

別紙 HP 公開資料

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 関連 国際緊急共同研究・調査支援プログラム (J-RAPID) 終了報告書 概要

1. 研究課題名：「SARS-CoV-2 特異的な免疫記憶の形成と維持機構の解析」
2. 研究期間：2020年7月～2021年3月
3. 主な参加研究者名：

日本側 (研究代表者を含め6名までを記載)

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	村上 正晃	教授	北大遺伝子病制御研究所 分子神経免疫学分野	日本国側の研究の統括と実施
共同研究者	今野 哲	教授	北大医学研究院呼吸器内科学教室	COVID-19患者末梢血の提供
共同研究者	田中 くみ子	研究員	北大遺伝子病制御研究所 分子神経免疫学分野	COVID-19患者末梢血単核細胞の解析
共同研究者	村上 薫	大学院生	北大遺伝子病制御研究所 分子神経免疫学分野	COVID-19妊婦血単核細胞の解析
研究期間中の全参加研究者数			4 名	

相手側 (研究代表者を含め6名までを記載)

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	Simon Fillatreau	Professor Director	Université de Paris Medical Faculty/ Institut Necker Enfants Malades Immunology, Infectiology and Haematology	仏国側の研究の統括と実施
共同研究者	Benoit Manfroi	Post-doctoral scientist (INSERM)	Institut Necker Enfants Malades Immunology, Infectiology and Haematology	COVID-19患者における記憶T細胞とB細胞の解析
共同研究者	Valentine Pottez Jouatte	Post-doctoral scientist (INSERM)	Institut Necker Enfants Malades Immunology, Infectiology and Haematology	COVID-19患者における記憶T細胞とB細胞の解析
研究期間中の全参加研究者数			3 名	

4. 共同研究調査の目的

本共同研究は、COVID-19 回復患者を含む検体においてワクチン開発の基盤となる SARS-CoV-2 特異的な記憶リンパ球の存在や特性を明らかにし、将来の COVID 発生に備えた新しい治療法や人為的な SARS-CoV-2 特異的な記憶リンパ球形成の誘導を可能にする基盤の構築を目的とした。

5. 共同研究調査の成果

5-1 共同研究調査の成果、今後の展開見込、社会への波及効果

本研究では、日本国側は COVID-19 患者由来の T 細胞の性状や回復患者の CD4 T 細胞における SARS-CoV-2 特異的な記憶 CD4 T 細胞の形成・存在を調べ、仏国側は COVID-19 患者の長期追跡によって記憶 CD4 T 細胞や記憶 B 細胞の持続性について調べた。その結果、日本側は、COVID-19 中等症から重症を呈した患者において疲弊老化の表現型を示す CD4 T 細胞分画が疾患の重症化に伴って増加、回復に伴い減少し、当該分画の大多数がエフェクター/記憶 T 細胞の特質を有することを明らかにした。実際に、回復患者の T 細胞はウイルス感染に必須となるスパイク (S) タンパク質に対して強い反応性を示したことから、ウイルス特異的な記憶 CD4 T 細胞は病態の進行に沿って疲弊老化 CD4 T 細胞亜集団より形成される可能性があり、当該集団が COVID-19 の疾患度を測る上で有用な指標となることが示唆された。今後、この分画をさらに分子生物学的に詳細に解析することにより、新しい診断マーカーや COVID-19 に対する新しい治療戦略の開発に資する研究を展開していく。一方で、仏国側では、単一細胞レベルで S タンパク質反応性 B 細胞を同定する技術を開発し、SARS-CoV-2 特異的な記憶 B 細胞が中症度患者に比べて重症患者でより高いレベルで少なくとも 6 か月間持続的に存在すること、またこの記憶 B 細胞集団は感染段階より長期的な成熟を経て、ヒト細胞に侵入する際に重要なウイルス RBD 領域に対する特異性を徐々に獲得しながら形成されることを明らかにした (PMID : 33571429)。さらに、単一細胞レベルでウイルス反応性 CD4 T 細胞の同定を可能にする ARTE 技術を使用し、記憶 CD4 T 細胞が中症度または重度の疾患を患った成人において 1 年間以上持続的に存在することを発見した。現在、これらの細胞の性状を特徴づけている (未発表)。

5-2 国際連携の成果

日仏国際連携の結果、SARS-CoV-2 特異的な免疫記憶細胞は COVID-19 の病態進行に伴い形成され、少なくとも 6 ヶ月間以上にわたって維持されることがわかった。今後、各国ともさらに分子レベルで免疫記憶細胞に特異的なマーカーを同定し、継続的な共同研究の発展により日仏間での免疫記憶細胞の性状差異の調査はもとより、有用なバイオマーカーや治療標的が明らかになるものと期待している。

6. 本研究調査に関連したワークショップ等の開催、主な口頭発表・論文発表・その他成果物（例：提言書、マニュアル、プログラム、特許） 、受賞等（5件まで）

総説	Hirano, T., M. Murakami. COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. <i>Immunity</i> 2020, 52:1-3 doi: 10.1016/j.immuni.2020.04.003
総説	Hojo, S. et al., How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality, <i>Inflamm Regen.</i> 2020, 40:37, doi: 10.1186/s41232-020-00146-3.
原著論文	Sokal A, et al., Maturation and persistence of the anti-SARS-CoV-2 memory B cell response. <i>Cell</i> 2021, 184(5):1201-1213.e14. doi: 10.1016/j.cell.2021.01.050.

