



非炎症性抗がん免疫アジュバントの開発に成功 －副作用の少ない抗がん免疫ワクチンへの適用に期待－

研究成果のポイント

- ・ 過剰な炎症性サイトカインを誘導せず、がんを退縮させる新規核酸免疫アジュバント^{注1)}の化学合成と開発に成功した。
- ・ この新規核酸アジュバントは Toll-like receptor 3 (TLR3)だけを活性化するが、他の機能分子 (RNA/DNA センサーなど)は活性化しない。
- ・ このアジュバントは副作用が少なく、がんを治せる抗がん免疫ワクチンの開発に貢献し、多くの患者さんに福音をもたらすと期待される。

研究成果の概要

微生物成分を認識する Toll-like receptor (TLR)の活性化は、樹状細胞^{注2)}に自然免疫応答をひきおこし、サイトカイン^{注3)}産生や細胞性免疫の活性化を誘導します。従来、ウイルス 2 重鎖 RNA (polyI:C などの TLR3 リガンド^{注4)})は強い抗がん効果を示し、ワクチンアジュバントとして有望視されてきましたが、炎症、サイトカイン血症などの副作用のため臨床適用が断念されています。今回私たちは、構造・機能が定義された TLR3 特異的リガンドをケミカルバイオロジーの手法で開発し、マウス移植がんモデルにおいて NK/CTL 依存的な抗がん活性を誘導することを示しました。新規 TLR3 リガンドは細胞質 RNA センサー (ウイルスを検知する分子)などを活性化せず過剰な炎症性サイトカイン産生を誘導しないことから、副作用の少ない非炎症性の核酸免疫アジュバントとして抗がん免疫ワクチンへの適用が期待されます。

論文発表の概要

研究論文名 : Defined TLR3-specific adjuvant that induces NK and CTL activation without significant cytokine production in vivo (過剰なサイトカイン産生をおこさず NK/CTL を活性化
する TLR3 特異的アジュバント)

著者 : 松本美佐子, 立松恵, 西川富美子, 東正大, 石井朝子, 森井晶子, 志馬寛明, 瀬谷司 (北海道
大学大学院医学研究科)

公表雑誌 : Nature Communications

公表日 : 英国時間 2 月 18 日 (水) 10:00 (オンライン版)

研究成果の概要

(背景)

抗がん免疫ワクチン療法は、手術、抗がん剤、放射線療法で治らないがんに対する第4のがん治療法として、近年特に注目されています。全身転移のがんを治せたと評判の PD-1 抗体も免疫療法の1つです。抗がん創薬では副作用が問題になりますが、免疫ワクチン療法では、がん細胞を選択的に攻撃するため、侵襲・副作用が少なく高齢者への適用が見込めます。ワクチンはがん細胞だけに存在するペプチド（またはがん細胞に多く存在する蛋白質）を抗原（免疫反応をひきおこす物質）として用います。このとき「がんは異物だ」と免疫を目覚めさせる物質（アジュバントという）を併用することにより、患者さんの免疫はがん抗原を「攻撃対象」として自覚し、治療効果に繋がることがわかっています。しかしこれまでのアジュバント候補は、効果が低いか副作用が強いため、ワクチンの効果を引き出せませんでした。良いアジュバントは昔から待望の的だったのです。私たちは長く副作用の少ない抗がん免疫アジュバントの開発を続けてきて、今回新しい核酸アジュバントの開発に成功しました。

私たちは1998年からヒト TLR3 の単クローン抗体を作製し、TLR3 がウイルス由来の二重鎖 RNA を特異認識することを発見しました。その後、世界に先駆けて TLR3 は抗原を提示する細胞（樹状細胞）に高発現し、アダプター分子（TICAM-1 または TRIF と呼ばれる分子）を介して、インターフェロン (IFN)- β 、インターロイキン (IL)-12 産生や、ナチュラルキラー (NK) 細胞の活性化、がん抗原の効果的な提示による細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の活性化などの免疫応答を誘導することを証明してきました。TLR3 リガンドの polyI:C は抗がん免疫ワクチンのアジュバントとして世界中から期待されていますが、TLR3 以外に細胞質 RNA センサーをも活性化し、このことが炎症性サイトカイン産生を誘導してしまうため、副作用が強く臨床応用に至っていません。ノーベル医学生理学賞を受賞した Steinman 博士が2010年に私たちの研究室を訪問されたとき、ご自身の膵臓がんの polyI:C 療法について言及されました。今回私たちは、この難関を克服し、TLR3 を特異的に活性化し非炎症性に NK/CTL を誘導できるアジュバントの開発に成功しました。

(研究手法)

50種類以上の RNA 誘導体をデザインして試験管内でインビトロ合成し、TLR3 を活性化し RNA センサー (RIG-I/MDA5) を活性化しない誘導体をヒト及びマウス細胞を用いてスクリーニングしました。選択した1種類の TLR3 だけを活性化する誘導体を再現的に完全化学合成し、溶液中での安定性、TLR3 活性化能、サイトカイン産生を検討しました。さらにマウス移植がんモデルを使ってがん退縮、NK/CTL 依存的抗がん活性、抗原特異的 CTL 誘導活性を検討しました。新規リガンドが TLR3 だけを標的とすることは野生型及び TLR3, TICAM-1 欠損マウスを用いて検証しました。

(研究成果)

新規 TLR3 リガンドはフォスフォロチオエート型 GpC オリゴデオキシヌクレオチド (sODN) と 140mer の二重鎖 RNA のキメラ分子 (ARNAX) です。ARNAX は細胞外から効率よくエンドソームに送達され TLR3 を活性化しますが、RIG-I/MDA5 は活性化しないことが、ヒト及びマウス細胞で明らかになりました。ARNAX をマウスの腹腔内に投与した場合、IFN- β や TNF- α , IL-6 などの炎症性サイトカイン産生は殆ど誘導されません。一方、皮下投与では所属リンパ節でわずかの IFN- β , IL-6, IL-12 産生が誘導されます。マウス移植がんモデルでは、ARNAX は polyI:C 同等の NK/CTL 依存的がん退縮を誘導し、その活性は TLR3-TICAM-1 依存的であることがノックアウトマウスでの解析からわかりました。更にがんを移植していないマウスにおいて、ARNAX は抗原特異的 CTL の増殖と活性化を TLR3-TICAM-1 を介して誘

導することが明らかになりました。これらの結果から、ARNAX は過剰な炎症性サイトカイン産生を誘導せず、NK/CTL などの細胞性免疫応答を誘導する非炎症性核酸免疫アジュバントであると機能定義されます。この発見は、今後のがんワクチン開発を強く促進します。

（今後への期待）

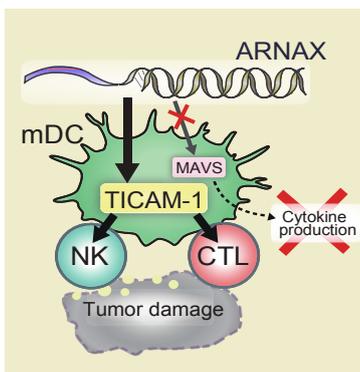
このような非炎症性のアジュバントであれば高齢者に非侵襲で、高い QOL、簡便、負担の少ないがん治療を提供しうると考えられます。PD-1 抗体療法は、がん抗原に対する CTL ががんを消滅させるほど劇的な効果を発揮することを示しました。PD-1 は CTL 誘導の抑制分子で、必ずしもそのみに特異的でないため副作用の懸念を払拭できません。抗原（ペプチドか蛋白）とこのアジュバントを併用すれば、特異性を担保できるため副作用の減弱を促します。何より、これまでのアジュバントで問題だったサイトカイン毒性の心配がありません。これまで多くのペプチドワクチンが組上に載りましたが、単独（または既存のアジュバント併用）投与の有効例は極めて限られています。本発明品をマルチエピトープの抗原（多価の抗原）と併用すればより多くの有効例が得られると思われれます。ただし、その有効性・安全性等を証明するには GMP（医薬品等の品質管理基準）標品の効率よい合成、毒性試験、前臨床試験、などを経て臨床試験の峠を越える必要があり予算化が必要になります。

【用語解説】

- 注 1) アジュバント：免疫機能を高める作用をもつ物質のことで、抗原性補強剤とも呼ばれる。
- 注 2) 樹状細胞：免疫系の中心的役割を担っていて、ヘルパー T 細胞への強い抗原提示能力をもつことから、がん細胞の存在を知らせる性質をもつ。
- 注 3) サイトカイン：細胞から分泌されるタンパク質で、細胞間の情報伝達の役割をもつ。
- 注 4) リガンド：特定の受容体に特異的に結合し、受容体を活性化する物質のこと。この場合は TLR3 に結合して活性化する RNA 誘導体を指す。

お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院医学研究科 特任教授 瀬谷 司（せや つかさ）、
特任准教授 松本 美佐子（まつもと みさこ）
TEL：011-706-5073 FAX：011-706-7866 E-mail：seya-tu@pop.med.hokudai.ac.jp,
matumoto@pop.med.hokudai.ac.jp
ホームページ：http://www.hucc.hokudai.ac.jp/~e20536/



非炎症性核酸免疫アジュバント、ARNAX の予想される抗がん免疫活性化機序（作図：立松恵助教（免疫学分野）Nature Communications 誌より）

ARNAX は骨髄系樹状細胞（mDC）に効率的に取り込まれ、TLR3-TICAM-1 経路を介して NK・CTL を活性化し、がんの退縮を誘導する。一方、細胞質内 RNA 認識経路（MAVS 経路）を活性化しないため、過剰の炎症性サイトカイン産生がおきない。