

(様式7)

受理年月日	平成24年7月30日
-------	------------

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成24年7月27日

帯広畜産大学原虫病研究センター長 殿

研究代表者

所属機関 北海道大学

職名 教授

氏名 原島 秀吉



下記の共同研究について別紙のとおり報告します。

記

1. 採択番号 23-共同-2

2. 研究課題名 多機能性ナノ構造体を用いたネオスポラ原虫に対するワクチン開発

研究課題名：多機能性ナノ構造体を用いたネオスポラ原虫に対するワクチン開発

北海道大学大学院薬学研究院

1. はじめに

ネオスポラ症は、*Neospora carinum* の寄生を原因とする寄生虫病であり、ウシやスイギュウを対象とした家畜伝染病である。本原虫に対する実用的なワクチンがなく、有効な治療法もないため、効果的なワクチンの開発が望まれている。十分なワクチン効果を誘起させるためには、抗原提示細胞である樹状細胞に効率的に抗原を送達させ、適切な免疫賦活化刺激を行う必要がある。本研究では、原虫に対する抗原タンパクあるいは、抗原コード遺伝子の細胞内動態制御を可能とするリポソームを用いた蛋白ワクチン・DNAワクチンの開発と機能評価を目的とした。

2. 研究経過

当研究室では膜透過性ペプチドであるオクタアルギニン（R8）を表面に修飾したR8修飾リポソーム（R8-Lip）に抗原タンパク質を封入することで効率良くMHCクラスI抗原提示を誘導することに成功している。またアジュバントとしてpolyI:Cを共封入したR8-Lipはマウスモデルにおいて非常に強力な細胞性免疫を誘導することを見出している。

また、DNAワクチンに関しては、中性環境下でも融合性を有するKALAペプチドを表面に提示させることで、エンドソームや核膜との融合性をさらに高めることができると考え、遺伝子を封入した脂質膜構造体の表面に本ペプチドを修飾したエンベロープ型ナノ構造体の創製を行った。

3. 研究結果

まずネオスポラ原虫と生活環が類似している*Toxoplasma gondii*の抗原タンパク質であるTgAMA1のR8-Lipへの封入を行った。封入率が30%以上の均一なリポソームを調製することに成功した。またマウスを用いた*Toxoplasma gondii*の感染実験において、TgAMA1封入R8-Lip投与群はコントロール群と比較して抗体産生量および生存率の上昇が認められ、TgAMA1のみを投与した群と比較しても抗体産生量および生存率の上昇傾向が認められた。

また、同抗原をコードする遺伝子を用いたKALAペプチド修飾の調製も成功した。従来の技術では、生体から単離した樹状細胞に対して、ex vivoで遺伝子を導入する方法を用いてきたが、より汎用性の高い製剤へと発展させるためには濃縮する技術が必要となる。本KALAペプチド修飾粒子に対して糖を加えることで、凍結乾燥後においても、安定した物性（粒子径、表面電位）と活性を維持可能な条件を見いだすことに成功した。また、本凍結乾燥は、長期保存や輸送を考える上でも有用である。本凍結乾燥したKALAペプチド修飾粒子を用いてマウスに免疫を行った際、TgAMA1に対する抗体産生が認められることや、*Toxoplasma gondii*感染後の体重減少が若干改善されることが明らかとなった。

4. まとめ

*Toxoplasma gondii*の抗原タンパク質であるTgAMA1のR8-Lipへの封入に成功し、マウス感染実験においてTgAMA1封入R8-Lipのワクチンとしての可能性を見出した。また、本抗原をコードする遺伝子を用いたDNAワクチン投与により、抗体産生が誘起出来ることを明らかとした。今後はリポソーム組成やアジュバントの最適化、また、抗原の改良を行い、さらなるワクチン効果の促進を目指す。