

多糖誘導体修飾リポソームの免疫誘導能における粒子サイズの効果

大阪府立大学大学院工学研究科 博士後期課程3年 柳原 慎

1. 研究背景と研究内容

細胞性免疫と液性免疫

抗原タンパク質を取り込んだ抗原提示細胞は、がん細胞やウイルス感染細胞を直接攻撃する細胞性免疫や細菌やウイルスを排除する抗体産生を促進する液性免疫を誘導する。

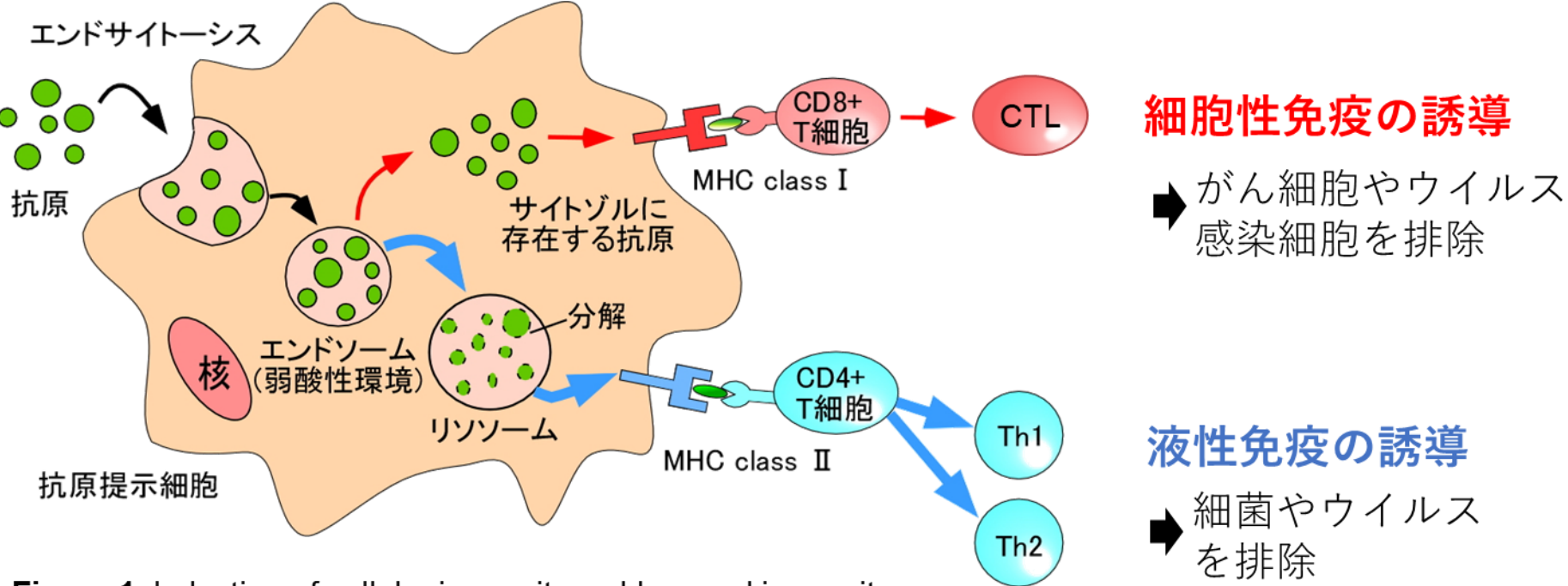


Figure 1. Induction of cellular immunity and humoral immunity.

研究背景

抗原タンパク質の運搬体としてリポソームを用い、pH応答性基を結合した直鎖状βグルカン表面修飾することで、細胞性免疫の誘導に成功した。さらに糖主鎖を直鎖状βグルカンから分岐型βグルカン (Aquaβ) に変更すると、リポソームの抗原提示細胞への取り込みと抗原提示細胞からの炎症性サイトカインの産生を促進し、より効果的に細胞性免疫を誘導することに成功した。

