

論文の内容の要旨

論文題目「オリゴマンノース被覆リポソーム (OML) による *in vitro* での単核貪食細胞の活性化に関する研究」

学位申請者 松岡 祐子

キーワード：抗原提示細胞、ワクチン、アジュバント、
オリゴマンノース被覆リポソーム、細胞性免疫

地球温暖化やグローバル化が進むことによって、新型インフルエンザやマラリア・結核といった新興および再興感染症の脅威が世界的に増加している。一方、がんをはじめとして多くの炎症性疾患は免疫系の破綻が疾患発症の原因の一つになっていることが明らかになってきており、免疫系に介入して疾患の予防や治療を可能とするワクチンの需要は大きくなっている。現在ワクチンは、純度の高い抗原タンパク質だけを含むサブユニットワクチンへと移行しつつあるが、サブユニットワクチンには免疫を賦活化するアジュバントの存在が必要不可欠となっている。現在用いられている代表的なアジュバントである水酸化アルミニウムゲル (Alum) は、抗体産生を伴う液性免疫を広く誘導することはできるが、がんやウイルス感染症の制御に必要な細胞性免疫の誘導能は極めて低い。そこでこれらの疾患に適応できるワクチンのために、細胞性免疫を効率的に誘導しヒトに対して安全に使用できるアジュバントの開発が望まれている。

申請者はこの課題を解決するために、オリゴマンノース被覆リポソーム (OML) に着目した。本論文では、DPPC:cholesterol:Man3-DPPE (10:10:1) で構成され粒子径を約 1 μm に調整したリポソームを Man3-OML と呼ぶ。マウスを用いた研究から Man3-OML は、その内部に封入された抗原を抗原提示細胞 (APC) に対して効率良く送達するとともに、APC を活性化し細胞性免疫を誘導できるアジュバント活性を有しており、Man3-OML を基盤としたワクチンは、抗原特異的な細胞性免疫を誘導することで、がんや原虫感染症の病態を制御できることが示されていた。しかし Man3-OML のアジュバント活性は、Man3-OML をマウスに直接投与した場合にのみ観察されており、試験管内 (*in vitro*) での Man3-OML 刺激によるアジュバント活性の発現については確認されていなかった。また、Man3-OML がヒト APC に対してもアジュバント活性を有しているかについては明らかではなかった。そこで申請者は、ヒトの細胞性

免疫誘導型ワクチンのアジュバントとして Man3-OML が適応可能であることを検証するため、*in vitro* でのヒト APC の Man3-OML による活性化について評価を行う本研究を着想した。

本論文は、全 5 章から構成されている。

第 1 章では、本研究の背景、目的と意義、および本論の構成の概略について述べた。

第 2 章では、Man3-OML に対するマウス APC の応答を *in vitro* で再現することを試みている。その結果、マウスの末梢血中の炎症性単球が *in vitro* で Man3-OML に対して応答性を示し、MHC class II および補助刺激分子の発現上昇を伴い活性化することを明らかにした。本章で得られた結果の中で特筆すべき点は、(1) *in vitro* で抗原封入 Man3-OML を用いて APC を刺激しても、マウス生体に Man3-OML を投与した場合と同様に MHC class I へ封入抗原をクロスプレゼンテーションでき、CD8⁺T 細胞を活性化できる、(2) *in vitro* で抗原封入 Man3-OML を取り込んで活性化した炎症性単球を生体内に再導入すると、Man3-OML で直接免疫した場合と同様に抗原特異的な Th1 免疫応答を誘導できる、という 2 点である。本章で述べられている成果は、*in vitro* で Man3-OML によって活性化した細胞が生体内で T 細胞を活性化できる APC へと導かれ、適切な細胞性免疫応答を誘導できることを示唆しており、生体外 (*ex vivo*) でのヒト成熟樹状細胞の作成に OML を応用する道筋が開かれた。

第 3 章では、様々なオリゴマンノースで被覆した OML によるヒト APC の *in vitro* で活性化について、PMA で刺激した THP-1 細胞（ヒト単球性白血病細胞）をモデル細胞として用いて検証し、Man3-OML が、ヒト APC をマウス炎症性単球と同様に *in vitro* で活性化できる最も強いアジュバント活性を有していることを明らかにした。

第 4 章では、第 2 章と第 3 章の成果を踏まえ、Man3-OML のヒトワクチンアジュバントとしての適合性を検証するため、健常人の末梢血由来の炎症性単球および単球由来樹状細胞 (moDC) の Man3-OML による活性化および成熟状態を評価した。その結果、moDC は Man3-OML の刺激によって成熟 DC の表現型を示すように活性化されることを確認するとともに、Man3-OML によって *in vitro* で活性化・成熟した moDC は、T 細胞との会合後も生理活性をもつ IL-12p70 の産生能力を保持していることを示した。この結果から、Man3-OML は *in vitro* で、他のサイトカインなどを必要とせず単独で、ヒト未熟 moDC を細胞性免疫応答が誘導できるような十分な成熟状態に導くことができることが明らかになった。

第 5 章では、本研究で得られた成果を総括し、がん細胞免疫療法やヒトワクチンへの OML の応用展開の可能性やその有用性について考察した。

以上