

アジュバントの作用機序の解明とがんアジュバント療法の確立

瀬谷 司 [北海道大学/教授]

松本 美佐子 [北海道大学/准教授]

柳 義 和 [株式会社 MBR/社長]

児 玉 憲 [大阪府立成人病センター/副院長]

背景・目的

がんの免疫療法を自然免疫の最新知識からアップグレードすることを目指す。免疫療法としてこれまでがん特異抗原のペプチドワクチン療法が主流であったが、その有効率は3%未満である。一方、アジュバント(樹状細胞 Toll-like receptor (TLR) を活性化させる)免疫療法は5年生存率を10%以上亢進することが判明している。しかし、多くのアジュバントは作用機序が不明で創薬化に至らない。本研究では各種 TLR アジュバントの作用機序と CTL、NK などを選択活性化する手技を解明する。成果をがんの免疫療法に還元し、QOL のよい免疫療法の創薬確立を目指す。

内容・方法

TLR3 agonist, polyI:C (double-stranded (ds) RNA の analog) が樹状細胞に働いて CTL、NK を活性化することが判明した。本研究では TLR3 のアジュバント効果から NK の誘導機序を査定する事を試みた。TLR3 シグナルを支配するアダプター分子は TICAM-1 (TRIF) である。TICAM-1 KO マウスと wild-type マウスの樹状細胞を polyI:C 刺激し、8時間後に genechip 解析を行なった。TICAM-1 依存性に上がるメッセージを抽出し、樹状細胞に lentivector で発現させ、NK 活性化を誘導出来るかを検討した。Lentivector は既報のとおり調整し(1)、候補分子の発現は tag 抗体と分子そのものの抗体で FACS, confocal で確認した。

結果・成果

本研究の結果を列挙する。1. PolyI:C 投与マウスは TLR3-TICAM-1 を介して未知のシグナル経路に入り、NK 誘導型の樹状細胞成熟化を起動した(2)。2. NK 活性化型樹状細胞は IRF-3 依存性に誘導される。しかし、IFN-beta はこの NK 活性化に関与しなかった。3. TICAM-1 依存性に発現上昇する遺伝子の中に樹状細胞の膜上に発現が予測される蛋白をコードするものがあり、これらを発現させた樹状細胞は NK 活性化を誘起する事が判明した。4. NK のみならず CTL 誘導にも樹状細胞の TICAM-1 が関与することが判明した(3)。しかし、TICAM-1 による CTL 誘導は IRF-3 非依存性であった。3. PolyI:C の代わりに dsRNA、特に DI (defective interfering) RNA、を用いることが可能かもしれない(4)。抗原提示樹状細胞の成熟化を DI RNA (Endosome に標

的化するためベクターを用いる)で再現することを試みている。

以上の成果、特に項目3から現在2つの膜型分子が NK 活性化リガンドとして樹状細胞の膜上で NK を活性化すること、これらは IRF-3 誘導性であり、基本性質の予想と合致することが分かっている。RNA アジュバントの機能は IRF-3 を活性化し、樹状細胞に NK の活性化型リガンドを誘発して抗がん NK を活性化するという機序が含まれると云える(5)。

一般に RNA の外因性投与は TLR3 と細胞質内 RNA センサー (RIG-1, MDA5) を活性化する。PolyI:C 投与では MDA5 を活性化する経路が大量の IFN-beta を誘導することが判明した。IFN とサイトカインによる発熱などの副作用は MDA5 などの活性化が原因と考えられる。しかし、NK 活性化は TICAM-1 KO でのみ喪失する (Akazawa et al., PNAS 2007)。TLR3 に特化した RNA リガンドを開発できれば副作用の少ない有望な免疫アジュバントの開発に繋がる。この観点から、stem-loop RNA が TLR3 を強く指向するような基礎データが得られており今後合成をする際のヒントとする予定である。毒性の低い RNA アジュバントの設計にウイルスワクチン株の DI RNA が貴重なヒントを与えることが予想される。

TICAM-1 経路には CTL 誘導能もあるが、MyD88 経路の CTL 誘導活性とどちらが効果的かを検討する予定である。いずれもペプチドではなく、樹状細胞アジュバントに CTL、NK を選別活性化する機能があることが確認できた。アジュバントとペプチドの併用による抗がん樹状細胞療法の確立を目指す必要がある。

今後の展望

PolyI:C は副作用のため治療適用が難しい。これは後に polyI:C が TLR3 以外に細胞内 RNA センサー (MDA5 など) も活性化し、大量のサイトカインを誘導するためと判明した。TLR3 は TICAM-1 をアダプターとするが MDA5 は IPS-1 をアダプターとし、両者は異なったシグナルと細胞応答に帰結すると考えられる。DI RNA は TLR3 に特化しうるのでこれを使えば優れた NK 活性化アジュバントが開発できる可能性がある。マウスを使った移植がんの系、自然発生がんの系で RNA アジュバントの免疫療法の効果を査定する予定である。

関連論文

1. Akazawa T, Matsumoto, T. Seya et al. 2007. Tumor immunotherapy using bone marrow-derived dendritic cells overexpressing Toll-like receptor adaptors. *FEBS Lett.* 581 : 3334-3340.
2. Akazawa T, Matsumoto, T. Seya et al. 2007. Antitumor NK activation induced by the Toll-like receptor3-TICAM-1 (TRIF) pathway in myeloid dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104 : 252-257.

3. Funami K., T. Seya, M. Matsumoto, et al. 2007. Spatiotemporal mobilization of Toll/1L-1 receptor domain-containing apaptor molecule-1 in response to dsRNA. *J Immunol.* 179 : 6867–6872.
4. Shingai, M., M. Matsumoto, T. Seya, et al. 2007. Differential type I interferon (IFN) inducing abilities of wild-type vs. vaccine strains of measles virus. *J Immunol.* 179 : 6123–6133.
5. Seya, T., and M. Matsumoto. 2009. The RNA-sensing TICAM-1 pathway for adjuvant immunotherapy for cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* (in press) (review).