

ワクチンの効果を高める新規免疫核酸医薬の開発に成功

~新たなワクチン開発に期待~

石井 健 (いしい けん)

(独)医薬基盤研究所・アジュバント開発プロジェクト・プロジェクトリーダー
大阪大学免疫学フロンティア研究センター (WPI-IFReC) ワクチン学 教授

ワクチン学の石井健教授らの研究グループは合成核酸である CpG ODN を応用し新規アジュバントの開発を行いました。今回開発されたアジュバントは従来の CpG ODN に比べ強力な自然免疫応答及び、強いアジュバント活性を有している事が示されました。

また、新規アジュバントの形態や体内動態を明らかとした事で、副作用の軽減も期待でき、実際にサルを用いた実験においてもアジュバント効果が確認された事から、実際の臨床への応用も期待されます。

<研究の背景>

アジュバントはワクチンの効果や安全性を高めるために、現在投与されているほとんどのワクチンに含まれており、ワクチンの効果を発揮するために必須な成分です。長い間アルミニウム塩のみがワクチンのアジュバントとして臨床で用いられて来ましたが、より効果的で安全性の高い新規ワクチンの開発には新たなアジュバントの開発が必須であり、世界中で研究が行われています。

アジュバントの歴史は古く、1920 年代にアルミニウム塩 (アラム)が用いられてから、今現在もアラムが臨床で用いられています。しかしながら、80 年以上もの長い間アラムのみがワクチンのアジュバントとして使用されて来ましたが、近年の自然免疫学の発展により、自然免疫応答を活性化する事がその後の獲得免疫応答、すなわちワクチンの効果を発揮するために重要である事が明らかとなってきました。この自然免疫応答を活性化しワクチンの効果を高めるのが「アジュバント」の役割です。

この自然免疫を活性化する分子として広く研究されているのが、自然免疫受容体のリガンドです。自然免疫受容体は現在大きく 5 つに分ける事ができ、その中でアジュバントとしての研究が最も盛んに行われているのは Toll-like receptor (TLR)のリガンドです。TLR は病原体の構成成分や、類似の合成化合物を認識する事で、自然免疫応答を強く活性化することができるため、様々なリガンドがアジュバントとしての応用を試みられています。

非メチル化CG配列を含む合成核酸 (CpG oligonucleotide (ODN))は強い自然免疫活性化能を有している点と、合成により簡便に作製できる事から、アジュバントのみならず抗がん薬や抗アレルギー薬としても期待されています。これまでに大きく4種類の CpG ODN が報告されていますが、それぞれ構造や配列、自然免疫活性化能に違いがある事がわかっていました。I 型インターフェロンを強く産生することができる、D 型や P 型の CpG

ODN は高次構造を形成するために、塩の入った溶液中では凝集塊を形成してしまい、臨床試験が困難でした。実際に臨床試験で使用されている K 型の CpG ODN は、凝集塊を形成しなく IL-6 産生能が非常に高いが、I 型インターフェロン産生能が非常に弱い点が課題とされていました。CpG ODN を幅広い核酸医薬として応用するために、凝集塊を形成せずに I 型インターフェロン産生を高める事が新たな CpG ODN の形として期待されていました。

そこで我々は、ベータグルカンと合成核酸との複合体を形成させる技術を用いて、ヒトへの応用可能な新規ワクチンアジュバントの開発を試みました。

<研究の内容>

我々はまず、K 型の CpG ODN である K3 とベータグルカン (シゾフィラン (SPG))との複合体 (K3-SPG)を作製し、その形状を電子顕微鏡、粒子径を動的光散乱法を用いて観察しました。その結果、K3-SPG は棒状の約 30 nm のナノ粒子である事がわかりました (図 1)。

