

リポソームデリバリーワクチン

国立感染症研究所 血液・安全性研究部

内田 哲也

はじめに

我々はこれまで、リポソーム表面結合抗原をワクチンの創製に応用することを目標とした検討を行ってきた。従来、リポソームを抗原のキャリアーとして用いるための検討には主として抗原を内包させたリポソームが用いられてきたが、我々は抗原をリポソームの表面に化学結合したものをマウスに投与すると抗原特異的な IgE 抗体の産生が選択的に抑制されることを見出した。現行のワクチンにはアジュバントとして水酸化アルミニウムが用いられているが、アルミニウムアジュバントは IgE 抗体産生をよく誘導することが知られており、IgE 抗体が関与していると考えられるワクチン接種後の副反応が例年多数報告されている。そこで、リポソーム表面結合抗原をアレルギー反応を惹起しにくいワクチンの創製に応用することが期待された。

さらに、ワクチンの創製に応用するリポソームの脂質組成を最適化する過程で、ある種の脂質を用いて作製したリポソームの表面に抗原を化学結合させると、抗原が MHC クラス I を介して抗原提供細胞から T 細胞に呈示され、抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が誘導されることが明らかになった。このことから、リポソーム表面結合抗原を細胞性免疫の誘導を目標とするウイルスワクチン、および腫瘍治療薬の創製に応用することが期待された。本講演においては、上述のリポソーム表面結合抗原を CTL 誘導型インフル

エンザワクチンの創製に応用する可能性を検討した結果について紹介する。

リポソーム結合抗原は IgE 抗体産生を誘導しない

リポソームをワクチン抗原の担体として用い、ワクチン創製に応用することを目的とした検討は 1970 年代から行われており、それ以来数多くの研究者によって報告がなされているが、その多くは抗原をリポソームの内水相に内包するものである。これに対し、我々は、抗原をリポソームの表面に化学結合する方法を取った。この方法の利点としては、抗原を内包した場合と比較してリポソームへの抗原の結合効率が高いこと、および、リポソーム表面に抗原を結合することにより抗原提供細胞によって異物として認識され易くなり、その結果として免疫効率が高まること、が挙げられる。さらに、リポソーム結合抗原をマウスに免疫すると抗原特異的な IgG 抗体産生が誘導される一方で、IgE 抗体産生が抑制されることが明らかになった^(1,2)。病原体に対して中和抗体として作用するのは主として IgG 抗体であり、IgE 抗体はワクチン抗原に対するアレルギー反応に関与し、ワクチン接種における副反応の原因のひとつとなっている。現行のワクチンに使用されているアルミニウムアジュバントはワクチン抗原に特異的な IgE 抗体の産生を高効率に誘導することが知られていることから、IgE 抗体産生を誘

導しないリポソーム結合抗原はアレルギー反応を惹起しにくいワクチンとしての応用が期待された。

細胞性免疫を誘導するリポソーム結合抗原

リポソームのアジュバント効果はリポソームの脂質組成によって顕著に異なることが明らかになった⁽³⁾。リポソームの膜流動性と抗体産生の誘導効率とが良く相関し、リポソームを構成する脂質のアシル鎖長（炭素数）が短いほどリポソームの膜流動性が増加し、これと相関して抗体産生の誘導効率が高まること、および、不飽和脂肪酸からなるリポソームは飽和脂肪酸からなるリポソームと比較して顕著に膜流動性が高く、従って抗体産生の誘導効率も高いことがわかった。これに加えて、不飽和脂肪酸からなるリポソームに結合した抗原は CD4 陽性 T 細胞だけでなく MHC class I を介して CD8 陽性 T 細胞にも提示されることが明らかになり、このリポソームに腫瘍特異抗原を結合してマウスに投与することによって抗原特異的 CTL による腫瘍拒絶が誘導されることが確かめられ⁽⁴⁾、このリポソーム処方 を CTL 誘導型ウイルスワクチンの創製に応用することが期待された⁽⁵⁾。

不飽和脂肪酸からなるリポソームに結合した抗原によって CTL が誘導される機序の詳細について検討を行った結果、通常の外来抗原は主として phagocytosis（食作用）によって生体内の抗原提供細胞に取り込まれるのに対して、不飽和脂肪酸リポソームに結合した抗原は pinocytosis（飲作用）によっても取り込まれることが確かめられ、これが MHC class I を介した抗原提供～CD8 陽性 T 細胞の活性化～CTL 誘導へと繋がるものと考えられた⁽⁶⁾。

