

令和 4 年 4 月 26 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07773

研究課題名(和文) 膜輸送性高分子をキャリアーとした粘膜投与型ロングペプチド癌ワクチンの開発研究

研究課題名(英文) Development of a mucosal long peptide cancer vaccine using a membrane transport polymer as a carrier.

研究代表者

白川 利朗 (SHIRAKAWA, TOSHIRO)

神戸大学・科学技術イノベーション研究科・教授

研究者番号：70335446

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：免疫チェックポイント阻害剤の実用化以降、癌ワクチンを含む癌免疫療法剤の開発が進んでいる。これまでの癌ワクチンはショートペプチドが主流であったが、結果は満足なものではなく、複数のCTLエピトープを含むロングペプチドワクチンの開発が進んでいる。ロングペプチドは30以上のアミノ酸からなり、これを如何に樹状細胞内にデリバリーするかが課題となっている。今回、我々は膜透過性オリゴアルギニンを結合させた膜輸送性高分子を合成し、ロングペプチドと混合して生体粘膜上に投与し、ロングペプチドを高効率にDC内に送り込むことができる、粘膜投与型ロングペプチド癌ワクチンを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害剤の実用化以降、癌ワクチンを含む癌免疫療法剤の開発競争が激化している。特に現在、実臨床での奏効率が2～3割に留まる免疫チェックポイント阻害剤の奏効率を向上できる併用剤の開発が強く望まれている。本研究で開発した高分子ポリマーを用いた新規がんワクチンはそれらのニーズを満たす大きな可能性を有しており、今後、臨床開発を進めていく意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Since the commercialization of immune checkpoint inhibitors, the development of cancer immunotherapeutic agents including cancer vaccines has progressed. Until now, short peptides have been the mainstream of cancer vaccines, but the clinical outcomes of those were not satisfactory, and the development of long peptide vaccines containing multiple CTL epitopes is in progress. Long peptides consist of more than 30 amino acids, and the obstacle to success is how to deliver them into dendritic cells. In the present study, we synthesize a membrane-transporting polymer bound with membrane-permeable oligoarginine and conjugate it with a long peptide and administer them to the biological mucosa, and the long peptide can be efficiently delivered into the DCs. We developed an efficient long peptide cancer vaccine.

研究分野：がん免疫療法学

キーワード：ワクチン 腫瘍免疫 高分子ポリマー 膜輸送性タンパク ロングペプチド

## 1. 研究開始当初の背景

PD-1/PD-L1 阻害剤を始めとする免疫チェックポイント阻害剤 (Immune Checkpoint Inhibitor; ICI) の開発等が、*Science* 誌の 2013 年のブレイクスルーに選ばれて以降、癌免疫療法 (Immuno-Oncology; IO) の普及が急速に進んでいる (*Science* 2013: 342, p1432-)。昨今の IO では、ICI によって癌の免疫学的な微小環境を調整することにより、少ない副作用で長期の抗腫瘍効果を得ることができるが、ICI 単独でそのような効果を示す患者は全体の約 3 割までにとどまっている (*Clin Ther.* 2015:37,p764-)。癌免疫療法の根本原理は腫瘍特異的な CTL (CD8 陽性細胞) の誘導であり、人工的に CTL を誘導でき、ICI との併用効果も有する **癌ワクチン** の開発が切望されている。

**ロングペプチド癌ワクチン**：CTL は MHC class I により提示される、8~10 アミノ酸のペプチドを腫瘍抗原エピトープとして認識することから、現在までに腫瘍関連抗原 (Tumor associated antigen; TAA) の CD8 エピトープを用いた 8~10 アミノ酸のショートペプチドワクチンが数多く開発されてきたが十分な結果は得られていない。強力な CTL を誘導するには、腫瘍抗原が抗原提示細胞である樹状細胞 (Dendritic cell; DC) の内部に取り込まれて処理され、その断片であるエピトープが MHC Class I と共に表層に発現される必要がある。ショートペプチドは DC や、T 細胞、B 細胞の表層に発現する MHC class I と直接結合してしまい強力な CTL を誘導することができず、腫瘍抗原に対する免疫寛容も引き起こしているとされている (*Nature Reviews Cancer* 2008: 8, p351-)。それに対して CD8 エピトープとヘルパー T 細胞 (CD4 陽性細胞) が認識する MHC class II により提示される CD4 エピトープの両者を複数含んだロングペプチドは、MHC class I に直接結合することなく DC 内で処理され、その結果として CD8 および CD4 両方のエピトープが提示され、ヘルパー T 細胞および CTL を強力に活性化することができる。ロングペプチドは 30 以上のアミノ酸からなり分子量は 3000 を超えることから、ロングペプチドを DC に効率よくデリバリーする **キャリアシステムの開発** が成功のカギとなっている。