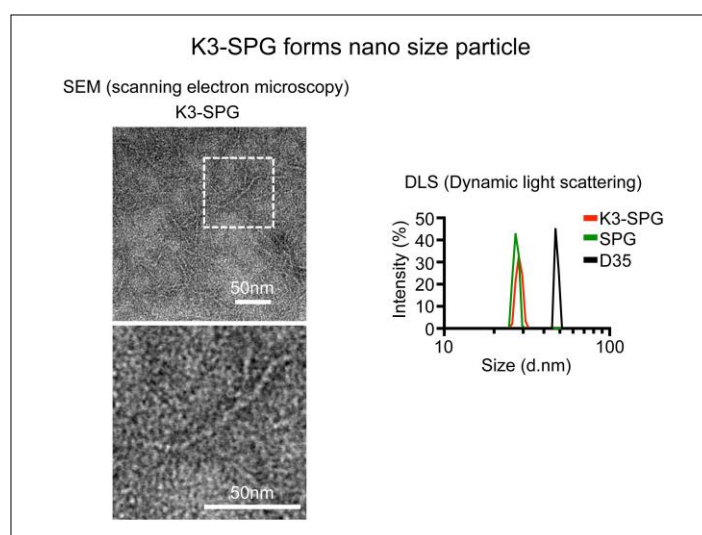


図 1: CpG ODN とベータグルカンとの複合体 (K3-SPG)は約 30nm の棒状のナノサイズの粒子である。

次に K3-SPG の自然免疫活性可能を明らかとするために、ヒト末梢血単核球を K3-SPG で刺激し、その後のサイトカイン産生を測定しました。これまで研究が行われている他の型の CpG ODN に比べ、強く I 型、II 型インターフェロン産生を誘導する事を明らかにしました (図 2)。同時に、IL-6 の産生も強く誘導している事から、K3-SPG はインターフェロンを産生誘導するのみならず、幅広い CpG ODN の特性を有している事が示唆されました。

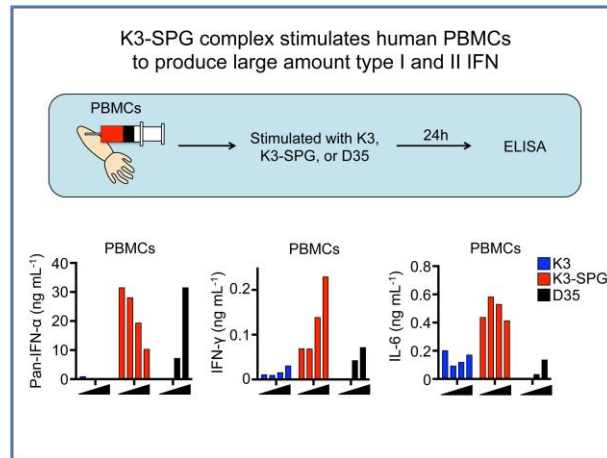


図 2: K3-SPG は強く I 型および II 型インターフェロンそして IL-6 を産生誘導する事が出来る。

次に、マウスを用いてアジュバント効果について研究を行ったところ、K3-SPG は従来の CpG ODN に比べ強いアジュバント活性、特に細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を誘導する事が示されました (図 3)。これまでは、抗原タンパクとアジュバントを混ぜるのみでは誘導が困難であった CTL を誘導出来た事は、K3-SPG がアジュバントとして有用である事を示唆しています。

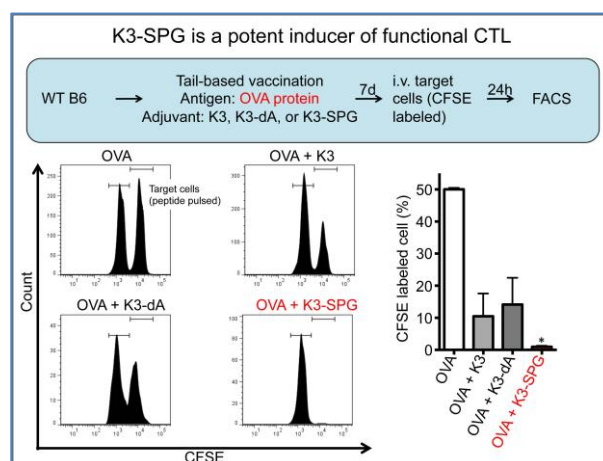


図 3: K3-SPG は強力的に機能的な CTL を誘導する事が出来る。

さらに K3-SPG の作用機序、特に体内動態を明らかにするためにイメージング技術を用いて解析を行いました。

その結果、K3-SPG はマウスに接種後、直ちにリンパ節の表面にある MARCO⁺マクロファージに特異的に、抗原と共に取り込まれる事が明らかとなりました (図 4)。

