大阪公立大学
Osaka Metropolitan University

PRESS RELEASE

大阪科学・大学記者クラブ　御中
（同時提供先：文部科学記者会、科学記者会）

2022 年 11 月 1 日
大阪公立大学

従来の 10 分の 1 の抗原量でがん免疫を強力に活性化する DDS 材料の開発に成功

＜ポイント＞

◇カチオン性脂質※1 と pH 応答性多糖の組み合わせにより免疫細胞からのサイトカイン※2 産生量を約 100 倍に。

◇がん組織の M2 型マクロファージを減少させ、M1 型マクロファージを増加させることが判明。

◇従来の 10 分の 1 の抗原量でがん免疫を強力に活性化させることに成功。

＜概要＞

大阪公立大学大学院 工学研究科の弓場 英司 准教授らの研究グループは、がん抗原を封入した微小カプセルであるリポソーム※3 にカチオン性脂質を組み込み、表面に pH 応答性多糖を修飾することで、がん細胞を直接攻撃する細胞性免疫※4 を強力に活性化できるドラッグデリバリーシステム（DDS）材料の開発に成功しました。

近年、免疫チェックポイント阻害療法などのがん免疫療法が、第 4 のがん治療法として注目されています。しかし、免疫チェックポイント阻害療法は 2～3 割のがん患者にしか効果がなく、がん細胞を直接攻撃する細胞性免疫を誘導するための DDS 開発が必要とされています。本研究グループはこれまで、pH によって状態が変化する多糖誘導体を表面に修飾したリポソームを用いて、がん抗原を樹状細胞へ運ぶデリバリーシステムの開発を行ってきました。本研究では、細胞性免疫の誘導効率をより高めるため、免疫細胞を活性化する作用があるカチオン性脂質に着目しました。

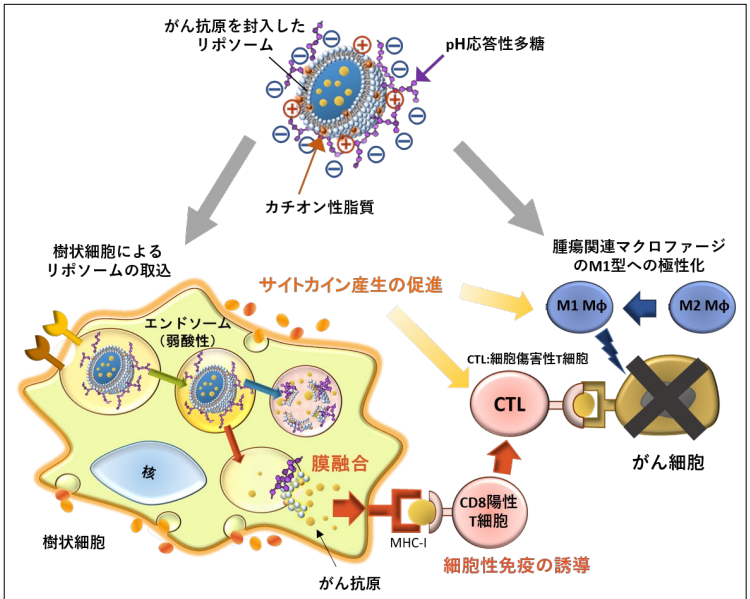

図 1 カチオン性脂質を導入した pH 応答性多糖修飾リポソームによるがん免疫誘導システムの設計。

本研究ではまず、正に帯電しているカチオン性脂質をリポソームに組み込むことで、負に帯電している pH 応答性多糖のリポソームへの修飾量を高めることに成功しました。また、抗原提示細胞※5 の一種である樹状細胞は負に帯電した粒子を取り込みやすいため、樹状細胞へのリポソームの取り込み効率が約 5 倍になり、樹状細胞からのサイトカイン産生量が約 100 倍に増加しました。次に、このリポソームをがん組織に投与したところ、がん免疫を活性化する M1 型マクロファージが増え、がんの成長を促進する M2 型マクロファージを減少させることが明らかになりました（図 1）。さらに、がん細胞を移植したマウスにこのリポソームを用いたワクチンを投与したところ、抗原量が従来に比べて 10 分の 1 であったにも関わらず、強力ながん免疫が誘導され、がんの成長が抑制されたことが分かりました。

本成果は、カチオン性脂質と pH 応答性高分子を組み合わせることが、免疫細胞の強力な活性化を促すリポソーム型がんワクチンの作製に有効であることを示しています。

本研究成果は、Elsevier が刊行する国際学術誌「Journal of Controlled Release」のオンライン速報版に 2022 年 10 月 31 日に掲載されました。

本研究では、機能性多糖とカチオン性脂質を組み合わせることで、従来の 10 分の 1 の抗原量でも強力ながん免疫を誘導できるワクチン担体の開発に成功しました。本成果を基に、実用的な抗原と組み合わせることで、がん免疫療法や感染症用ワクチンのための抗原運搬体の開発を進めていきます。

弓場 英司准教授

＜研究の背景＞

2018 年のノーベル医学生理学賞の対象となった免疫チェックポイント阻害療法に代表されるように、私たちの身体に本来備わっている免疫機能を利用してがんを治療する「がん免疫療法」が注目を集めています。免疫チェックポイント阻害療法の効果が見られるのはがん患者の 2〜3 割程度とされており、効果が出ない理由として、がんを直接攻撃する免疫（細胞性免疫）が誘導されていないことが一因と考えられています。したがって、がんを選択的に攻撃できる細胞性免疫を誘導することができれば、がん免疫療法の適用範囲をさらに拡大できると期待されています。

細胞性免疫を誘導するためには、がんの目印（抗原）を抗原提示細胞と呼ばれる免疫細胞に運搬し、この細胞を活性化するとともに、細胞内の酸性小胞（エンドソーム※6）から抗原を放出させる必要があります。このような抗原の運び屋（運搬体）として、私たちは、リン脂質からできたナノカプセル（リポソーム）に着目して研究を行っており、これまでの研究で、弱酸性環境に応答して脂質膜を破壊する機能をもつ pH 応答性多糖を利用することで、抗原の細胞内放出と抗原提示細胞の活性化を同時に達成し、細胞性免疫の誘導に成功していました。

＜研究の内容＞

本研究では、従来よりもさらに強力な細胞性免疫の誘導を行うために、pH 応答性多糖修飾リポソームに、カチオン性脂質（正電荷をもつ脂質）を組み込みました。カチオン性脂質はそれ自体が免疫を活性化する作用を持っているだけでなく、リポソーム膜表面が正に帯電することで、負電荷をもつ pH 応答性多糖が静電相互作用によって効果的にリポソームに固定化されます。実際、カチオン性脂質を含むリポソームへの pH 応答性多糖の固定化量は、カチオン性脂質を含まないリポソームに比べて顕著に高くなり（図 2A）、リポソームの表面がより負に帯電しました。また、カチオン性脂質を導入した pH 応答性多糖修飾リポソームは、カチオン性脂質を含まない場合に比べ、樹状細胞に対して約 5 倍効率よく取り込まれました。さらに、カチオン性脂質を導入した pH 応答性多糖修飾リポソームで処理した樹状細胞からは、カチオン性脂質を含まない場合に比べて多量のサイトカインが分泌され、樹状細胞が強力に活性化されることがわかりました。特に、pH 応答性多糖の主鎖として β-1,3-グルカン※7 を用いると、カチオン性脂質の導入によって約 100 倍高いサイトカイン産生が見られたことから（図 2B）、特定の構造をもつ多糖とカチオン性脂質の組み合わせが、抗原提示細胞を活性化するのに効果的であることを見出しました。

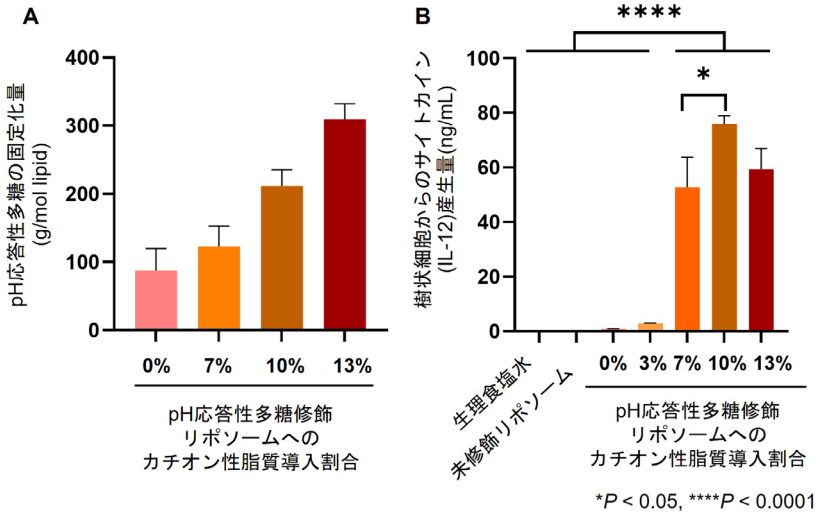

図 2 カチオン性脂質の導入が、(A)リポソームへの pH 応答性多糖の固定化量、(B)リポソームで処理した樹状細胞からのサイトカイン産生量に及ぼす効果。

次に、このように強力な細胞活性化作用をもつリポソームの機能を利用して、がん組織における免疫抑制環境を調整できるのではないかと考えました。がん組織に存在する免疫抑制細胞の一つに腫瘍関連マクロファージが挙げられます。腫瘍関連マクロファージは、いわゆる M2 型マクロファージと呼ばれる形質を示し、がん免疫を抑制していると考えられています。そこで、がんを形成させたマウスのがん組織近傍に、がん抗原を封入し、カチオン性脂質を導入した pH 応答性多糖修飾リポソームを投与したところ、がんの成長が抑制されました（図 3A）。マウスの脾臓を調べると、抗原を認識して IFN-γ を産生する細胞が顕著に増加しており、抗原特異的な細胞性免疫が誘導されていることがわかりました（図 3B）。さらに、がん組織における免疫細胞の割合を調べたところ、M2 型マクロファージと比較して、免疫活性化に関わる M1 型マクロファージの割合が増加する傾向が見られました（図 3C）。リポソームの強力な免疫細胞活性化能によって、腫瘍内の免疫抑制的なマクロファージが減少するとともに、抗原の細胞内運搬によって誘導された細胞性免疫を介して、がんが攻撃されたものと考えられます。加えて、従来に比べて投与した抗原量は 10 分の 1 であったにも関わらず、一部のマウスではがんが消滅するほど強力ながん免疫が誘導されました。これらの結果は、カチオン性脂質と免疫細胞活性化能を有する pH 応答性多糖の組み合わせが、強力なリポソーム型がんワクチンの作製に有効であることを示しています。

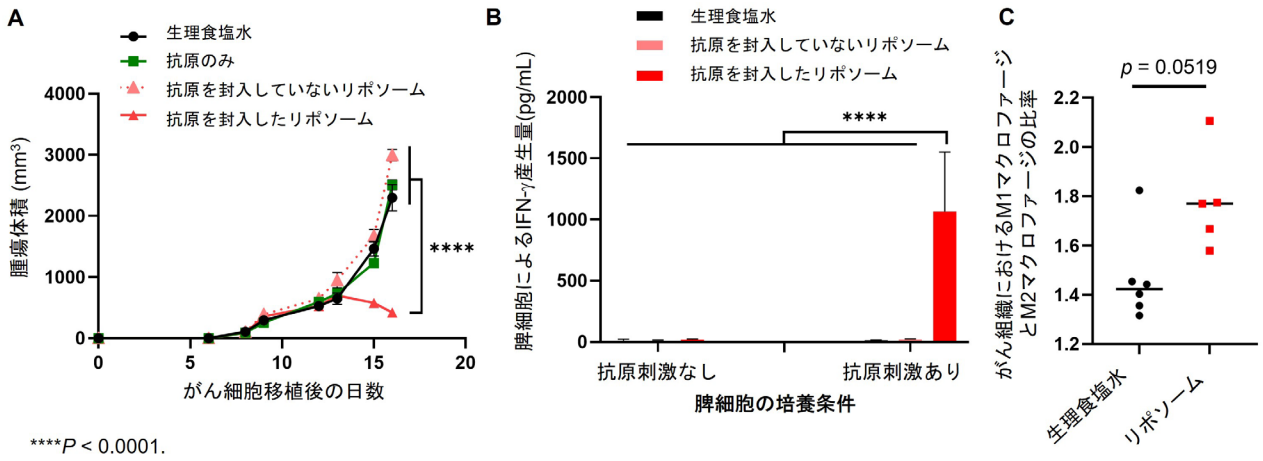

図 3　担がんマウスに対するリポソームの免疫治療効果。
（A）腫瘍の増殖に対する効果。
（B）脾臓における細胞性免疫誘導の確認。
（C）がん組織におけるマクロファージの解析。