## 2. 研究の目的

**膜透過ペプチド (オリゴアルギニン) 固定化高分子をキャリアーとした粘膜投与型ワクチン**：近年、ドラッグデリバリーシステム (Drug Delivery System; DDS) のキャリアーとして、HIV ウイルスの感染機構の研究に見い出された細胞膜を容易に透過する膜透過ペプチドが注目を浴びている (*Adv Drug Deliv Rev* 2008: 60, p598-607,.)。膜透過ペプチドとしてはオリゴアルギニン等があり、これらのペプチドはマクロピノサイトーシス (食細胞以外の細胞も備えている貪食作用の 1 つで飲作用とも呼ばれる) により細胞内に取り込まれ、DC も主に飲作用で抗原を取り込むとされている。共同研究者の佐久間らは、オリゴアルギニンを側鎖に化学結合させた高分子 (ヒアルロン酸) を設計・合成し、低膜透過性分子と混合して生体粘膜上に適用するだけで、膜上に留まる同高分子により繰り返し低膜透過性分子 (本研究ではロングペプチド) を細胞内 (本研究では DC) に送り込む DDS を世界で初めて開発した (図 1)。現在までに、医薬品として使用するために、生体内で分解される膜透過ペプチド固定化高分子として、オリゴアルギニン固定化ヒアルロン酸を作製し、インフルエンザ抗原タンパクを本高分子キャリアーと混合してマウスの鼻粘膜に投与し、抗原特異的免疫の誘導に成功している。

**本研究では、本 DDS キャリアーを利用した粘膜投与型ロングペプチド癌ワクチンを作製し、その有用性を確認する。**

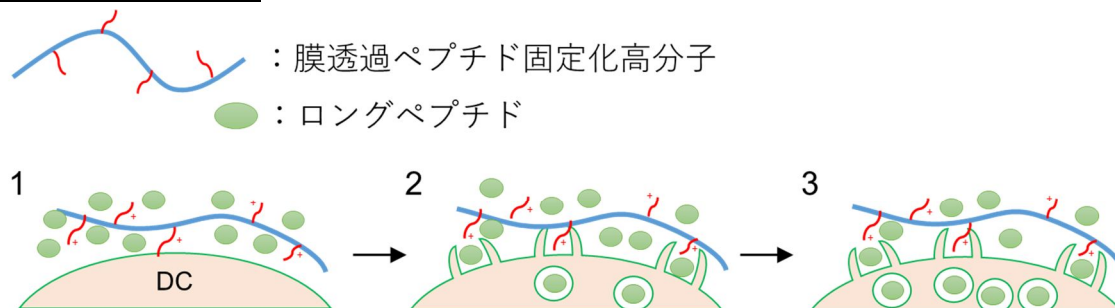


図 1、膜透過ペプチド固定化高分子によるロングペプチドの DC へのデリバリー

### 3. 研究の方法

#### E6/E7 タンパクをターゲットとしたワクチン

ターゲット抗原として代表的な腫瘍ウイルス(Oncovirus)であるヒトパピローマウイルス(HPV16)のE6/E7タンパクを選択する。各種実験モデルとしてE6/E7遺伝子導入マウス肺細胞、TC-1/C57BLマウス(MHC: H2-b)を使用する。C57BLマウスではE6/E7タンパクのMHC拘束性エピトープが同定されており(Vaccine 2007:25,p3302)、それらの情報を基にロングペプチドを合成する。C57BLマウスにTC-1皮下腫瘍を作製し、鼻粘膜投与ロングペプチドワクチンの抗腫瘍効果を検討する。

#### WT1 タンパクをターゲットとしたワクチン

現在までに、我々の研究室では、癌ワクチンに用いる抗原タンパクとしてもっとも有望であるとされるWT1タンパク(Clin Cancer Res. 2009;15:5323-)をピフィズス菌表層に発現させたWT1経口癌ワクチンを作製し、マウス前立腺癌モデル、TRAMP-C2/C57BLマウス(H2-b)で顕著な抗腫瘍効果を確認している。今回、WT1の複数のCD4およびCD8エピトープを含んだロングペプチドを合成する。粘膜投与型WT1ロングペプチドワクチン、の抗腫瘍効果をマウス白血病腫瘍モデルC1498-WT1で検討する。

