



Title	最適な抗原送達能を有するリポソームアジュバントの粒子設計に関する研究
Author(s)	中西, 剛
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40532">https://hdl.handle.net/11094/40532</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	中 西 剛
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 13803 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用薬学専攻
学位論文名	最適な抗原送達能を有するリポソームアジュバントの粒子設計に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 真弓 忠範  (副査) 教授 馬場 明道 教授 前田 正知 教授 山元 弘

### 論文内容の要旨

近代免疫学は、Jenner や Pasteur のワクチンの成功に端を発し、ようやく今日において、人類がウイルス、細菌、寄生虫などとの想像を絶する永い時間をかけた闘いを通じて獲得した、免疫システムの全容が明らかにされつつある。このように、分子生物学・細胞生物学を基盤として、免疫学が目覚ましい発展を遂げ、種々の感染症と免疫システムとの相互作用に関する膨大な知見が得られているにも関わらず、免疫学発展の立役者となったワクチンの開発は、近代免疫学ほど目覚ましい発展を遂げているとは言い難い。特に安全性の面から注目を集めてきたサブユニット/ペプチドワクチンにおいては、近年、次々と病原体の抗原部位が同定され、その大量生産が可能となるという抗原側の研究・開発の進歩とは裏腹に、それらを利用するためのアジュバント開発は遙かに立ち後れているのが現状である。これまでのアジュバントは、適当なオイルを用いて、抗原の生体内での滞留時間を延長したり、効果が不十分であれば非特異的に免疫系を活性化するというアプローチが主流であった。しかし、免疫システムの活性化において、生体にとって正に働く生体防御反応と負に働く炎症反応は表裏一体であり、従来までのアジュバントでは炎症反応という副作用が常につきまとうという屈辱的な結果に終わっていた。このような従来のアジュバント開発における最大の敗因は、「抗原提示」というワクチンにおいて最も重要なプロセスを考慮しなかったという点にあるのではないだろうか。ワクチン用アジュバントを設計をしていくうえで、ワクチンとなる抗原の抗原提示効率を考慮せずに、いたずらに非特異的な免疫反応を活性化する immunomodulator 機能を第一選択として付与することは、ワクチン効果以前に炎症という悪玉的副作用を招くのは、当然の結果であろう。このような観点から、ワクチン用アジュバントは、徐放化能や標的指向能といった抗原提示効率を上昇させるための機能を有することが、必要不可欠であると言える。すなわち、これらの機能は Drug Delivery System (DDS) の概念そのものであり、抗原を薬物として見立てた場合、アジュバントへのこのような機能付与は、まさにワクチンへの DDS の応用に他ならない。従って、次世代のワクチン用アジュバントが具備すべき条件としては、安全で、かつ前述の DDS 機能を有することが必要不可欠であり、本条件を満たすキャリアーこそが、最適なワクチン用アジュバントの候補と成り得ると考えられる。

本研究では、安全性が高く、かつ様々な機能を付与することが可能な薬物キャリアーとして期待されているリポソームをアジュバントの候補として考え、リポソームが持ち得る DDS 製剤としての機能を最大限にアジュバントとしてのリポソームに反映するためのインデックスについて検討を行ってきた。すなわち、リポソームの表面電荷を陽電荷にするだけで、封入抗原を抗原提示細胞 (APC) に送達し、効果的かつ抗原特異的な細胞性免疫および体液性免疫

