



Title	DEVELOPMENT OF VACCINE ADJUVANTS USING ANTIGEN-LOADED AMPHIPHILIC POLYMERIC NANOPARTICLES
Author(s)	赤木, 隆美
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46827
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	赤 木 隆 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 20555 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	DEVELOPMENT OF VACCINE ADJUVANTS USING ANTIGEN-LOADED AMPHIPHILIC POLYMERIC NANOPARTICLES (両親媒性高分子からなる抗原固定化ナノ粒子を用いたワクチンアジュバントの開発)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 明 石 満 (副査) 教 授 茶 谷 直 人 教 授 宇 山 浩 教 授 三 浦 雅 博 教 授 井 上 佳 久 教 授 馬 場 章 夫 教 授 神 戸 宣 明 教 授 黒 澤 英 夫 教 授 田 中 稔 教 授 真 嶋 哲 朗 教 授 安 蘇 芳 雄 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科教授 馬場 昌範

論 文 内 容 の 要 旨

本学位論文では、両親媒性高分子の秩序化を利用した高分子ナノ粒子の調製と抗原固定化について検討し、抗原固定化高分子ナノ粒子のエイズワクチンとして有用性について評価した。

第 1 章：コア-コロナ型ポリスチレンナノ粒子を用いた HIV-1 捕捉と免疫誘導効果

マクロモノマー法により、コア-コロナ型ポリスチレン (PSt) ナノ粒子を合成した。レクチンである concanavalin A (Con A) を固定化した PSt ナノ粒子 (Con A-NS) は、熱不活化した HIV-1 を効率よく捕捉することができた。さらに、HIV-1 捕捉ナノ粒子 (HIV-NS) を免疫原としてマウスに経鼻免疫すると、ウイルスの主感染経路である粘膜面に IgA 抗体産生およびウイルスに対する中和活性が検出された。

第 2 章：SHIV 捕捉ナノ粒子を用いたサル免疫・感染防御効果

HIV-NS による抗体産生誘導が実際に感染防御に有効であるかを評価するために、サルを用いた感染防御実験で評価を行った。SHIV-NS を経鼻免疫したサルでは、マウス同様に膣洗浄液に HIV-1 特異的抗体が検出された。これらのサルに感染性を有するウイルスを攻撃接種したところ、血中のウイルス増殖を抑制する効果が認められ、ワクチンとしての有効性が確認された。

第 3 章：新規生分解性ナノ粒子の合成

新規な生分解性ナノ粒子として、納豆菌由来のポリアミノ酸であるポリ (γ -グルタミン酸) (γ -PGA) の両親媒構造を制御することで、ナノ粒子の調製を試みた。疎水化 γ -PGA 誘導体は、水溶液中でポリマー鎖が自発的に会合することで、粒子径約 200 nm のナノ粒子が形成されることを見出した。また、疎水性アミノ酸の導入率を制御することで、粒子径をコントロールすることができた。

第 4 章： γ -PGA ナノ粒子の生分解性評価

γ -PGA ナノ粒子は、*in vitro* での加水分解、酵素分解性が確認され、高い安全性が期待された。粒子を構成してい

る高分子鎖の分解に伴う形状・粒経変化が認められ、最終的には粒子が崩壊することが明らかとなった。

第5章： γ -PGA ナノ粒子の蛋白質キャリアーとしての機能評価

γ -PGA ナノ粒子は、その粒子表面および内部に蛋白質を効率よく安定に担持でき、目的に応じた抗原の固定、修飾が可能であった。蛋白質内包ナノ粒子は、凍結乾燥による保存が可能であり、再分散後も粒子径の変化、凝集、蛋白質の放出は確認されず、蛋白質キャリアーとして優れた性能を有していることが明らかとなった。

本研究では、PSt ナノ粒子の一連の研究をパイロット study と位置づけ、新規生分解性ナノ粒子のワクチンキャリアーとしての可能性を示した。高分子ナノ粒子は protein-based vaccine の欠点を克服でき、安全性と有効性を兼ね備えた普遍性の高いワクチン開発に大きく寄与するものと期待される。

論文審査の結果の要旨

高分子ナノ粒子は粒経を広範囲かつ精密に調製でき、粒子表面や内部構造を容易に制御できるといった利点を有している。そのため、これらのナノ粒子は、塗料、コーティング剤、クロマト担体、化粧品用素材、診断薬担体等で実用化されており、近年では医療分野での応用研究が盛んに行われている。特に、ドラッグデリバリーシステム (DDS) としての微粒子製剤への関心が高まっており、遺伝子治療、ガン治療、再生医療、ワクチン開発への応用が期待されている。ワクチン開発における DDS 技術は、組織および細胞内における抗原の空間的・時間的制御を目的とし、高分子からなるマイクロおよびナノ粒子を用いたアプローチが試みられており、薬物の放出制御、体内動態制御など高度に機能化されたナノ粒子の設計が注目されている。本論文は、両親媒性高分子を基盤とした高分子ナノ粒子の調製と、それらのワクチンキャリアーとしての機能評価を目的としたもので、主な成果を要約すると以下の通りである。

(1)マクロモノマー法により合成したコア-コロナ型ポリスチレンナノ粒子の表面にレクチンを固定化し、このレクチン固定化ナノ粒子 (Con A-NS) が human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) を効率よく捕捉できることを明らかにしている。また、HIV-1 捕捉ナノ粒子 (HIV-NS) のマウス経鼻免疫における HIV-1 特異的な免疫誘導効果を見いだしている。

(2)サルを用いた免疫・感染防御実験により、HIV-NS の経鼻免疫サルにおける感染防御効果を検討し、経膈および経静脈攻撃接種に対するウイルス増殖抑制効果を明らかにしている。この結果より、高分子ナノ粒子ワクチンの有用性を実証し、HIV-NS のエイズワクチンとしての可能性を示している。

(3)納豆菌由来のポリアミノ酸であるポリ (γ -グルタミン酸) (γ -PGA) の両親媒構造を制御することで、粒経約 200 nm の新規な生分解性ナノ粒子の合成に成功している。また、 γ -PGA と疎水性アミノ酸のフェニルアラニン (Phe) からなるナノ粒子の構造解析により、Phe の疎水性相互作用により、コアが形成され、粒子表面には γ -PGA 由来のカルボキシル基が存在することを明らかにしている。

(4) γ -PGA ナノ粒子の *in vitro* での加水分解および酵素分解性を検討し、その生分解性を明らかにしている。さらに、粒子を構成しているグラフト共重合体の分解に伴う、形状・粒経変化、最終的には粒子が崩壊することを明らかにしている。

(5) γ -PGA ナノ粒子は、その粒子表面および内部に蛋白質を効率よく安定に担持でき、目的に応じた抗原の固定、修飾が可能であることを明らかにしている。また、蛋白質内包ナノ粒子は、凍結乾燥による保存が可能であり、再分散後も粒子径の変化、凝集、蛋白質の放出は確認されず、蛋白質キャリアーとして優れた性能を有していることを示している。

以上のように、本論文は高分子ナノ粒子のワクチンキャリアーとしての有用性を明らかにし、抗レトロウイルスワクチン開発の実現に向けて多大な貢献をなすものである。さらに、新規ワクチン開発における、普遍性の高い粒子状アジュバントとしての重要な知見をあたえるものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。