### 4. 研究成果

#### E6/E7 タンパクをターゲットとしたワクチン

TC-1腫瘍細胞接種後、HPVのE6E7ロングペプチドを高分子VP-R8と混合して鼻粘膜投与(i.n.)または、不完全フロイントアジュバント(IFA)と混合して腹腔内投与(i.p.)し、腫瘍体積を測定した。結果、高分子VP-R8を混合した鼻粘膜投与群は、腹腔内投与群や高分子VP-R8を混合しなかったワクチンに比較して有意に腫瘍増殖を抑制した(図2)。

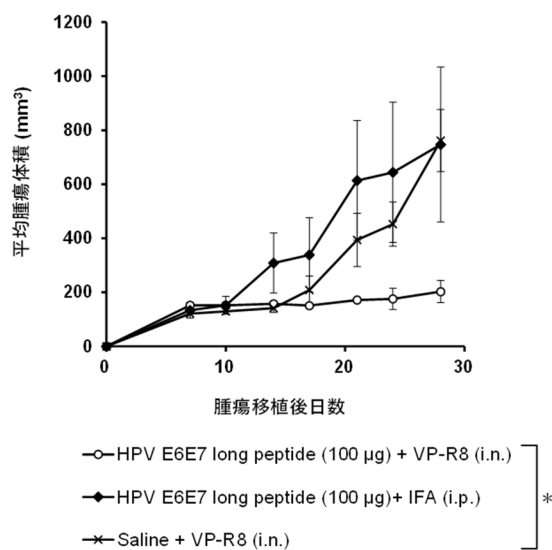


図2. E6E7 ロングペプチドワクチン、鼻粘膜投与と腹腔内投与の比較

## WT1 タンパクをターゲットとしたワクチン

C1498-WT1 腫瘍細胞接種後、WT1 ロングペプチドを高分子 VP-R8 と混合して鼻粘膜投与 (i.n.) または、不完全フロイントアジュバント (IFA) と混合して腹腔内投与 (i.p.) し、腫瘍体積を測定した。結果、高分子 VP-R8 を混合した鼻粘膜投与群は、腹腔内投与群や高分子 VP-R8 を混合しなかったワクチンに比較して有意に腫瘍増殖を抑制した (図 3)。

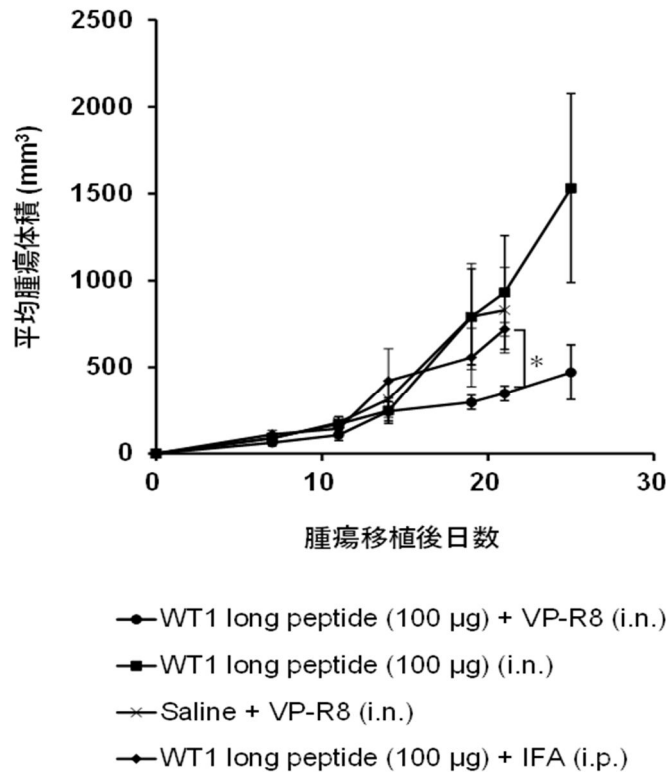


図 3 . WT1 ロングペプチドワクチン、鼻粘膜投与と腹腔内投与の比較

(まとめ) HPV の E6E7 タンパクまたは WT1 タンパク由来のロングペプチドを膜輸送性高分子ポリマー (VP-R8) と混合した、鼻粘膜ロングペプチドワクチンを作製した。これらの鼻粘膜ワクチンは動物実験で高い抗腫瘍効果を示した。これらの研究成果は、今後、本鼻粘膜ワクチンの臨床開発を実施する科学的根拠となり得る。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 樹状細胞ワクチンの製造方法	発明者 白川利朗、佐久間信至、他	権利者 神戸大学、摂南大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-187400	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 がんワクチン	発明者 白川利朗、佐久間信至、他	権利者 神戸大学、摂南大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-172241	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐久間 信至  (SAKUMA SHINJI)  (80388644)	摂南大学・薬学部・教授     (34428)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------