

Press Release

研究成果

報道解禁あり

本研究成果には、J. Immunology 誌から下記報道解禁が設定されています。

テレビ・ラジオ・WEB : 5月15日(月)午前3時(日本時間)
 新聞 : 5月15日(月)朝刊 (日本時間)

平成29年5月12日

分野: 生命科学・生命科学・医学系 キーワード: 免疫、DNAワクチン、細胞外小胞、がん

細胞外小胞を利用した新規ワクチンによる抗腫瘍効果を確認しました

-がん、感染症やアレルギーの新治療法開発に期待-

【研究成果のポイント】

- CD63^{※1}というたんぱく質を利用して、細胞外小胞^{※2}に抗原を組み込んだDNAワクチン^{※3}を新たに開発した。
- このDNAワクチンに、既存のワクチンと比べて、マウスの体内でがん細胞の増殖を抑える非常に優れた効果があることを確認した。
- 本成果は、ヒト向けDNAワクチンの実用化だけでなく、がんや感染症、アレルギー疾患などの新しい治療法の実現につながることを期待される。

❖ 概要

国立研究開発法人 医薬基盤健康栄養研究所 ワクチン・アジュバント研究センターの石井 健(いしい けん)センター長(兼:大阪大学免疫学フロンティア研究センター特任教授)と、神沼 智裕(かぬま ともひろ)特任研究者らの研究グループは、CD63というたんぱく質を利用して、**細胞外小胞に抗原を組み込んだDNAワクチンを新たに開発しました(図1)**。

これまで、細胞外小胞に抗原を組み込むことができれば、高いワクチン効果が得られることがわかっていましたが、実際に作製することは困難でした。今回、CD63を利用することにより、細胞外小胞に抗原を効率よく組み込むことができ、その結果、優れたワクチン効果が得られることがわかりました。