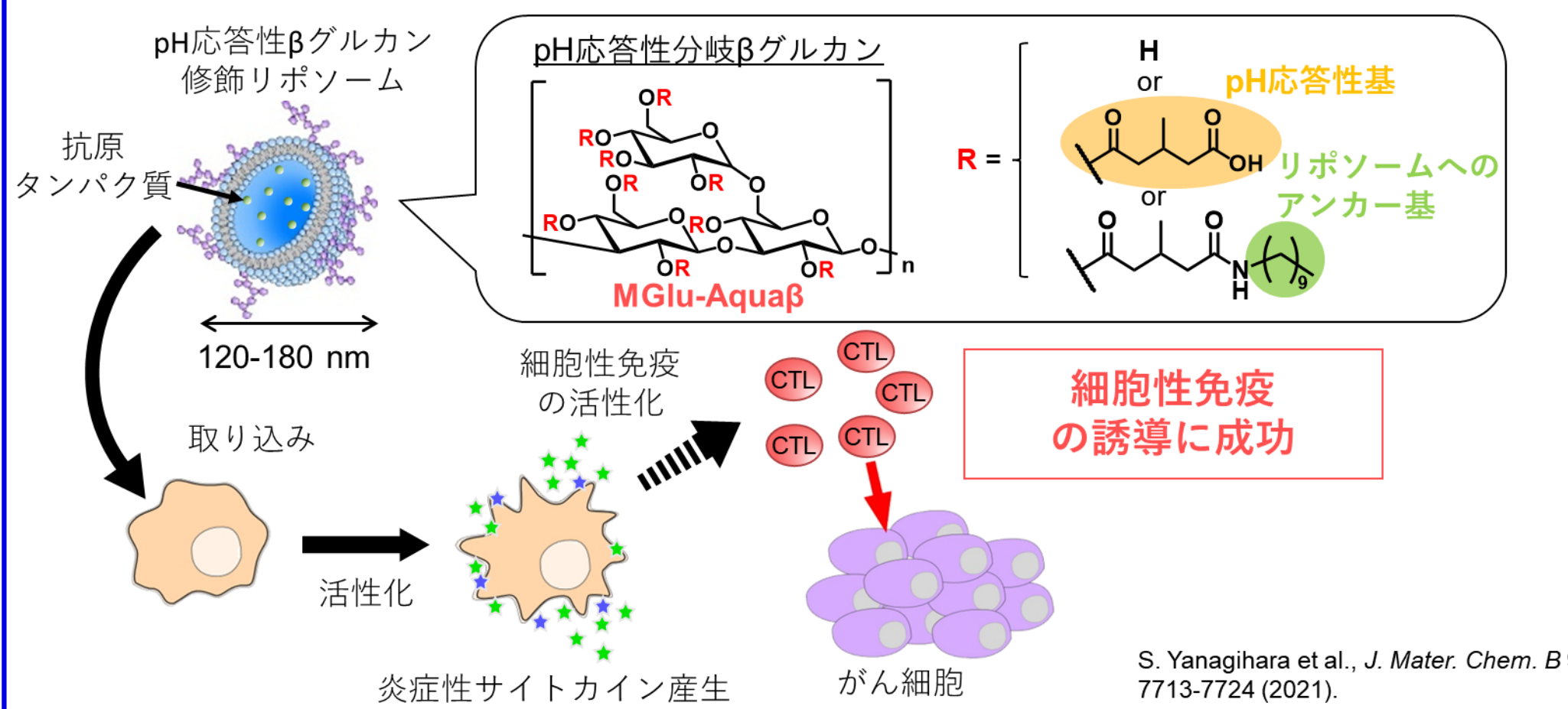
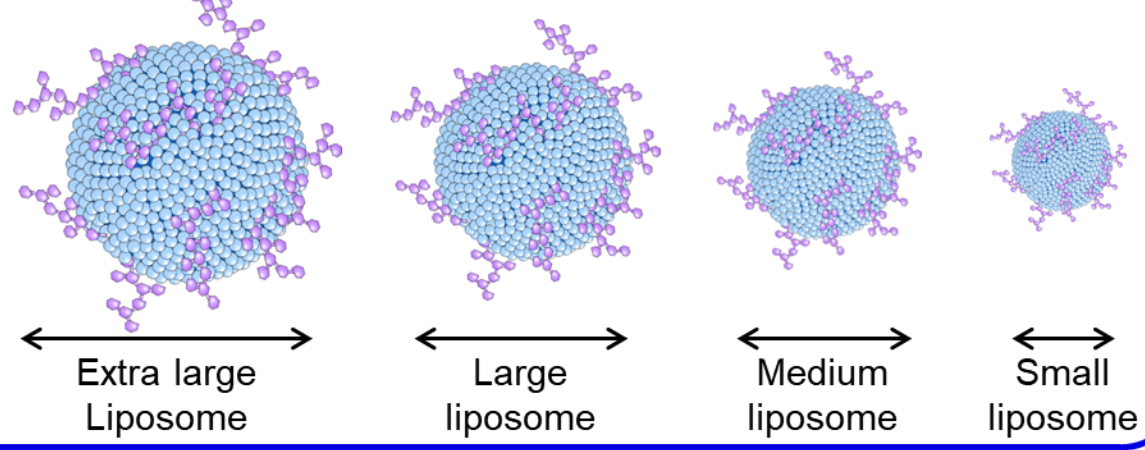