反応を誘導できることを示した。また腫瘍モデルにおいてもその効果が認められたことから、腫瘍ワクチンへの応用も期待される。

一方で、サブユニット／ペプチドワクチンが抱える最大の問題は、外来性抗原であるが故に細胞性免疫の誘導能が乏しいという点である。特に、ペプチドワクチンはMHC分子に結合することのできる抗原エピトープのみを用いているため、エンドサイトーシス経路で取り込まれると、エンドソーム内で未知の分解を受ける恐れがあり、MHC class I分子を介した抗原提示は著しく減少してしまい、細胞傷害性T細胞(CTL)を誘導するようなワクチン効果は殆ど期待できない。従って、このような問題を解決するためには、抗原分子をエンドサイトーシス経路を経由せずに、MHC class I抗原提示経路に送達する技術の開発が必要不可欠となってくる。本研究では、封入物質を細胞に傷害を与えることなく、効率よく細胞質中に直接導入することができる膜融合リポソームをワクチンに応用し、この問題の解決を試みた。その結果、膜融合リポソームは抗原分子を効率よくMHC class I抗原提示経路に送達する結果、*in vivo*において効果的に抗原特異的CTLを誘導することが示された。また膜融合リポソームは、自身が有するセンダイウイルス由来の蛋白質の機能と、元来有する高い免疫原性により、生きたセンダイウイルスと同様の生体内挙動をとると考えられ、その結果、封入抗原を効率よくAPCに認識させることも明らかとなった。さらに、膜融合リポソームはキャリアーとしてのみならず、immunomodulatorとしても機能し得る可能性も示唆された。膜融合リポソームはこのような様々な効果を有しており、今後のワクチン用アジュバントとしての応用が期待される。また膜融合リポソームは、直接封入抗原を、一度に大量の細胞の細胞質中に導入できる唯一のキャリアーであることから、今日までその解明が困難であった、内在性抗原のプロセッシング機構等の細胞内動態の解明や、また細胞質内や小胞体内でのペプチドのトリミングを考慮した、最適な抗原ペプチドの構築などの検討をも可能となると考えられる。従って膜融合リポソームは、単なるワクチン開発にとどまらず、ミクロレベルにおける生命現象をも追求可能とするものであり、生命科学の発展への貢献も大いに期待される。

しかしながら、現状における著者の研究は、リポソームをアジュバントとして粒子設計するための指針を示した萌芽的アプローチにすぎない。事実、本研究においては、リポソームを用いて抗原に標的指向性を持たせたにすぎず、徐放性といった効果の持続を念頭に置いたアプローチは残されたままである。今後は、標的指向性と徐放化という全く正反対とも思われるこれらの機能を、同時に実現し得るようなブレイクスルーを求めて、より多くの条件について検討し、さらなるシステム・アップを図っていくことが必要となってくるであろう。

## 論文審査の結果の要旨

本来ワクチン用アジュバントが有すべき機能としては、1) フロイント不完全アジュバントに代表されるW/O型キャリアーの様に抗原蛋白質の安定性を維持しつつ depotとして働く、いわゆる徐放化製剤としての機能、2) 抗原を特定の細胞に積極的に送達し、その細胞で抗原提示させるという標的指向機能、3) 非特異的に免疫反応を活性化することによりワクチン効果を得るといふ immunomodulatorとしての機能、等が挙げられる。有効かつ安全なワクチンアジュバントを設計していく上で、これらの機能をいかに付与すべきかを考えた場合、ワクチンとなる抗原の抗原提示効率を考慮せずに、いたずらに非特異的な免疫反応を活性化することを第一選択とすることは、副作用を招く結果になりかねない。この様な観点から著者は、ワクチンアジュバントがまず最初に具備すべき機能は、徐放化機能や標的指向機能といった抗原提示効率を上昇させるための機能であると考えた。そこで本研究では、安全性が高く、様々な機能を付与することが可能なリポソームをアジュバントの候補とし、その粒子設計を行った。その結果以下の結論が得られた。

- 1) 抗原送達を目的とした陽電荷リポソームは、マクロファージに効率よく取り込まれ、取り込み結果を反映して効果的に抗原特異的免疫反応を誘導した。
- 2) 陽電荷リポソームは腫瘍ワクチン用アジュバントに用いた場合でも、モデル抗原あるいは実際の腫瘍関連抗原による腫瘍モデルにおいて極めて有効であった。
- 3) 著者らが既に開発している膜融合リポソームを用いた場合には、*in vitro*において、封入抗原を直接細胞質中に

導入し、MHC class I 抗原提示経路に送達することが可能であった。また *in vivo* において、膜融合リボソームはフロイント完全アジュバントよりも強い細胞傷害性T細胞誘導能を示した。

4) 膜融合リボソームは、細胞傷害性T細胞のみならず、強い抗体産生誘導能をも示した。

以上のように、本論文はリボソームを効果的な抗原送達能を有するワクチン用アジュバントとして機能させるための概念および方法を提示しており、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものとする。