

論 文 内 容 要 旨

報 告 番 号	甲 薬 第 2 1 5 号	氏 名	清水 太郎
学位論文題目	PEG 修飾リポソームに対する免疫反応を利用した新規静脈内投与型ワクチンの開発に関する研究		
<p>ワクチンの効果を最大限に発揮させるためには、抗原やアジュバントを適切な免疫細胞に送達させる抗原送達システムの開発が重要である。リポソームは有用な抗原送達システムの代表例であり、抗原をその表面・内部に保持し、その粒子サイズから抗原提示細胞に効率よく取り込まれる性質を持つ。しかしこの取り込みは受動的であり、少量の抗原・アジュバントで有効かつ安全に免疫するには、能動的な標的化が必要である。</p> <p>我々は以前、PEG修飾リポソーム(PL)の初回投与2・5日後に再びPLを投与すると、2回目投与PLが脾臓内において辺縁帯B(MZ・B)細胞に選択的に結合し、濾胞に輸送されるという現象を見出した。このことはつまり、2回目投与PL中に抗原を封入することにより、MZ・B細胞や濾胞に抗原を効率よく送達できることを示す。MZ・B細胞は抗原提示細胞として機能し、濾胞が免疫反応の成熟の場であることから、この現象は免疫反応の増強に有用であると考えられた。</p> <p>そこで本研究では、MZ・B細胞によるPLの濾胞への輸送機構の解明を行うとともに、この現象を利用した免疫反応増強効果について検討した。</p> <p>まず、MZ・B細胞によるPLの濾胞への輸送機構について検討を行った。その結果、PLとMZ・B細胞の結合には、血清因子、特に初回PL投与によって誘導された抗PEG IgMと補体の両方が必要であり、血清因子の輸注によりPLの濾胞への輸送が誘導されることが明らかになった。一方で初回PL投与によるMZ・B細胞の感作は、PLとMZ・B細胞の結合や濾胞への輸送に影響を与えないことが示された。このことから、2回目投与PLに抗PEG IgMと補体が結合して免疫複合体を形成し、その後MZ・B細胞に結合し、濾胞へと輸送されることが示唆された。</p> <p>続いて、MZ・B細胞による抗原封入PLの濾胞への輸送誘導が抗体分泌を増強できるか検討した。まずPL内にモデル抗原のOVAを封入したOVA封入PL(OVA-PL)を作製した。OVA-PLの濾胞への輸送を誘導するために、OVA-PLの投与3日前に空のPLを用いて前刺激した。OVA-PLによる免疫後、抗OVA IgG量を測定した。その結果、空のPLによる前刺激を加えることにより、抗OVA IgG量が有意に増加した。またこの抗体量増加は、OVA-PLの濾胞への輸送の増加と一致しており、阻害剤を用いてOVA-PLの濾胞への輸送を阻害することにより、抗OVA IgG分泌の増加は抑制された。このことから、空のPLによる前刺激を用いてOVA-PLの濾胞への輸送を誘導することにより、抗原特異的な抗体分泌を増強できることが明らかになった。</p> <p>さらに、MZ・B細胞による抗原封入PLの濾胞への輸送誘導が抗腫瘍免疫を増強できるか検討した。空のPLによる前刺激の3日後にOVA-PLを用いて免疫を行うサイクルを2週間おきに3回行った。その後、OVA発現腫瘍を移植した場合の腫瘍成長抑制効果および細胞傷害性T細胞(CTL)の誘導を検討した。その結果、空のPLによる前刺激を加えることにより、より強力な腫瘍成長抑制効果とCTLの誘導が確認された。また、アジュバントであるαガラクトシルセラミド(GC)をOVA-PLに添加することにより(OVA-GC-PL)、空のPLとOVA-GC-PLによる1回の免疫で有意なCTL誘導と腫瘍成長抑制効果を示した。この場合においても前刺激がない場合よりも顕著な効果を示した。このことから、空のPLによる前刺激はOVA-PLの濾胞への輸送を誘導し、抗腫瘍免疫を増強することが示唆された。</p> <p>以上のように本研究では、PLの2回繰り返し投与時における2回目投与PLの濾胞への輸送機構を明らかにし、2回目投与PL中に抗原を封入することにより、抗原特異的な抗体分泌およびCTL誘導を増強できることを明らかにした。本研究成果は、PLに対する免疫反応と生体内抗原輸送機構を利用した新規ワクチン開発の基礎的知見を提供するものである。</p>			