核酸医薬 CpG-DNA と多糖キャリアからなる がんワクチンアジュバント開発

愛知工業大学 工学部
応用化学科
宮本寛子

Development of cancer vaccine adjuvant using CpG-DNA and polysaccharide carrier
Noriko Miyamoto
Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Aichi Institute of Technology

プロフィール

福岡県福岡市出身。博士(工学)北九州市立大学大学院

2014 年北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 環境システム専攻 博士前期課程修了

2017 年北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 環境システム専攻 博士後期課程修了(櫻井 和朗 教授)

2017 年愛知工業大学 工学部 応用化学科 ゲノム創薬化学研究室(北出 幸夫 教授) 助教

学部 4 年から博士後期課程まで櫻井和朗教授の研究室で生体高分子の多糖シゾフィランと CpG-DNA からなる複合体のアジュバント開発によるがんワクチン研究に取り組んだ。生体がつ免疫システムの精密さに魅了され、研究を通じた免疫制御に深く感動した。第 31 回日本 DDS 学会学術集会において優秀ポスター賞を受賞。2017 年より、北出幸夫教授の研究室で生体内に存在する細胞運命制御因子の 1 つであるマイクロ RNA の補充療法(miRNA mimic)の創薬研究を行っている。特に K-Ras や c-Myc のがん遺伝子を標的としたマイクロ RNA の送達技術開発として化学合成を基盤としたリガンドコンジュゲートなどの研究を進めている。趣味は、映画・ドラマ・お笑い鑑賞。観葉植物。

(みやもと のりこ)

1. はじめに

がん免疫療法の 1 つのがんワクチンは、がん抗原とアジュバントから構成され、抗原提示細胞からの提示を介して抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞(CTL)を誘導することでがん細胞の排除を促す。これまでに、抗原探索を主眼としたペプチドワクチンなどのワクチン開発がなされてきたが、適切なアジュバントの欠如が課題となっていた。

アジュバントとして注目されている CpG-DNA は、非メチル化シトシンとグアニン(CpG)を有し、細菌やウイルスのゲノム DNA に高頻度に存在する。哺乳類の自然免疫はこの CpG-DNA を識別し生体防御を行う。免疫活性化のメカニズムは、エンドソーム内の Toll 様受容体 9 に CpG-DNA が結合し、アダプター分子 MyD88 を介して NF- κ B 経路を誘導し、各種サイトカインが産生される。CpG-DNA については K 型と D 型の 2 つの配列が特に有効であり、K 型は B 細胞の増殖と IL-6 等のサイトカイン産生を、D 型は形質細胞様樹状細胞からの I 型インターフェロンの産生をそれぞれ主に誘導する。筆者出身研究室では、多糖と核酸からなる複合体の抗原提示細胞へのアクティバターゲティングによる K 型 CpG-DNA の送達成果を報告してきた(“多糖核酸複合体の発見からバイオベンチャーの起業まで”¹⁾)。多糖/核酸複合体は、核酸

と β グルカン多糖の 1 種であるシゾフィラン(SPG)から構成され、水素結合と疎水性相互作用を介して複合体を形成する。核酸の酵素分解を防ぎ、抗原提示細胞上に発現する β グルカン受容体に認識されることで、 β グルカンを経た標的送達を可能とする。本稿では、多糖/核酸複合体を利用したがんワクチンアジュバント開発の成果を紹介する。

2. 多糖核酸複合体の

アジュバント活性評価

多糖/核酸複合体にアジュバントの CpG-DNA を内包した多糖/CpG-DNA 複合体は、抗原提示細胞上に発現する β グルカン受容体を介したエンドソーム経路の細胞取り込みによって Naked よりも高いアジュバント活性を示す^{2~4)}。多糖/CpG-DNA 複合体が標的とするリンパ組織や抗原提示細胞は、ナノ粒子の粒径や形状で組織移行や細胞取り込み量が異なり、粒径に関しては 20~200nm が好ましいとされる⁵⁾。筆者らは、多糖/CpG-DNA 複合体の粒径が及ぼすアジュバント活性を検討するために、従来の多糖/CpG-DNA 複合体(10~20nm)を物理架橋させた複合体(架橋複合体; 150nm)を創製した。架橋複合体は、相補鎖関係にある 2 種類の核酸の二重鎖を導入することで創製できる(図 1 左)⁶⁾。2 種類のうち 1 つは CpG-DNA であり、も

