

高活性ワクチンアジュバントのためのハイブリッドナノ粒子開発



研究代表者
新倉 謙一

北海道大学 電子科学研究所 准教授

1. 研究の背景と達成目標

本研究では高い活性を有するワクチンキャリアーとして、「抗原と免疫賦活効果をさらに高める分子(アジュバント)を同時に提示したナノ粒子」の開発を行う。単一のナノ粒子に、抗体産生能を増加させる分子と抗原を同時に提示することで、少量のワクチン添加で効果を発現できる新しいナノ粒子ワクチンキャリアーの創製を目指す。具体的には、酸化鉄と金ナノ粒子の複合体にインフルエンザウイルスの抗原とアジュバント[Poly(I-C)]分子を提示させ、抗原/アジュバント固定化粒子のワクチンの効果を実証していく。

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ① Poly(I-C)提示ナノ粒子を抗原とともにマウスの経鼻に投与し、インフルエンザのワクチンとしての効果を調べた。Poly(I-C)/ナノロッドの複合体はワクチンとして効果が見られたが、球状粒子では見られなかった。アジュバント分子に対するナノ材料の形状効果は初めての報告になる。
- ② ヘマグルチニンタンパク質を球状および三角形の金ナノ粒子に固定化してワクチンとして効果があるかを調べた。ヘマグルチニン固定化ナノ粒子は、タンパク質だけをワクチンに使うよりも高いワクチン活性を示した。また球状のほうが三角形よりも高い効果を与えた。すなわち抗原も粒子上に集合固定化することで効果が増加し、そのナノ材料の形状やサイズを適切に選ぶことでさらに活性増加することがわかった。
- ③ 2本鎖RNAアジュバントをナノロッドに固定化させると、RNA単体を使うよりも低いドーズ量でワクチン活性を誘導できるため、アジュバントに由来する副反応を減少させることができる。

3. 研究成果

当初の予定では酸化鉄と金ナノ粒子の複合体を使う予定であったが、その合成過程が煩雑なことに加え、金と酸化鉄が水溶液中で分離してしまう問題が残った。そこで、サイズや形状を合成過程で制御しやすい金ナノ粒子を使って抗原およびPoly(I-C)をそれぞれ固定化する方向にシフトした。

球状金ナノ粒子とロッド状金ナノ粒子によるRNA2本鎖のアジュバント活性の増強効果を検討した(図1)。4級アンモニウム基を有する界面活性剤存在下でのシード成長法で球状(直径20、40nm)もしくはロッド状(27×7nm)の金ナノ粒子を合成した。金ナノ粒子の表面を末端にチオール基と4級アンモニウム基を持つMTAB分子でカチオン性に修飾した。これとPoly(I:C)を混合し、静電的に結合させた。作製した金ナノ粒子-Poly(I:C)複合体(AuNP-PICsと略する)のアジュバント活性を調べるために、マウスへワクチンを投与した。AuNP-PICsアジュバントを、インフルエンザウイルスの抗原タンパク質であるヘマ

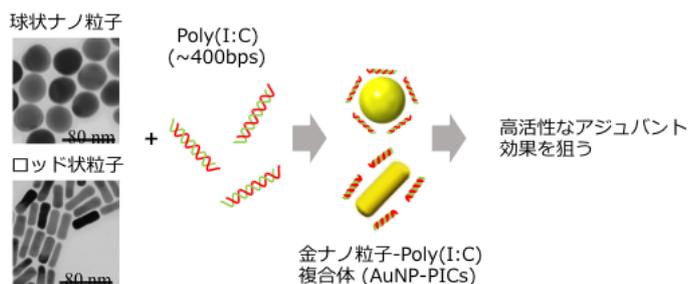


図1. 本研究のスキーム・狙い

グルチニンを共にマウスへ経鼻投与し、鼻周辺での抗体産生量とウイルス感染防御能を調べた(国立感染症研究所で実施した)。また、マクロファージの RAW264.7 細胞を用いて、AuNP-PICs の取り込み効率を調べた。AuNP-PICs を添加して一定時間インキュベーション後に細胞を培養し、回収した細胞を王水処理、ICP 発光分析装置で細胞が取り込んだ金ナノ粒子の個数を調べた。ワクチン投与の結果、ロッド状金ナノ粒子-Poly(I:C)複合体をアジュバントとして用いた場合にのみ抗体産生の増加やウイルス感染防御などが観察された。これはロッド状金ナノ粒子が Poly(I:C)のキャリアとして適していることを見出した。また、細胞取り込み量もロッド状金ナノ粒子が最大であり、アジュバント活性の増強に寄与していると考えられる。

金ナノロッドによるアジュバント活性の増強に対して寄与する要因を調べるために Poly(I:C)に関するサイトカイン産生を調べた。Poly(I:C)が TLR3 によって認識されると下流にシグナルが伝達し、炎症性サイトカインや I 型インターフェロンが分泌される。そこで骨髄由来樹状細胞に金ナノ粒子の終濃度を最大 400pM として添加して培養し、サイトカインの産生を調べた。この濃度における顕著な細胞毒性は見られなかった。アジュバント活性の高い Rod-PICs が高い IFN 産生を示すだろうという予想に反して球状粒子と RNA の複合体でもっとも高い産生量が観察された。この理由の一つとして培養細胞とマウスにおけるサイトカイン産生の傾向が異なることが考えられる。本研究ではワクチンは経鼻投与しており、鼻腔粘膜上では繊毛運動などによって異物が排除される。このような環境において、金ナノロッドがアジュバント活性の増強に有効であった可能性が考えられる。炎症性サイトカインである $TNF\alpha$ の産生量は金ナノ粒子との複合化によって顕著には増大せず、Poly(I:C)による産生量よりも低いレベルに留まった。このことから金ナノ粒子を用いてアジュバントの活性を増強しても $TNF\alpha$ の過剰な産生による副反応はおきにくいことが期待できる。

4. 今後の展開

近年様々な感染症への対策が求められており、その一つとしてワクチンへの期待は高まっている。感染症を引き起こすウイルスの感染ルートや、増殖メカニズムなどによってワクチン開発のアプローチは異なり、多くの感染症に効果的かつ合理的なワクチン設計指針が求められている。応募者はナノ材料を切り口として、サイズや形状といったシンプルな物理化学的な要因によってナノ粒子によるワクチン活性が異なる点に着目し、そのメカニズム解明とともにワクチンの開発を進めている。ワクチン開発は免疫機構の複雑さ故にまだ材料研究者が十分に参画していないが、形状やサイズを制御しやすい金ナノ粒子によりワクチン設計指針の提案を行い、安全で効果的な新しいワクチン開発に役立てたい。

5. 発表実績 (本研究に関する主な学会発表・講演は以下の通りである)

第 63 回高分子学会年次大会 2014 5/28-30 (口頭)
金-酸化鉄ハイブリッドナノ粒子を用いた核酸輸送キャリアの開発。
田崎太悠, 新倉謙一, 小林謙也, 三友秀之, 長田義仁, 伊藤嘉浩, 居城邦治

第 25 回バイオ・高分子シンポジウム 2015 7/23-24 (口頭)
金ナノ粒子をコアとするナノワクチンの開発。
新倉謙一, 田崎太悠, 大原有樹, 鈴木忠樹, 小林進太郎, 大場靖子, 三友秀之, 澤洋文, 居城邦治

岐阜大学公開講演 2015 9/28 (口頭)
ナノ粒子を使った薬剤輸送とワクチン開発。
新倉謙一