＜期待される効果・今後の展開＞

今回開発したリポソーム型がんワクチンは、抗原を封入する、抗原を免疫細胞に運搬する、免疫細胞を活性化する、抗原の細胞内放出により細胞性免疫を誘導する、がん組織における免疫抑制状態を改善する、といったがん免疫療法において抗原運搬体に求められる諸機能を併せ持つ多機能性材料と言えます。

今後は、既知のがん抗原を封入してがん免疫誘導ができるかを検証するとともに、リポソームに組み込む pH 応答性高分子の構造をさらに最適化することで、より効率よくがん免疫を誘導できる抗原運搬体の実現を目指します。また、カチオン性脂質をリポソームに組み込むことで負電荷をもつ高分子の固定化量が増加したことから、DNA、mRNA といった核酸医薬をこのリポソームに組み込むことで、がんだけでなく感染症用のワクチン担体としての利用も可能になると考えられ、次世代の mRNA ワクチン開発にも貢献できるものと思われます。

＜資金情報＞

本研究は、科学研究費補助金（15H03024、17K20110、21H03822）の支援を受けて行われました。

＜用語解説＞

※1　カチオン性脂質…正の電荷を持つ脂質分子の総称。脂質構造を持っているため、リポソームの構成成分として脂質二重膜中に容易に組み込むことができます。

※2　サイトカイン…細胞から放出され、免疫、炎症、生体防御など様々な生体応答を媒介するタンパク質の総称。ここでは、樹状細胞が活性化されているかどうかの指標として、サイトカイン量の計測を行っています。

※3　リポソーム…リン脂質からなる数十～数百ナノメートルのサイズをもつ微小なカプセルで、その内部に様々な分子を封入できることから、薬や生理活性物質の運搬体として利用されています。

※4　細胞性免疫…ウイルス感染細胞やがん細胞などの異常細胞を、抗体などを介さずに免疫細胞そのものが直接攻撃するタイプの免疫反応。細胞傷害性 T 細胞（キラーT 細胞）やヘルパーT 細胞がその中心を担っています。

※5　抗原提示細胞…細菌、ウイルス、がん細胞などの異物を取り込んだあと、細胞内で処理してその断片を細胞表面上に提示し、T 細胞を活性化させる役割を担う免疫細胞。マクロファージ、樹状細胞、B 細胞が主な抗原提示細胞として知られています。

※6　エンドソーム…細胞の食作用（エンドサイトーシス）によって形成される細胞内の膜小胞。細胞内に取り込まれた様々な物質の選別、分解、再利用をコントロールしています。

※7　β-1,3-グルカン…β-1,3-グリコシド結合にてグルコースが連なった多糖。細菌や真菌、酵母などの細胞壁に存在しており、抗原提示細胞上の Dectin-1 などの受容体に認識され、免疫細胞の活性化を促進することが知られています。本研究では、直鎖β-1,3-グルカンであるカードランを pH 応答性多糖の主鎖として用いました。

＜掲載誌情報＞

【発表雑誌】Journal of Controlled Release（IF＝11.467）
【論 文 名】Cationic lipid potentiated the adjuvanticity of polysaccharide derivative-modified liposome vaccines
【著　　者】Eiji Yuba, Yuna Kado, Nozomi Kasho, Atsushi Harada
【掲載 URL】https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.10.016

【研究内容に関する問い合わせ先】
大阪公立大学大学院　工学研究科
准教授　弓場 英司（ゆば えいじ）
TEL：072-247-6016
E-mail：yuba@omu.ac.jp

【報道に関する問い合わせ先】
大阪公立大学 広報課
担当：竹内
TEL：06-6605-3411
E-mail：koho-list@ml.omu.ac.jp