図1 多糖とCpG-DNAからなるアジュバント(左)とがんワクチンモデルの抗腫瘍活性(右)

う1つはその相補鎖のcCpG-DNA (Complementary CpG-DNA)である。マウス脾臓細胞を用いたアジュバント活性評価において、架橋複合体は従来複合体の10倍高くアジュバント活性を示した。

3. がんワクチンモデル評価

これまでのワクチン研究は、抗原とアジュバントの同時送達を目指したコンジュゲーションなど、3元複合体の開発が多く報告されている。一方、先行研究の多糖/CpG-DNA複合体のインフルエンザワクチンアジュバント開発では、スプリットワクチンに複合体を添加するだけでこれまでに効果が高いとされていた全粒子ワクチンよりも強いワクチン活性を示すことを報告し、本系には抗原の内包は必須ではないことを見出した³⁾。そこで、モデル抗原のオボアルブミン(OVA)と、アジュバントの架橋複体の混合溶液をワクチンのモデルとしてワクチン応答を検討した。ワクチンは、マウスの皮内に2回免疫させたのち、脾臓を回収し抗原特異的な免疫活性を評価し

た。抗原特異的なCTLは、脾臓細胞を抗原認識受容体抗体とCD8抗体で染色したのちフローサイトメトリーにて定量した。その結果、架橋複合体は、従来の複合体のアジュバントより高くCTLを誘導した。IFN γ 産生は、免疫されたマウスの脾臓細胞を回収後にOVA刺激し誘導される抗原特異的なIFN γ をELISAにて定量した。架橋複合体は、従来の複合体アジュバントより8倍高くIFN γ を誘導した。

がんワクチンとしての有用性を検討するために、OVAを細胞膜上に発現するマウスリンパ腫細胞(OVA-EG.7)の担がんモデルマウスを用いて抗腫瘍活性を評価した。モデルワクチン(OVA:30 μ g/head、核酸:10 μ g/head)を2回免疫させたのち、OVA-EG.7をマウスの背中に投与し、腫瘍の体積変化を観察した(図1右)。従来の複合体の系は、Nakedと比較して優位な抗腫瘍活性を示したが、9日以降腫瘍体積の増加が観察された。一方で、架橋複体の系では、9日以降も腫瘍体積の増加は観察されずに長期にわたり

高い抗腫瘍効果を示した。さらに、架橋複体の投与量依存的な抗腫瘍活性の検討では、2分の1や25分の1の核酸投与量(5.0, 0.20 μ g/head)においても、9日以降の腫瘍の増殖は観察されずに高い抗腫瘍活性が観察された。これらのことから、抗原提示細胞の取り込みに適した粒径と多糖受容体への標的送達の相乗効果によって架橋複合体は優れたアジュバント活性を有し、がんワクチンアジュバントとしての有用性が示された。

4. おわりに

2013年のがん免疫療法のニボルマブの認可や、2018年の核酸医薬とDDS製剤からなるPatisiran(LNP/siRNA)の認可など、本研究関連の創薬は世界的に進展している。本研究で紹介した、多糖/核酸複合体は臨床で使用された実績をもつ天然多糖をキャリアとし免疫細胞への標的送達を可能とするユニークなDDS製剤として注目され、現在、ベンチャー企業を中心に積極的に臨床研究が進められている。今後も核酸医薬の実用化へ向けたDDS製剤に関する研究に取り組み、将来の医薬へ貢献したい。

本稿は、北九州市立大学大学院国際環境工学研究科(櫻井和朗教授)での研究成果に基づくものです。

文献

- 1) Sakurai K., *Drug Delivery System*, 30, 218-225 (2015)
- 2) Mizu M., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 8372-8373 (2004)
- 3) Mochizuki S., et al., *Carbohydr. Res.*, 391, 1-8 (2014)
- 4) Kobiyama K., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 111, 3086-3091 (2014)
- 5) Manolova V., et al., *Eur. J. Immunol.*, 38, 1404-1413 (2008)
- 6) Miyamoto N., et al., *Bioconjug. Chem.*, 28, 565-573 (2017)