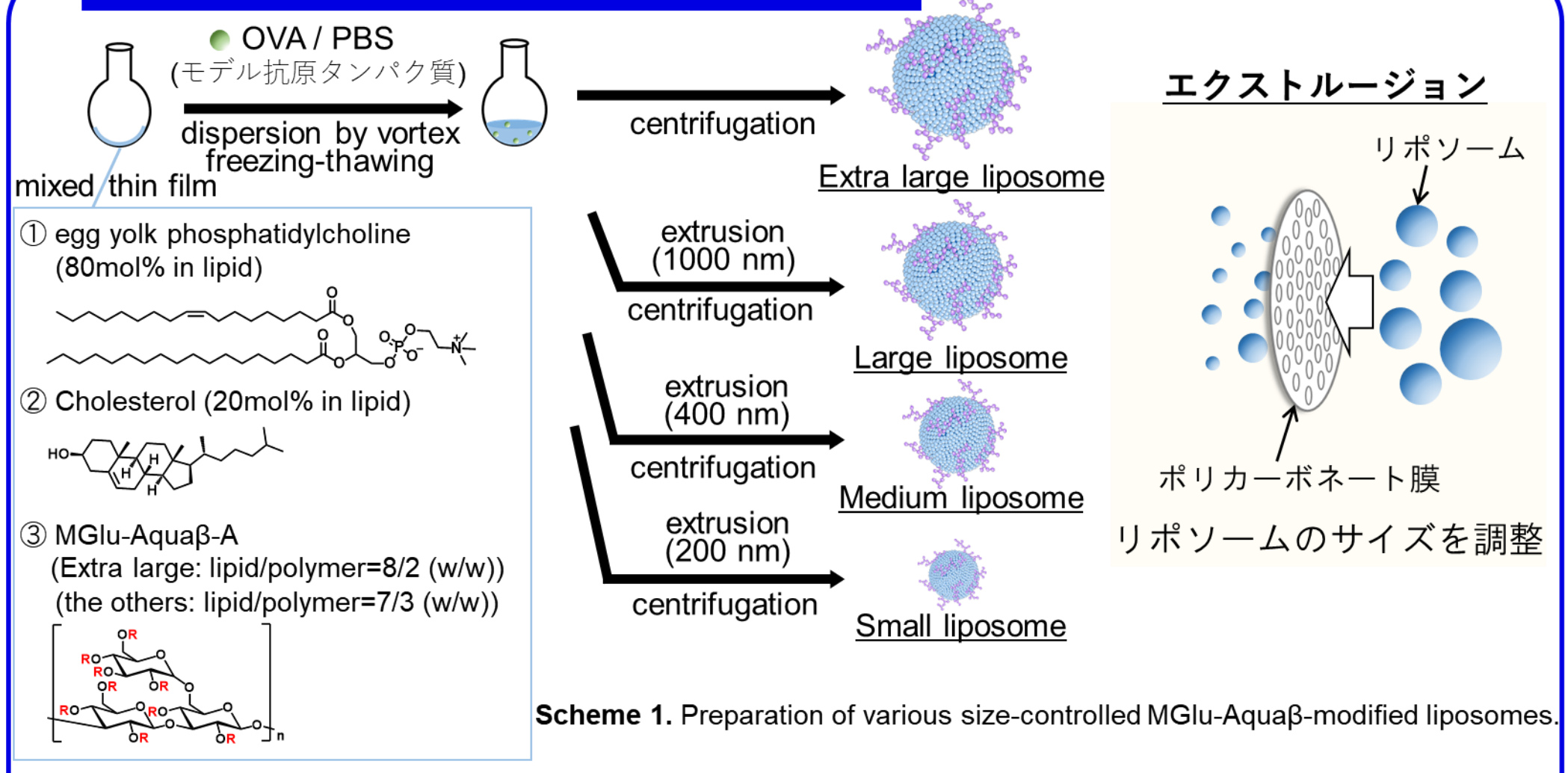
Figure 2. pH-sensitive branched β-glucan-modified liposomes promote antigen uptake and activation of dendritic cells in vitro, inducing anti-tumor immune responses in vivo.

研究内容

リポソーム表面に修飾する多糖誘導体のpH応答性基や多糖の種類を変更することで、強力に細胞性免疫を誘導することを成功してきた。その粒子サイズは、細胞に取り込まれやすいとされる小さな粒子サイズのリポソーム(200nm以下)を用いてきた。粒子サイズは粒子の細胞との相互作用や体内動態を変化させるため、免疫誘導に影響を及ぼす要素であり、その適切な粒子サイズはナノ粒子の性質によって異なる。そこで本研究では、これまで強力にがん免疫を誘導してきた多糖誘導体修飾リポソームにおいて様々なサイズのリポソームを調製し、そのサイズが免疫誘導にどのような影響を及ぼすのかを調査した。



2. リポソームの調製と物性評価



エクストルージョンによりリポソームのサイズを制御

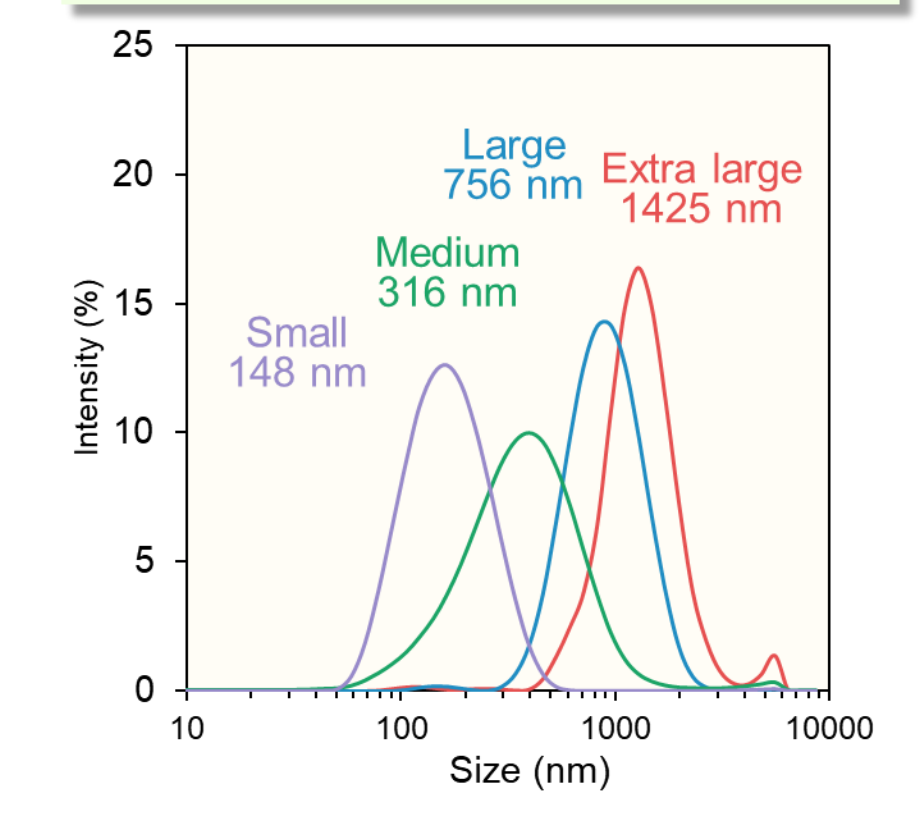


Figure 3. Size distribution of MGLu-Aquaβ-modified liposomes. Size was measured by dynamic light scattering.

弱酸性pHでの内包物の放出を確認

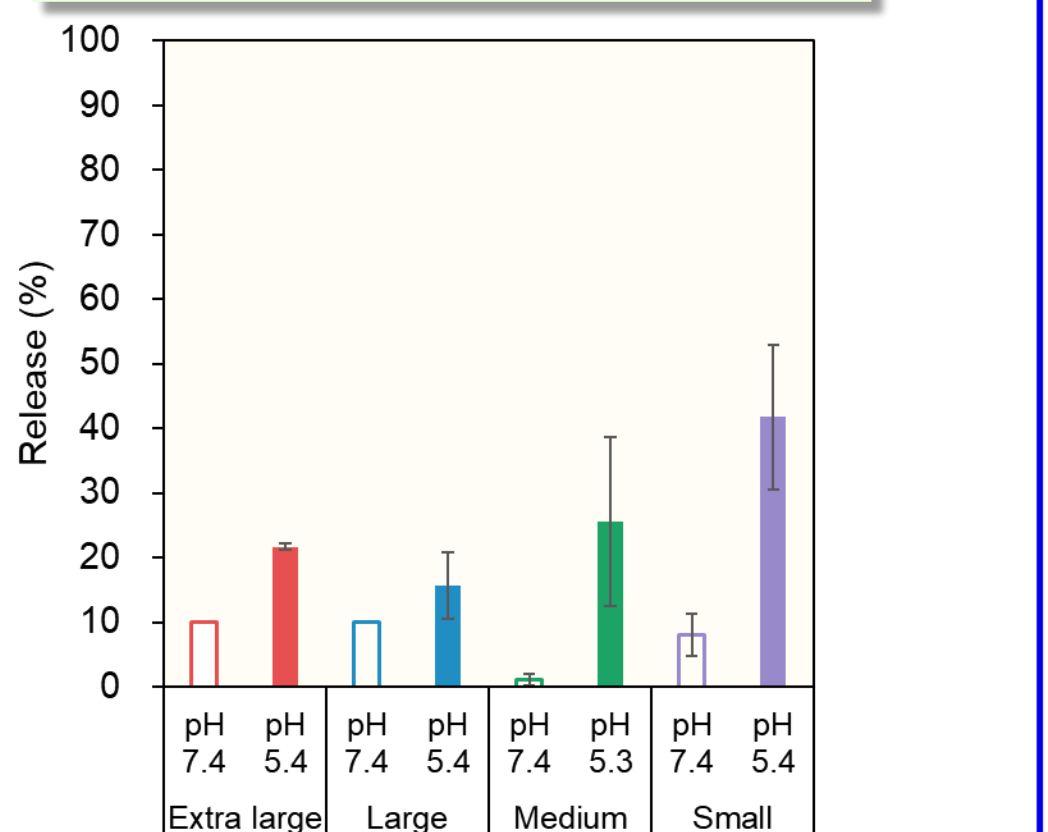


Figure 4. pH-Dependence after 1 h incubation of pyranine release from MGLu-Aquaβ-modified liposomes were shown.

3. リポソーム皮下投与によるサイトカイン産生

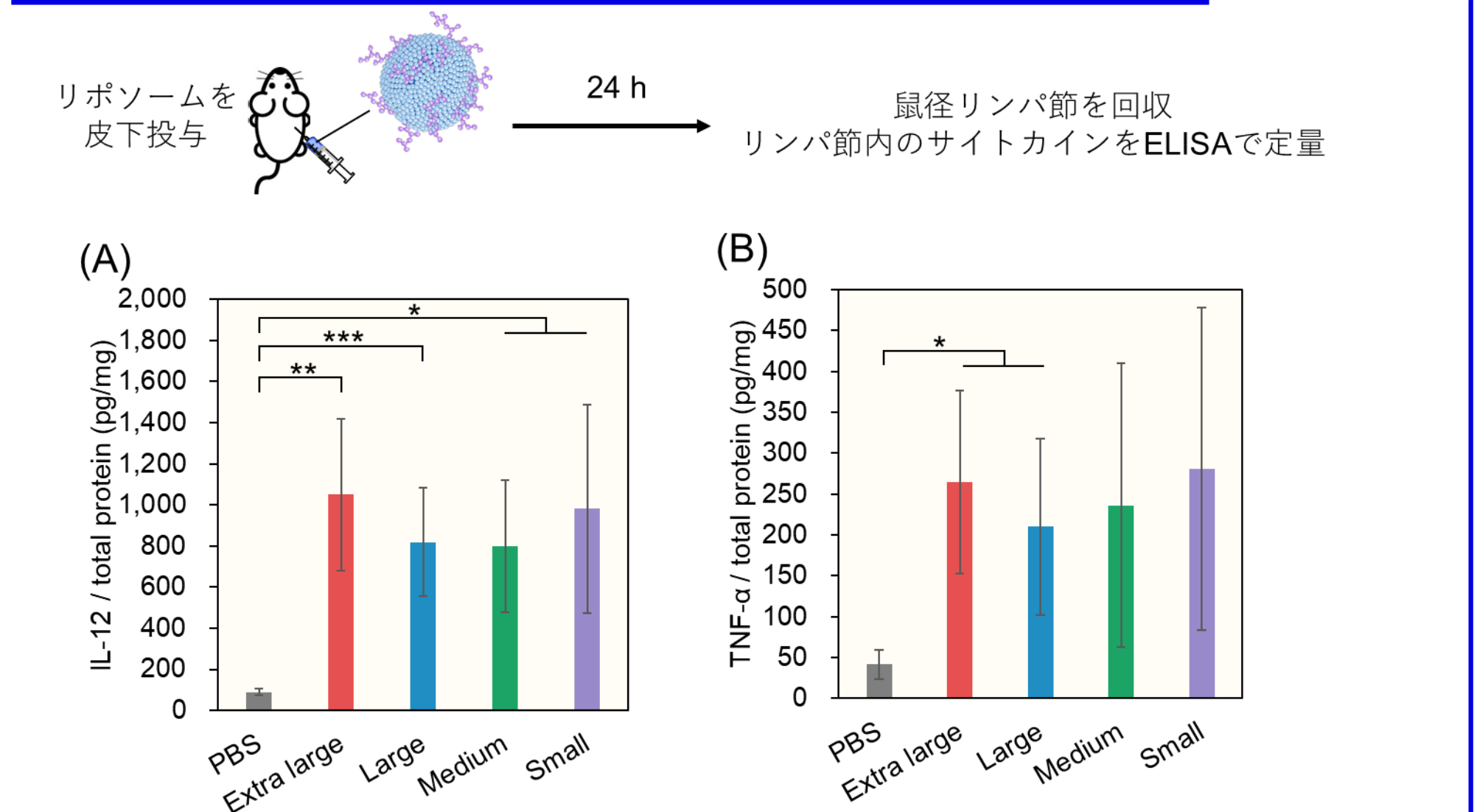


Figure 5. IL-12 (A) and TNF-α (B) production from excised inguinal lymph node derived from mice immunized with PBS, extra large, large, medium or small liposomes. Cytokines were measured from lymph node supernatants using ELISA.

リポソームはマウスのリンパ節内での炎症性サイトカインを産生
リポソームサイズはサイトカイン産生量に影響がなかった

4. リポソームによる抗体産生

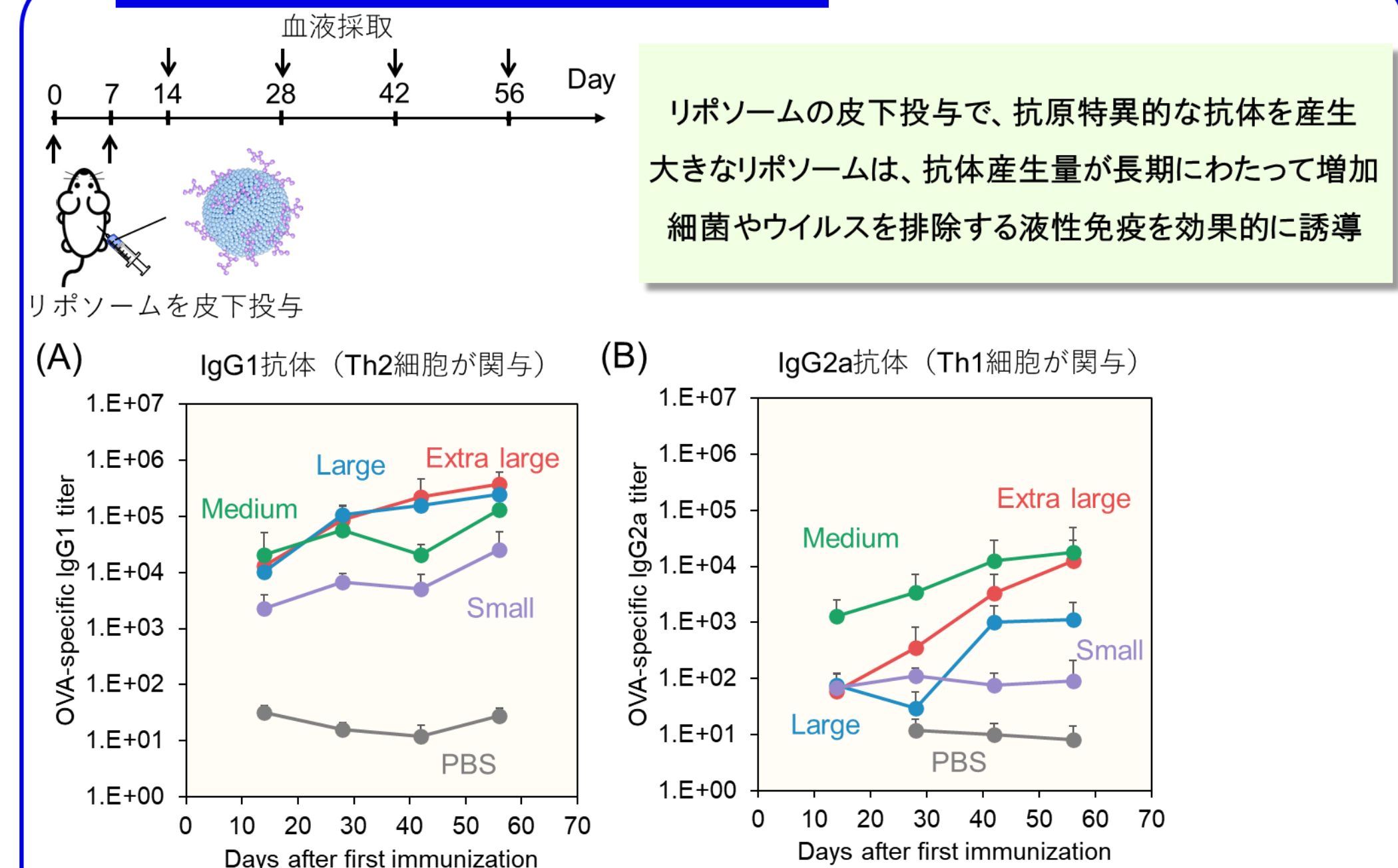


Figure 6. OVA-specific IgG1 (A) and IgG2a (B) titer in sera from BALB/c mice immunized with PBS, extra large, large, medium or small liposomes at Day 0 and 7. Titer was measured by ELISA at Day 14, 28, 42 and 56 after first administration.