今後、本研究成果は、がんや感染症、アレルギーなど様々な疾患を対象としたDNAワクチンの開発につながることを期待されます。

本研究成果は、米国の免疫学会誌『The Journal of Immunology』にオンライン掲載されます。

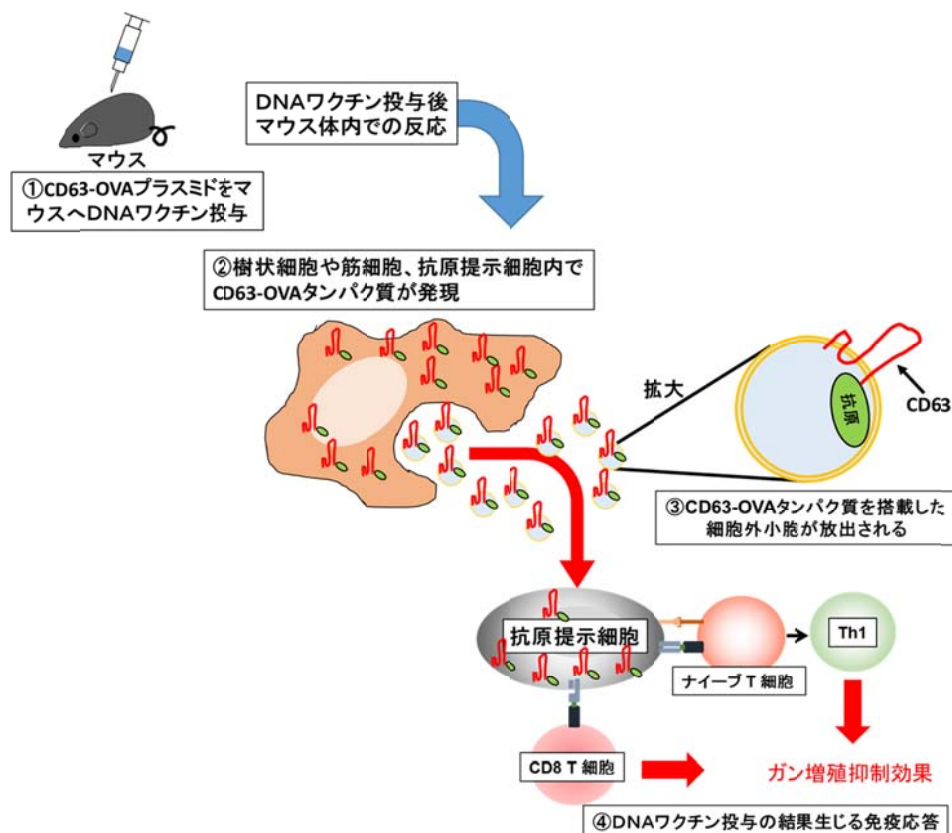


図1. 細胞外小胞に抗原を搭載するDNAワクチン

Press Release

❖ 研究の背景

DNAワクチンは、安価で迅速に作製できる上に、がん細胞やウイルス感染細胞などを破壊する細胞傷害性T細胞(CTL)を活性化することから、がん治療や感染症予防への応用が期待され、世界中で研究開発が行われています。

DNAワクチンは、動物には既に使用されていますが、ヒトにおいては、期待された効果が得られていないため、実用化には至っていません。そこで、エレクトロポレーション法^{注4}やジェネティックアジュバント^{注5}、抗原デリバリーシステム^{注6}など、DNAワクチン効果を改善するための研究が進められています。

近年、細胞から細胞外へと分泌される細胞外小胞が注目を浴びています。細胞外小胞は、直径約 40-100 ナノメートルで、その膜上には、CD63というたんぱく質が発現しています。細胞外小胞は、細胞と細胞のコミュニケーション機能に関与することが報告されており、抗原デリバリーシステムへの応用が試みられています。実際に、DNAワクチンへの応用も報告されています。そこで本研究では、CD63を利用して細胞外小胞に抗原を組み込むことにより、高いワクチンの効果が得られるのではないかと考えました。

❖ 本研究の内容

細胞外小胞に抗原を組み込むために、モデル抗原である卵白アルブミン(OVA)にCD63を融合させたプラスミドDNA(pCD63-OVA)を作製しました。培養細胞において、OVAとCD63の融合タンパク質(CD63-OVA タンパク質)は、細胞分画のみならず細胞外小胞分画にも発現していたことから、CD63は、細胞外小胞に抗原を組み込む機能を有する可能性が示唆されました(図2)。

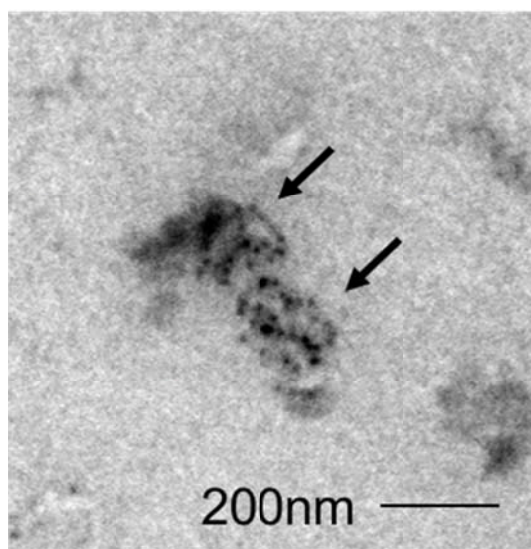


図2: 電子顕微鏡でとらえたOVAタンパク(黒い点、矢印)を搭載した細胞外小胞

次に、作製したpCD63-OVAを筋注エレクトロポレーション法によりマウスに投与したところ、対照群(OVA プラスミド;pOVA)と比較して、細胞傷害性T細胞(CTL)の数は、有意に増加していることがわかりました(図3)。また、細胞外小胞には発現しないカルネキシンとOVAを組み込んだDNAワクチンと比較した実験により、この強い細胞傷害性T細胞(CTL)

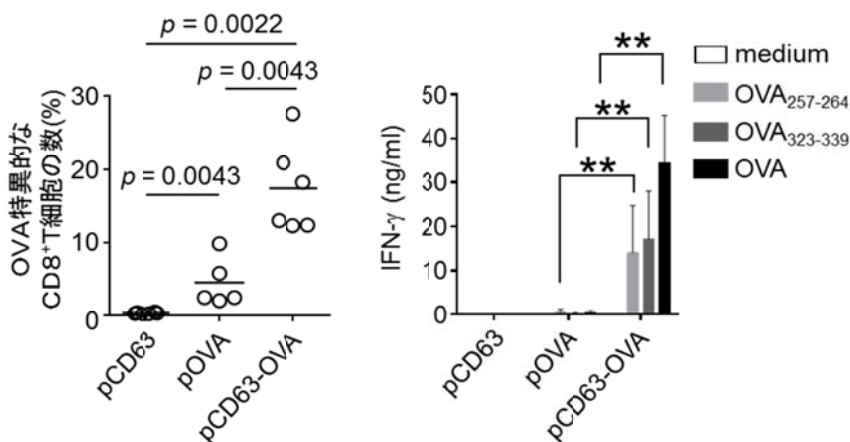


図3: CD63-OVA融合タンパク遺伝子をコードしたDNAワクチンの免疫は強い細胞性免疫を誘導する。

の誘導は、抗原が単に膜に局在するだけではなく、細胞外小胞に組み込まれた結果得られたものであることが明らかとなりました。

Press Release

さらに、この pCD63-OVA DNAワクチンのがん細胞に対する効果に関して検討をおこないました。pCD63-OVA をDNAワクチン投与したマウスにOVAを発現しているマウスの胸腺腫であるE.G-7をマウス皮下に移植しました。その結果、対照群と比べて、pCD63-OVA DNAワクチン群では、がん細胞の増殖を強く抑制することが確認されました(図4)。

以上の結果から、抗原を細胞外小胞に組み込むことで、がん細胞やウイルス感染細胞などを破壊する細胞傷害性T細胞(CTL)を強く誘導できるという基礎データが得られました。この研究成果は、新しいDNAワクチンの開発に多大に貢献するものです。

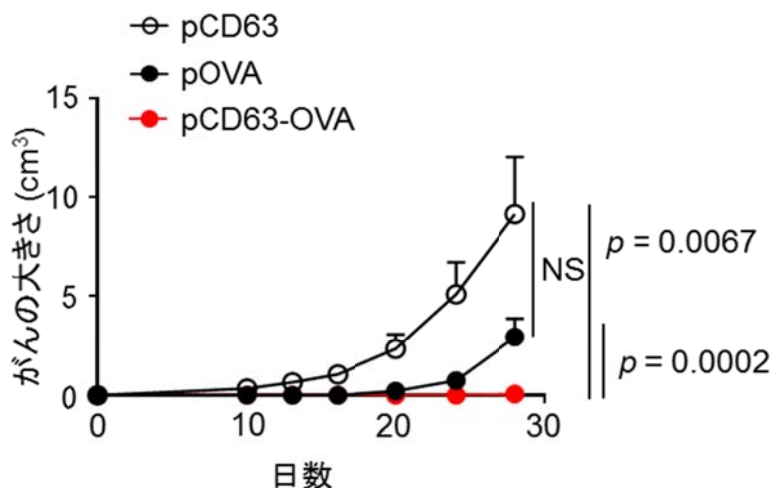


図4:pCD63-OVA DNAワクチンによるがん細胞増殖抑制効果

❖ 本研究成果の意義

DNAワクチンはプラスミドDNAを大腸菌培養で大量に生産できるため、安価で迅速に作製できる次世代のワクチンとして1990年代に発明されました。その後、家畜やペットのワクチンとして、最近では、ヒトのウイルス、がん、アレルギーなどに対するワクチンとして、多くの臨床開発が進められています。しかし、動物で見られるような強い効果が、ヒトではみられず、その効果を高める技術が求められていました。本研究により、CD63を組み込んだDNAワクチンにより、細胞傷害性T細胞(CTL)が強く誘導されることが確認されたことから、より効果のあるヒト向けDNAワクチンの作製につながるものと期待されます。