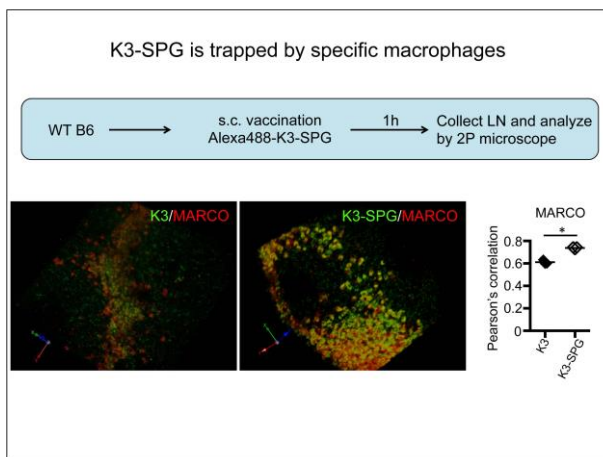


図 4: K3-SPG リンパ節で MARCO⁺マクロファージに選択的に取り込まれる。

その後、K3-SPG は樹状細胞へ取り込まれ、形質細胞様樹状細胞 (pDCs)や CD8 α + DCs を活性化している事を明らかとしました。この樹状細胞活性化とアジュバント効果は TLR9 の欠損マウスでは確認出来なかった事から、TLR9 を介して樹状細胞を効率よく活性化する事が、アジュバント効果を発揮する為には重要である事を示しています (図 5)。

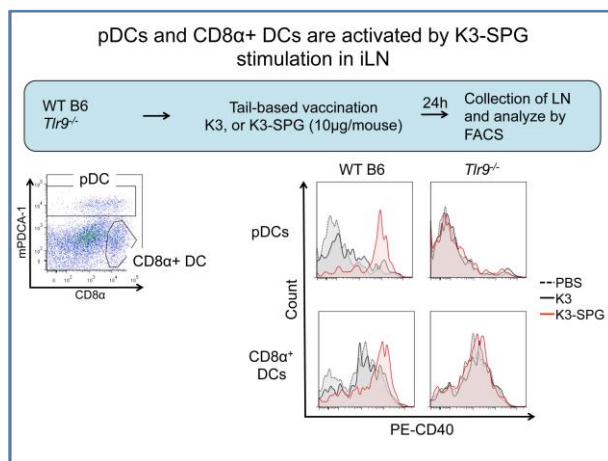


図 5: K3-SPG はマウスに投与後、TLR9 依存的に樹状細胞を活性化する。

同様にインフルエンザワクチンを用いた実験では、内因性アジュバントを含む全粒子ワクチンよりも、スプリットワクチンに **K3-SPG** を添加して投与した群では、強い獲得免疫応答を誘導する事で、致死量のインフルエンザウイルス感染を完全に防ぐ事に成功しました(図 6)。

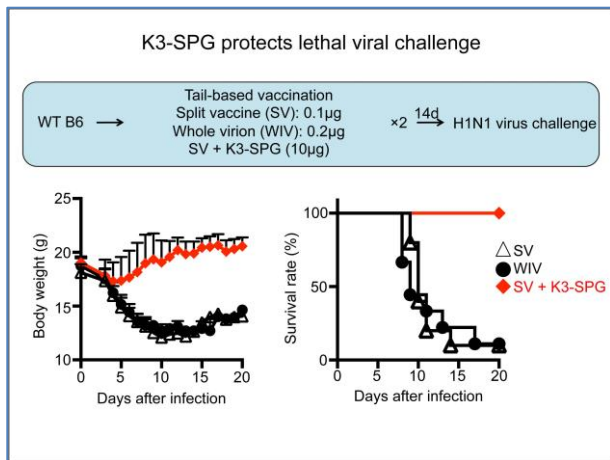


図 6: K3-SPG はインフルエンザワクチンのアジュバントとして働き、致死性のウイルス感染を防御する。

最後に、霊長類であるカニクイザルにインフルエンザスプリットワクチンと **K3-SPG** を同時に投与する事で、**K3-SPG** のアジュバント効果を評価したところ、従来の **CpG ODN** に比べ、強い獲得免疫応答を誘導しました(図 7)。