5. リポソームの抗腫瘍効果

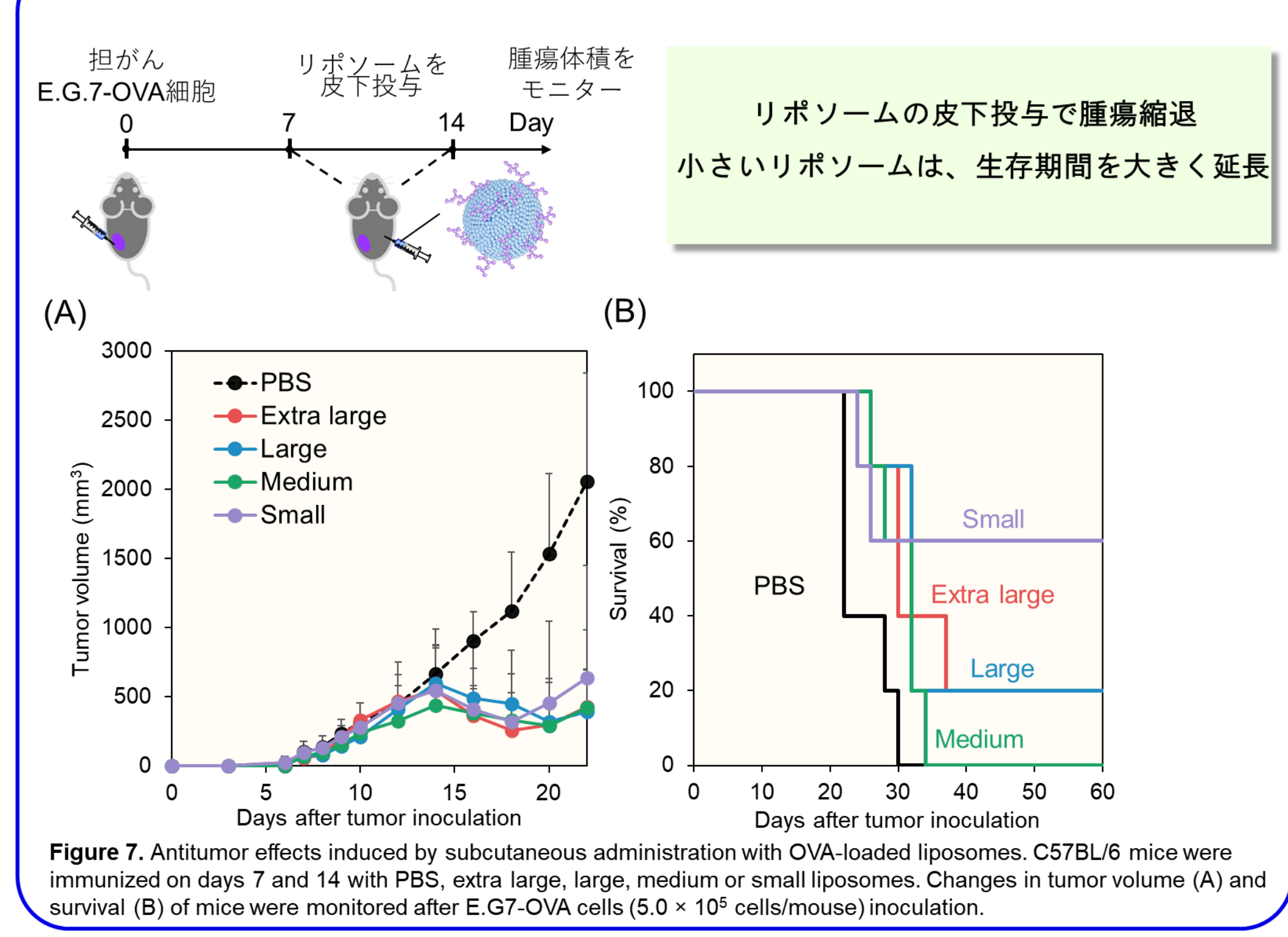


Figure 7. Antitumor effects induced by subcutaneous administration with OVA-loaded liposomes. C57BL/6 mice were immunized on days 7 and 14 with PBS, extra large, large, medium or small liposomes. Changes in tumor volume (A) and survival (B) of mice were monitored after E.G7-OVA cells (5.0×10^5 cells/mouse) inoculation.

6. 総括

短期的な免疫応答が必要とされるがん免疫では、150nmの小さなリポソームが最も効果的である。一方で、ウイルスなどに対するワクチン開発では、徐々に抗体量が増加するサイズの大きなリポソームが有効である。対応疾患に応じて適切な粒子サイズを選択することで、必要な効果を得ることができる。