HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	KALAペプチド修飾ナノ粒子を基盤としたワクチン技術の開発とがん免疫療法への応用［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	三浦, 尚也
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第13179号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/69963
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Naoya_Miura_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（薬科学）氏　名　　三　浦　　尚　也

	主　査	教　授	原　島　秀　吉
審査担当者	副　査	教　授	小　川　美　香　子
	副　査	准教授	山　田　勇　磨
	副　査	教　授	秋　田　英　万（千葉大学大学院薬学研究院）

学 位 論 文 題 名

KALA ペプチド修飾ナノ粒子を基盤としたワクチン技術の開発とがん免疫療法への応用

博士学位論文審査等の結果について（報告）

現在までにがん免疫療法は第 4 のがん治療法として研究開発が進められてきた。特に抗 PD-1 抗体に代表されるような免疫チェックポイント阻害剤は、第 4 のがん治療法としての地位を確固たるものとした薬剤である。一方で、その奏効率は未だ低く、これを改善するための戦略が研究されている。その 1 つとして、がん特異的な免疫応答を誘導するがんワクチン技術が改めて注目されており、効率的にがんに対する免疫応答を惹起可能なワクチン技術の開発が求められている。

このような状況を踏まえて著者は、がん免疫を効率的に誘導可能な核酸ワクチンキャリアの開発を試みた。核酸ワクチンは、細胞自身に抗原タンパク質を発現させる事で免疫応答を誘導するワクチン技術であり、がんに有効な細胞性免疫が誘導されることから、がんワクチン技術として期待されている。一方で、核酸は水溶性の高い巨大な高分子である事から、単独での導入は困難である。これを克服するため著者は、KALA ペプチド修飾多機能性エンベロープ型ナノ構造体（KALA-MEND）の応用を試みた。MEND は核酸をポリカチオンで凝縮させコア粒子化し、それを脂質膜で覆ったリポソーム型核酸キャリアである。その表面に、α ヘリックス構造を有する KALA ペプチドを修飾する事で、樹状細胞株である JAWSII 細胞への効率的な遺伝子導入能と免疫活性化能が示されていた。一方でマウスプライマリー樹状細胞である骨髄由来樹状細胞（BMDC）に対する活性や核酸ワクチンとしての機能は明らかでなかった。

始めに著者は KALA-MEND が BMDC に対して遺伝子導入能と免疫活性化能を有するかについて評価した。その結果、KALA-MEND は BMDC に対する効率的な遺伝子導入を達成する事、及び細胞質内 DNA センサーを介して、BMDC から I 型インターフェロンや炎症性サイトカイン

を誘導する事も明らかとした。これらの結果は、KALA-MEND が樹状細胞に対する遺伝子導入キャリアとして有用であると同時に、優れたアジュバントとしても機能する事を見出したものである。実際に、モデル抗原である OVA をコードする pDNA を KALA-MEND により導入された BMDC をマウスへ免疫することで、OVA 発現リンパ腫に対する治療的な抗腫瘍効果を得る事に成功した。本結果は KALA-MEND が、がんに対する樹状細胞型 DNA ワクチンキャリアとして有用である事を示したものである。

次に著者は、ヒト臨床における抗原として用いられる、NY-ESO-1 を標的とした核酸ワクチンキャリアの開発を試みた。その過程で、効率的かつ安全な遺伝子導入を達成するため、mRNA を遺伝子ベクターとして用い、mRNA を効率的に樹状細胞へ導入可能なナノキャリアの開発を試みた。その結果、KALA ペプチド修飾リポソームの表面に mRNA を静電的相互作用により搭載した、KALA-Lipoplex が BMDC に対する効率的な mRNA 導入を可能とする事を見出した。その活性は、mRNA 導入に頻用される、カチオン性脂質 DOTAP からなる Lipoplex に比べても優れていた。mRNA 配列の改良もおこなう事で、KALA-MEND による pDNA 導入に比べ、約 50 倍の遺伝子導入活性の向上を達成した。KALA-Lipoplex により OVA をコードする mRNA を導入された BMDC を免疫することで、OVA 特異的な CTL の誘導が認められた事から、KALA-Lipoplex は樹状細胞型 mRNA ワクチンキャリアとして有用である事を見出した。更に、作用機序の異なる 5 種類のアジュバントとの併用を検討した結果、脂質アジュバントである MPLA 搭載 KALA-Lipoplex により NY-ESO-1 をコードする mRNA を導入された BMDC の免疫が、NY-ESO-1 発現大腸がん細胞に対して治療的な抗腫瘍効果を示す事を実証した。本結果は、KALA-Lipoplex による樹状細胞型 mRNA ワクチンが実弾抗原に対する抗腫瘍効果を有する事を示すと同時に、MPLA が mRNA ワクチンキャリアのアジュバントとして有用である事を見出した結果である。

以上、三浦氏の博士論文は、KALA ペプチド修飾リポソームを基盤とした、樹状細胞型核酸ワクチンキャリアの開発に成功したものであり、今後のがん免疫療法への貢献が期待されるものである。よって著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格のあるものと認める。