Attachment to be posted on HP

**International Urgent Collaborative Projects
Regarding the Coronavirus Disease (COVID-19) within the J-RAPID Program**

1. Title of the Project : ” Molecular mechanism for SARS-CoV-2-specific immunological memory formation and maintenance “

2. Research/Investigation Period : 2020.7~2021.3

3. Main Investigators : Masaaki Murakami

Japanese Team (up to 6 people including Principal Investigator)

	Name	Title	Affiliation	Project role
Principal Investigator	Masaaki Murakami	Professor	Hokkaido University, Institute for Genetic Medicine (IGM), Molecular Psychoimmunology	Research supervision and implementation
Collaborator	Satoshi Konno	Professor	First Department of Medicine, Hokkaido University Hospital	Provision of blood from COVID-19 patients
Collaborator	Kumiko Tanaka	Post-doctoral scientist	Hokkaido University, IGM, Molecular Psychoimmunology	Analysis of T cells in the COVID-19 patients
Collaborator	Kaoru Murakami	Graduate Student	Hokkaido University, IGM, Molecular Psychoimmunology	Analysis of T cells in the COVID-19 pregnant women
Total Number of participating researchers in the project: 4				

Counterpart Team (up to 6 people including Principal Investigator)

	Name	Title	Affiliation	Project role
Principal Investigator	Simon Fillatreau	Professor Director	Université de Paris Medical Faculty/ Institut Necker Enfants Malades Immunology, Infectiology and Haematology	Research supervision and implementation
Collaborator	Benoit Manfroi	Post-doctoral scientist (INSERM)	Institut Necker Enfants Malades Immunology, Infectiology and Haematology	Analysis of memory T and B cells in COVID-19 patients

Collaborator	Valentine Pottez Jouatte	Post-doctoral scientist (INSERM)	Institut Necker Enfants Malades Immunology, Infectiology and Haematology	Analysis of memory T and B cells in COVID-19 patients
Total Number of participating researchers in the project: 3				

4. Objectives and Challenges

In this joint research, we aimed to clarify the existence and characteristics of SARS-CoV-2-specific memory lymphocytes in specimens including COVID-19-recovered patients, which are the basis of vaccine development, thus enabling the provision of new clinical intervention for current and future COVIDs and the formation of SARS-CoV-2 specific memory lymphocytes artificially.

5. Results of the research/survey activities

5-1. Results of joint research. Expected future development, ripple effect on society

In this joint study, we (Japanese group) found that the exhausted/senescent CD4 T-cell fraction increased depending on severity of COVID-19 and decreased in the convalescent patients, and the majority of cells showed effector/memory phenotype. In fact, the T cells in the recovered patients showed strong responsiveness to SARS-CoV-2 spike (S) protein, which is essential for viral infection, suggesting the possibility that virus-specific memory CD4 T-cells may be generated from the exhausted/senescent subset, which may become a useful indicator for measuring the progression of pathology. We also found a similar population present in COVID-19 pregnant women. In the future, by analyzing the exhausted/senescent CD4 T-cell subpopulation at molecular level in detail, we will develop research which contributes to the development of new diagnostic markers and therapeutic strategies for COVID-19. We (French group) also found using a technology enabling the identification of S-reactive B cells at the single cell level by flow cytometry that memory B cells persisted for at least 6 months at higher levels in patients with severe disease compared to those with moderate disease. This response becomes progressively focused on the RBD domain showing a long-term maturation extending beyond the phase of infection (Sokal A. Cell, 2020). In addition, we found using the ARTE technology, which enables the identification of virus-reactive CD4 T cells at the single cell level by flow cytometry, that memory CD4+ T cells persist for more than a year in adults who had either moderate or severe disease and are currently characterizing the properties of these cells (unpublished).

5-2. Added Value from International collaborative work

In this study, we could find that SARS-CoV-2-specific immunological memory cells are formed as the COVID-19 progresses, and are maintained for at least 6 months. In the future, we will further identify markers specific for each memory cell-type at molecular level to develop useful biomarkers and therapeutic targets for COVID-19.

6. Organized workshops/seminars, presentations, papers and other deliverables

Review	Hirano, T., M. Murakami. COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. <i>Immunity</i> 2020 52:1-3 DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.003
Review	Hojyo S. et al., How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality, <i>Inflamm Regen.</i> 2020, 40:37, doi: 10.1186/s41232-020-00146-3.
Original article	Sokal A. et al., Maturation and persistence of the anti-SARS-CoV-2 memory B cell response. <i>Cell</i> 2021, 184(5):1201-1213.e14. doi: 10.1016/j.cell.2021.01.050.