進めることができたことに深く感謝申し上げます。

背景および目的

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は世界規模で感染拡大を引き起こし、人類にとり大きな脅威をもたらし、医療現場だけでなく、社会全体に影響を及ぼした。現在、ワクチンによる予防策とともに、適切な治療により重症化の抑制が可能になりつつある。一方で、SARS-CoV-2 に対する抗体が宿主において持続的に維持されないこと等も問題となっており、適切な持続的ウイルス抵抗性獲得のための中和抗体の形成につながる B 細胞活性化の誘導やウイルス感染細胞の排除を担うウイルス特異的 T 細胞応答の解明が喫緊の課題である。本研究では、SARS-CoV-2 に対する獲得免疫応答、とりわけ細胞性免疫応答に着目し SARS-CoV-2 に対する長期 T 細胞免疫応答の成立機構の解明に取り組み、より効果的なワクチンおよび治療法の最適化につなげることを目的とした。

方法

SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞応答を解析するため、日本人に代表的な HLA ハプロタイプ HLA-A*02:01 および A*24:02 (この 2 つで日本人の約 70%を占める) に着目し、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質配列から HLA-A*02:01 および A*24:02 に抗原提示される CD8+T 細胞エピトープを *in silico* で予測した (図 1)。SARS-CoV-2 ワクチン接種者 (健康人) の検体はワクチン接種前、接種後 2 週間、3 ヶ月、6 ヶ月時に末梢血を採取し、これまでに 200 以上の血液検体を収集した。収集した血液検体について HLA タイプを解析した。HLA-A*02:01 または A*24:02 をもつ SARS-CoV-2 ワクチン接種者の末梢血単核細胞(PBMC)から CD8+T 細胞を単離し、各々 HLA-A*02:01 または A*24:02 の SARS-CoV-2 スパイクタンパク質のエピトープ (ペプチド) で刺激し、SARS-CoV-2

ペプチド特異的 T 細胞の誘導を試みた。SARS-CoV-2 スパイクタンパク質由来ペプチドのうち高い反応性を示したペプチドについて、ペプチド/MHC マルチマーを作成し、SARS-CoV-2 特異的 T 細胞を同定した。同定した SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞について免疫学的フェノタイプをシングルセルレベルで網羅的に解析した。本研究は名古屋大学大学院医学系研究科医学部附属病院の生命倫理審査委員会の承認を得て行った。

結果および考察

HLA-A*02:01 または A*24:02 を持つ SARS-CoV-2 ワクチン接種者の CD8+T 細胞を予測された SARS-CoV-2 スパイクタンパク質エピトープペプチドで刺激し、IFN- γ および TNF α 産生を細胞内サイトカイン染色し、フローサイトメトリーにより解析した。その結果、予測された SARS-CoV-2 スパイクタンパク質のペプチドにより CD8+T 細胞が活性化し、とりわけ、HLA-A* 02:01 をもつ CD8+T 細胞は S269 (YLQPRTFL) ペプチド、また、HLA-A*24:02 では S448 (NINYLRL) ペプチドにより高い反応を示すことが明らかとなった (図 2)。そこで、SARS-CoV-2-S269 ペプチドおよび SARS-CoV-2-S448 ペプチド/MHC マルチマーを作成し、S269 ペプチドまたは S448 ペプチド刺激により誘導される SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞を同定した (図 3)。さらに、SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞の免疫学的フェノタイプを、慢性感染を示すサイトメガロウイルス (CMV) および急性感染を示すインフルエンザウイルス (Flu) 特異的 CD8+T 細胞と比較検討した。その結果、SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞は、CMV や Flu といった他のウイルス感染と比較し、より多様な亜集団からなることが明らかとなった (図 4)。このことから、SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞は他のウイルス感染により誘導される CD8+T 細胞とは異なり、より活性化能の高い性質を持つ可能性が示された。今後、さらに、HLA-A*02:01 および A*24:02 を持つ SARS-CoV-2 ワクチン接種者について継続的な SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞の機能変化を解析し、SARS-CoV-2 に対する長期獲得免疫の成立機構の解明に取り組み、より最適なワクチンの開発に繋げる。

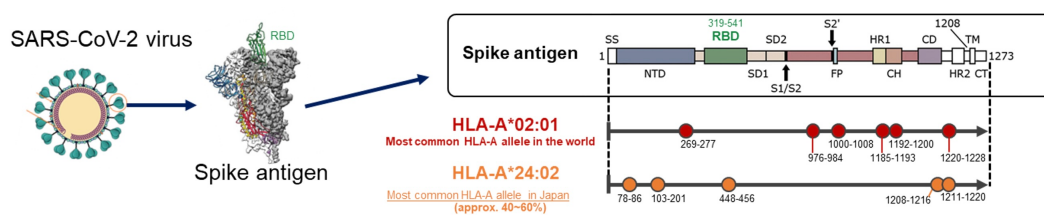


図 1. SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の予想される HLA-A*02:01 または HLA-A*24:02 拘束性エピトープ部位。