近年、がん細胞を攻撃する抗体や免疫細胞の働きによって、がん細胞の増殖を抑える治療法(がん免疫療法)が注目されており、がん免疫療法で使用されるがんワクチンの研究が進められています。従来型のワクチン(タンパクやペプチド抗原を用いたワクチン)では、強い効果を得るためには特殊なアジュバント^{注7}が必要であり、作製には多くの労力とコストがかかります。また、アミノ酸配列が既知の抗原しか組み込むことができないといったデメリットもあります。一方、DNAワクチンは、液性免疫と細胞性免疫の両方を誘導するため、強い効果が期待され、安価で迅速に作製できるため、がんの効果があるヒト向けDNAワクチンが開発されれば、国民のがん治療の質の向上に貢献するものと考えられます。本研究成果は、この新しいワクチンの開発にも応用可能であり、ヒト向けDNAワクチンの早期の実用化が期待されています。また、がん患者さんには、患者さんごとに異なる抗原(ネオアンチゲンといわれる変異抗原)が発現することがわかっています。今回の成果を応用し、細胞外小胞にネオアンチゲンを組み込んだDNAワクチンを作製することができれば、さらに有効なパーソナルDNAワクチン開発につながると思われれます。

❖ 用語解説

注1)CD63

細胞外小胞の膜上にあるたんぱく質の一種で、テトラスパニンファミリーに分類される。テトラスパニンファミリーのたんぱく質は、近年、ウイルス感染や受精といった細胞融合において重要な役割を果たしていることがわかってきている。

注2)細胞外小胞

さまざまな細胞から分泌される物質で、血液や尿、母乳、唾液などに含まれる。元来、細胞内の老廃物を細胞外に輸送するものと考えられていたが、近年、遺伝子の働きに関係する多くの物質が含まれていることが発見され、細胞間の遺伝情報の伝達に大きな役割を果たしていると考えられている。

注3)DNAワクチン

ワクチンとは、ある病原体への抵抗力をつけるための薬である。毒性を弱めたりなくしたりした病原体を成分としており、投与することで、その病原体に対する抵抗力がつく。(例;インフルエンザワクチン 等)

DNAワクチンとは、病原体の遺伝情報を記録している物質(DNA)を成分にしたもので、従来のワクチンよりも高い効果が得られる。そのため、ワクチンで治療することが多い感染症だけでなく、がんやアレルギーに対するワクチンとしても開発される可能性がある。

注4)エレクトロポレーション法

電気刺激により、外部から生体内・細胞内へ遺伝子を導入する手法。

注5)ジェネティックアジュバント

自然免疫シグナル伝達経路を活性化させることで、免疫応答を強く誘導すること。

注6)抗原デリバリーシステム

抗原を免疫細胞などに送達させる手法。

注7)アジュバント

薬の作用を増強する目的で添加される物質・成分の総称。

❖ 論文タイトル

“CD63-mediated antigen delivery into extracellular vesicles via DNA vaccination results in robust CD8⁺ T cell responses”

❖ 著者

Tomohiro Kanuma, Takuya Yamamoto, Kouji Kobiyama, Eiko Moriishi, Yuji Masuta, Takato Kusakabe, Koji Ozasa, Etsushi Kuroda, Nao Jounai, and Ken J. Ishii.

❖ 掲載雑誌

The Journal of Immunology (ジャーナルオブイミュノロジー、米国免疫学会雑誌)

● 特記事項

本研究は、厚生労働省科学研究費の研究助成を受けて行われました。

❖ 本件に関する問い合わせ先

石井 健 (いしい けん)

E-mail: kenishii@nibiohn.go.jp 又は kenishii@biken.osaka-u.ac.jp

国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所

ワクチン・アジュバント研究センター

アジュバント開発プロジェクト

〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目6番8号

TEL: 072-641-8043 FAX: 072-641-8079

URL: <http://www.nibiohn.go.jp/adjutant/>