細胞性免疫誘導型インフルエンザワクチンの開発

ヒト MHC class I に拘束性のインフルエンザウイルス由来 CTL エピトープを同定し、インフルエンザワクチンの開発を試みた。先ずインフルエンザウイルスのゲノムを構成する 8 分節のうち、HA、NA 以外の 6 分節からヒト MHC class I に親和性のペプチドを検索し、これらのペプチドとリポソームとの結合物を作製した。これをヒト MHC クラス I (HLA-A2) を発現したトランスジェニックマウス (HHD マウス) に免疫したところ、高効率に CTL を誘導するペプチドが多数見いだされ、その中から季節性インフルエンザウイルス H1N1 型、H3N2 型、および高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 型に属する多くの株において高度に保存された CTL エピトープが複数同定された。

CTL エピトープペプチドとリポソームとの結合物を HHD マウスに免疫し、ウイルス感染抵抗性の誘導を検討したところ、免疫マウスにおいてインフルエンザウイルスの肺における増殖が (H1N1 型、H3N2 型ともに) 顕著に抑制されることが確かめられた。

このことから、インフルエンザウイルス由来の内部タンパクから同定されたエピトープを用いた CTL 誘導型リポソームワクチンは異なる亜型に属するインフルエンザウイルスに対して感染抵抗性を誘導することが確認された。

以上の様に、我々が開発したリポソームワクチンは高効率に CTL を誘導し、このワクチンの投与により肺におけるウイルス増殖を顕著に抑制することが示唆された。1 種類のワクチンが異なる亜型に属するインフルエンザウイルスに対して有効であったことに加えて、免疫 1 週間後に感染抵抗性が誘導されることが確かめられたこと

から、CTL 誘導型リポソームワクチンはインフルエンザパンデミックに対する発生時対応としても有効であると期待される⁽⁷⁾。

まとめ

我々が開発した CTL 誘導型リポソームワクチンは、従来の抗体誘導型ワクチンの欠点を補完することが出来るという点において特に有意義であると考えられる。この観点から、頻りに遺伝子変異をおこすことによって表面抗原の構造を変え、抗体による免疫応答から逃れるタイプのウイルス（インフルエンザウイルスの他、エイズウイルス、SARS ウイルス、C型肝炎ウイルス等）に対するワクチンの創製への応用が期待される。

参考文献

1) Taneichi M, Naito S, Kato H, Tanaka Y, Mori M, Nakano Y, Yamamura H, Ishida H, Komuro K, Uchida T. (2002) T cell-independent regulation of IgE antibody production induced by surface-linked liposomal antigen. *J Immunol* 169:4246-4252.

2) Uchida T. (2003) Surface-linked liposomal antigen induces IgE-selective unresponsiveness in a T-cell

independent fashion. *Current Drug Targets* 3:119-135.

3) Tanaka Y, Kasai M, Taneichi M, Naito S, Kato H, Mori M, Nishida M, Maekawa N, Yamamura H, Komuro K, Uchida T. (2004) Liposomes with differential lipid components exert differential adjuvanticity in antigen-liposome conjugates via differential recognition by macrophages. *Bioconj Chem* 15:35-40.

4) Taneichi M, Ishida H, Kajino K, Ogasawara K, Tanaka Y, Kasai M, Mori M, Nishida M, Yamamura H, Mizuguchi J, Uchida T. (2006) Antigens chemically coupled to the surface of liposomes are cross-presented to CD8⁺ T cells and induce potent antitumor immunity. *J Immunol* 177: 2324-2330.

5) Uchida T, Taneichi M. (2008) Clinical application of surface-linked liposomal antigens. *Mini-Rev Med Chem* 8:184-192.

6) Tanaka Y, Taneichi M, Kasai M, Kakiuchi T, Uchida T. (2010) Liposome-coupled antigens are internalized by antigen-presenting cells via pinocytosis and cross-presented to CD8⁺ T cells. *PLoS ONE* 5(12):e15225.

7) Uchida T. (2011) Development of a cytotoxic T-lymphocyte-based, broadly protective influenza vaccine. *Microbiol Immunol* 55:19-27.

- - - - - M E M O - - - - -
