

テーマ

ペプチドナノカプセルを活用した人工ワクチンの開発

研究者

松浦 和則 (鳥取大学 大学院工学研究科)

概要

我々は、天然ウイルス由来のペプチドの自己集合により、ウイルスのようなナノカプセルを構築することに世界で初めて成功している。本研究では、新たな人工ワクチンの開発を指向して、自己集合性のペプチドナノカプセルの表面に免疫活性化分子や抗原を提示する方法論を開拓する。今年度は、子宮頸がんの原因であるヒトパピローマウイルス(HPV)やWilms腫瘍(WT1)の抗原ペプチドを提示した人工ウイルスキャプシドの構築を検討した。

研究内容

ウイルス由来ペプチドの自己集合による合成ウイルス殻の構築

β-Annulus Peptide from TBSV
 INHVGGTGGAIMAPVAVTRQLVGS
 合成ウイルス殻 (30-50 nm)
 分子設計できる化学者の強み

⊖電位のpH依存性から、C末端が表面に、N末端が内部に配向
 → 表面および内部を選択的に化学修飾可能

合成ウイルス殻への分子内包
 GFP@合成ウイルス, DNAナノ粒子@合成ウイルス, ZnOナノ粒子@合成ウイルス
 Polymer J. (2013), Nanomaterials (2014)

「着せ替え」合成ウイルス殻
 人工的デザイン: Protein, DNA, Antigen, Nanoparticles...
 本来のウイルスキャプシド (骨格上をタテバウチが完成)
 Dress-up Viral Capsid
 Polymer J. (2015)

Yahooニュース、西日本新聞、日本海新聞、日本経済新聞、産経新聞、山陰中央新報他に掲載

応用の可能性: ドラッグキャリアー、ナノフラスコ、人工ワクチン等

前年度までの成果

- 核酸系アジュバントCpGを表面提示したペプチドナノカプセル(人工ウイルスキャプシド)の構築に成功した
- CpGをペプチドナノカプセルに提示することにより、マウス骨髄由来細胞に導入した際に、ある種のサイトカイン(IL-6およびIFN-γ)の産生量が、フリーのCpGよりも増大することがわかった。
- CpG提示ペプチドナノカプセルをマウスに免疫することにより、OVA特異的細胞障害性T細胞がフリーのCpGよりも多く誘導されることが示され、免疫アジュバント効果が増強されることが示唆された。

今年度の研究目標

抗原ペプチド (HPV, WT-1)
 β-Annulus-抗原ペプチド
 自己集合 → 自己集合 → 抗原提示人工ウイルスキャプシド

人工ワクチンの創製を指向して、抗原提示ウイルスキャプシドの創製を目指す

HPV抗原提示人工ウイルスキャプシドの構築

ヒトパピローマウイルス(HPV) ... 子宮頸がんの原因とされるウイルス

APAENKDPY
 PPGGTLEDTY
 IPKKRKRVPY
 INHVGGTGGAIMAPVAVTRQLVGS
 -CGGGIPKKRKRVPY

Self-assembly → HPV抗原提示人工ウイルスキャプシド

Native Chemical Ligation (NCL)
 Benzyl mercaptan Triethylamine
 チオエステル化
 β-Annulus-Nbz → β-Annulus-SBn
 β-Annulus-SBn + Cys-HPV抗原ペプチド → β-Annulus-HPV抗原ペプチド

抗原産生能をもつ人工ウイルスキャプシド

軒原 清史, 公開特許1995-126289

β-Annulus-HPV抗原の自己集合挙動のpH依存性

[peptide] = 100 μM, 25°C in water, 2% Na₂(PW₁₂O₄₀)(H₂O)₆染色

pH	主要なサイズ (nm)
pH 3.9	152 ± 45.5 nm, 734 ± 225 nm
pH 9.6	1119 ± 274.0 nm
pH 6.9	1396 ± 377.2 nm
pH 11.4	656.3 ± 236.3 nm, 114.5 ± 36.81 nm

pH 3.9とpH 11.4で球状集合体が確認されたが、pH 6.0~9.6では凝集構造となった

ウィルムス腫瘍(WT-1)抗原提示人工ウイルスキャプシドの構築

WT1ペプチドとは...

ほぼすべてのがんが発現しているがん組織(抗原)
 WT1ペプチド
 肺がん, 乳がん, 食道がん, 子宮がん, ...

本研究で設計したペプチド
 CGKYTWNQNMNL
 NCL連結用, WT-1抗原, 水溶性のため

ウィルムス腫瘍抗原 WT-1
 β-Annulus-WT-1
 NH₂-INHVGGTGGAIMAPVAVTRQLVGG-
 CGKYTWNQNMNL-COOH
 自己集合 → 自己集合 → 腫瘍抗原提示人工ウイルスキャプシド

β-Annulus-WT-1抗原の自己集合挙動

[β-Annulus-WT1] = 50 μM, pH 7.0, 25°C

濃度依存性 pH 7.0, 25°C
 Size / nm vs [peptide] / μM
 76.3 ± 17.94 nm

pH依存性 [β-Annulus-WT1] = 50 μM, 25°C
 Size / nm vs pH
 pH 7以下、10~100 μMの濃度範囲において球状構造体が確認された

ヒトパピローマウイルスやWilms腫瘍の抗原ペプチドを表面に提示した人工ウイルスキャプシドの創製に成功し、人工ワクチンとして応用するための基礎的な知見が得られた。

応用分野

人工ウイルス、人工ワクチン、免疫賦活剤(アジュバント)、薬物デリバリー(DDS)材料

連絡先

鳥取大学工学研究科 教授 松浦 和則

E-mail: ma2ra-k@chem.tottori-u.ac.jp, TEL: 0857-31-5262