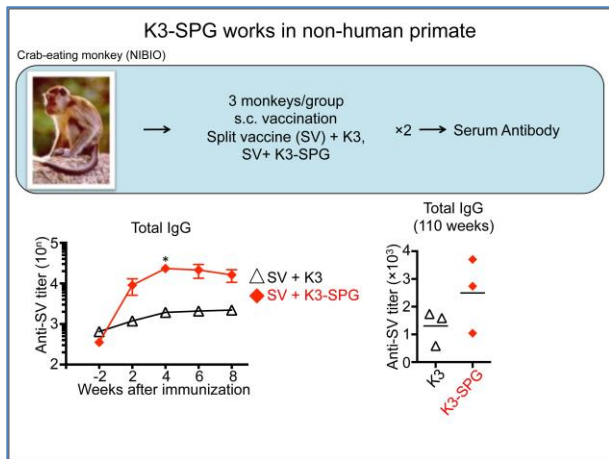


図 7: K3-SPG はカニクイザルにおいても、強力なアジュバントとして働く。

これらの結果から、新規アジュバントである **K3-SPG** はマウスのみならず、霊長類であるカニクイザルにおいてもアジュバントとして有用である事が示唆されると共に、ヒト末梢血単核球を用いた結果からも、ヒトへの応用が可能である事を示唆しています。

<今後の展開>

今回の研究によって、インターフェロン誘導型の新たなワクチンアジュバントの開発に成功しました。この新規アジュバントはマウスやカンクイザルのみならず、ヒト細胞においても従来の CpG ODN より強い自然免疫、獲得免疫の活性化を示す事から、実際にヒトへの応用が期待されます。

本研究グループは、この新規アジュバントを実際に応用するために、GMP 準拠の製剤化を行う事が次の課題であると考えており、新規アジュバントの製剤化に成功する事で、インフルエンザワクチンのアジュバントのみならず、がんワクチンや他の感染症のワクチンへの応用も可能であると考えています。

また、アジュバントの体内動態をイメージング技術を用いて明らかにした事で、半減期や毒性などの安全性を重要視しながら、より有効なアジュバントの開発を目指す事が期待されます。

<謝辞>

本研究結果は、北九州市立大学の櫻井和朗教授、望月慎一特任講師らのグループの持つ先攻技術である核酸とベータグルカンとの複合体形成を利用して、大阪大学の石井が共同研究として次世代型 CpG ODN を作製する事を目的とし、医薬基盤研究所/大阪大学のメンバー小檜山研究員によって得られた成果です。アジュバントのイメージングに関しては、医薬基盤研究所/大阪大学のメンバー青枝研究員によって解析が行われ、彼の協力無しにはこの研究成果はありませんでした。医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターの保富センター長によるカンクイザルを用いた研究の協力、大阪大学免疫学フロンティア研究センターマラリア免疫学のチョバン准教授、審良拠点長をはじめ、医薬基盤研究所/大阪大学のメンバーの協力がなければこの研究成果は得られませんでした。また、この研究のためにマウスを提供していただいた東京理科大学の岩倉洋一郎教授、千葉大学の西城忍特任准教授、教室員の皆様にも感謝の意を表します。

<掲載論文・雑誌>

- Kouji Kobiyama, Taiki Aoshi, Hirotaka Narita, Etsushi Kuroda, Masayuki Hayashi, Kohhei Tetsutani, Shohei Koyama, Shinichi Mochizuki, Kazuo Sakurai, Yuko Katakai, Yasuhiro Yasutomi, Shinobu Saijo, Yoichiro Iwakura, Shizuo Akira, Cevayir Coban, and Ken J Ishii. Nonagonistic Dectin-1 ligand transforms CpG into a multitask nanoparticulate TLR9 agonist.

- ***Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)***

日本時間: 2月11日午前5時 online 掲載