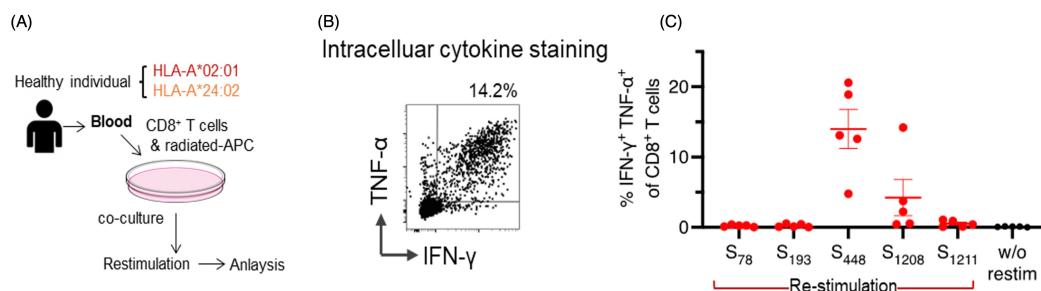


図 2. SARS-CoV-2 スパイクタンパク質由来ペプチドにより CD8+T 細胞の活性化が誘導される。

(A) HLA-A*02:01 または A*24:02 を保有する SARS-CoV-2 ワクチン接種者の PBMC から CD8+細胞を分離し、図 1 で予測した SARS-CoV-2 スパイクタンパク質エピトープで刺激した。(B) 刺激後、CD8+T 細胞の IFN- γ 及び TNF α 産生をフローサイトメトリーにより解析した。(C) HLA-A*02:02 保有 CD8+T 細胞の各ペプチド刺激後の IFN- γ +TNF α +産生細胞割合。

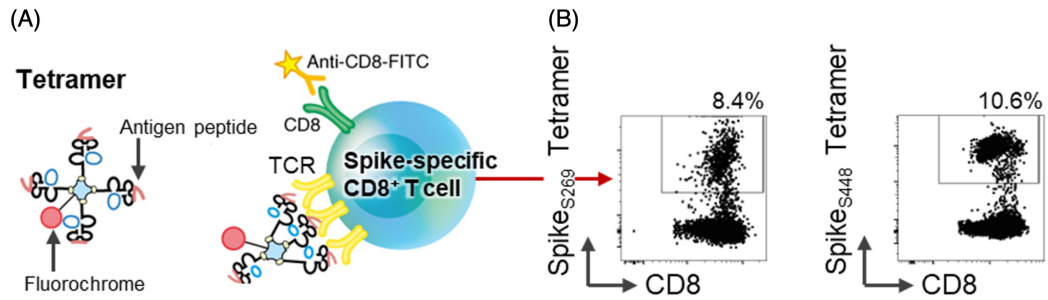


図 3. SARS-CoV-2 ペプチドにより SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞が誘導される.

(A) SARS-CoV-2 スパイクペプチド/MHC テトラマーを作製し、SARS-CoV-2 ワクチン接種者の HLA-A*02:01 保有 CD8+ T 細胞を SARS-CoV-2-S269 ペプチド、または HLA-A*24:02 保有 CD8+ T 細胞を SARS-CoV-2-S448 ペプチドで刺激後、各ペプチド/MHC テトラマーを用いてペプチド特異的 CD8+ T 細胞を検出した。(B) SARS-CoV-2-S269 または SARS-CoV-2-S448 特異的 CD8+ T 細胞割合。

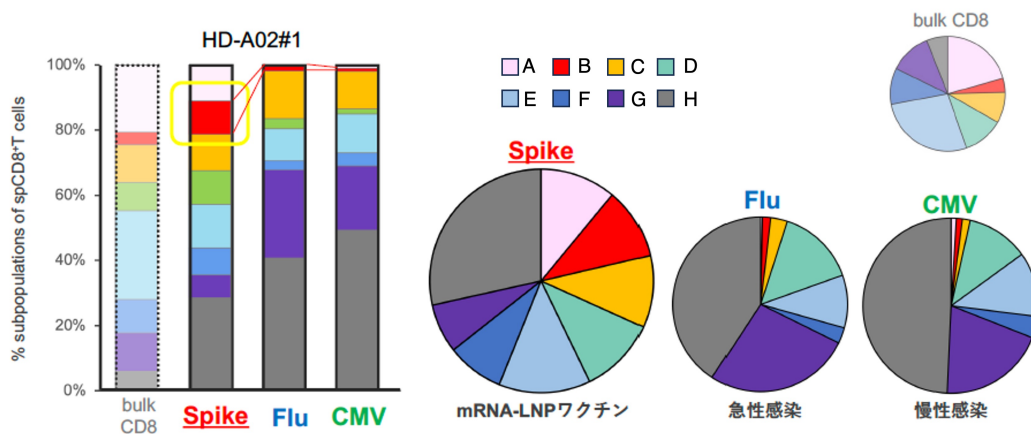


図 4. SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞は他のウイルス感染とは異なる免疫フェノタイプを示す.

HLA-A*02:01 を保有する SARS-CoV-2 ワクチン接種者の CD8+T 細胞を SARS-CoV-2 ペプチド、Flu ペプチドおよび CMV ペプチドで刺激後、各ペプチド特異的 CD8+T 細胞の免疫フェノタイプをフローサイトメトリーにより解析した。

(完)