

Title	Manipulation of the Balance of Immune Responses by Nanoparticle Adjuvant Composed of Amphiphilic Poly(amino acid)
Author(s)	島, 史明
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/52195">https://hdl.handle.net/11094/52195</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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 href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 島 史 明 )

論文題名

Manipulation of the Balance of Immune Responses by Nanoparticle Adjuvant Composed of Amphiphilic Poly(amino acid)  
両親媒性ポリアミノ酸からなるナノ粒子アジュバントによる免疫応答の制御

## 論文内容の要旨

人為的に免疫系を制御するワクチン療法は、感染症やがん等の予防・治療に対して有効な手段となり、今日までに様々なワクチン抗原の同定が進んでいる。しかし、抗原の免疫原性が非常に低いために投与しても望むような高いワクチン効果を得ることが困難である。また、ワクチンによって効果的な免疫を誘導するためには、抗原の細胞内での動態を制御する必要があるが従来のワクチンでは困難である。これらの問題を克服するために免疫増強剤であるアジュバントを併用する研究が行われているが、アジュバントを用いた場合でも抗原の細胞内動態の制御は困難である。一方、感染症やがん等を予防や治療のためには、目的に応じた免疫（液性/細胞性免疫）の誘導やその度合いを制御する必要があるが、免疫応答を制御可能なアジュバントの報告例はなく、これを実現する次世代のアジュバントが強く求められている。

このようなアジュバントの実現のために私はナノ粒子（NPs）に着目した。これまでの研究で、水溶性ポリ（ $\gamma$ -グルタミン酸）（ $\gamma$ -PGA）に、疎水化したアミノ酸の  $\iota$ -フェニルアラニンエチルエステル（Phe）を導入した  $\gamma$ -PGA-graft-Phe（ $\gamma$ -PGA-Phe）からなるNPsが、ワクチンキャリアとして有用であることを見いだしてきた。

そこで、疎水化 $\gamma$ -PGAの高分子鎖をさらに設計して種々の性状（親-疎水バランス、疎水基の種類、粒径）を有するNPsを調製することで細胞との相互作用を制御でき、誘導される免疫の種類やその度合いを制御できるナノ粒子アジュバントを構築できると考え、検討した。

第1章では、疎水化 $\gamma$ -PGAの疎水化度や側鎖に導入する疎水基の種類を制御することで免疫応答の制御を検討した。 $\gamma$ -PGA-Pheの疎水化度（Phe導入率）を変えたNPsに抗原を内包したものを調製し、細胞との相互作用や免疫応答と疎水化度との関係を検討した。また、 $\gamma$ -PGAに導入する疎水基の種類を変えた疎水化 $\gamma$ -PGAで抗原内包NPsを調製し、細胞との相互作用や免疫応答と疎水基の種類との関係を評価した。

第2章では、 $\gamma$ -PGA-Phe NPsの粒径が内包抗原の細胞内動態や体内動態へ及ぼす影響を評価することで、粒径による免疫応答の制御が可能か検討した。粒径制御された抗原内包 $\gamma$ -PGA-Phe NPsの細胞内動態と粒径との関係を検討した。また、免疫を誘導する上で重要な組織であるリンパ節への $\gamma$ -PGA-Phe NPsの移行性と粒径との関係を検討した。

第3章では、 $\gamma$ -PGA-Phe NPsと既存のアジュバントの組み合わせで従来のアジュバントより高い免疫の誘導が可能なナノ粒子アジュバントの構築を試みた。高い細胞活性化能を有するCpG ODNを $\gamma$ -PGA-Phe NPsに担持させ、同一細胞の複数の受容体を刺激できるアジュバントを調製し、その有用性を検討した。

第4章では、抗原提示細胞によるNPsの取り込み挙動を簡便かつ詳細に評価できる新規な観察手法を検討した。イオン液体を用いたSEM観察を応用することで、NPsの取り込みが評価できるか検討した。さらに、加速電圧を変えることで取り込まれたNPsの観察が行えるか検討した。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 島 史 明 )		
	(職) 氏 名	
論文審査担当者	主 査 教 授 明石 満	
	副 査 教 授 井上 佳久	
	副 査 教 授 神戸 宣明	
	副 査 教 授 三浦 雅博	
	副 査 教 授 安田 誠	
	副 査 教 授 茶谷 直人	
	副 査 教 授 生越 専介	
	副 査 教 授 関 修平	
	副 査 教 授 真嶋 哲朗	
	副 査 教 授 安蘇 芳雄	
	副 査 教 授 芝田 育也	

## 論文審査の結果の要旨

人為的に免疫系を制御するワクチン療法は、感染症やがん等の予防・治療に対して有効な手段となり、今日までに様々なワクチン抗原の同定が進んでいる。しかし、抗原の免疫原性が非常に低いために、投与しても望むような高いワクチン効果を得ることが困難である。また、目的に応じた免疫（液性/細胞性免疫）の誘導やその度合いを制御する必要があるが、免疫応答を制御可能なアジュバントの報告例はない。本論文は、免疫応答を制御可能なナノ粒子ワクチンアジュバントを実現するため、粒子を構成するポリマーを設計し、ナノ粒子アジュバントとしての有用性を実証している。これまでに 10 報の学術論文が査読を受け、既に 9 報が受理されている。主な成果を要約すると以下の通りである。

- (1) 親水性のポリ(γ-グルタミン酸) (γ-PGA) に導入する疎水性のフェニルアラニンエチルエステルを制御したポリマーを合成し、粒子化することで種々の疎水化度を有するナノ粒子の調製に成功している。これらの粒子に抗原を担持させることで、細胞との相互作用に粒子の疎水性が重要な因子であることを解明している。さらに、粒子の疎水性が免疫誘導にも影響を及ぼすことを明らかにしており、ナノ粒子の疎水性で免疫応答を制御できることを見いだしている。
- (2) γ-PGA に導入する疎水基の種類を変えたポリマーを合成してナノ粒子を調製し、粒子を構成する疎水基の種類が細胞との相互作用や免疫応答に及ぼす効果を検討している。疎水基の種類で細胞との相互作用が変わることを見出している。さらに、誘導される免疫の種類やその度合いを疎水基の種類で制御できることを解明している。
- (3) 疎水化γ-PGA からなるナノ粒子アジュバントと他のアジュバントを組み合わせることで、既存のアジュバントより高い免疫応答が得られるか検討している。疎水化γ-PGA ナノ粒子と核酸アジュバントである CpG ODN を組み合わせることで、相乗的に免疫細胞を活性化できることに成功している。さらに、抗原と CpG ODN を担持した疎水化γ-PGA ナノ粒子は既存のアジュバントより高い免疫応答が得られることを明らかにしている。
- (4) 免疫応答を制御する上で重要な細胞によるナノ粒子の取り込み過程を簡便かつ詳細に評価可能な観察手法の検討を行っている。イオン液体で処理することで、溶液中と同様の形態で粒子の取り込み過程を詳細に評価できることを解明している。

以上のように、本論文は免疫応答を制御可能なナノ粒子ワクチンアジュバントとしての適切な分子設計指針を示したものであり、高い安全性と効果を有するワクチンアジュバントの構築に寄与することが期待される。

よって審査の結果、本論文は博士論文として価値あるものと認める。