

「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」  
平成 14 年度採択研究代表者

明石 満

(大阪大学大学院工学研究科 教授)

「ナノ粒子を応用した抗レトロウイルスワクチンの開発」

## 1. 研究実施の概要

本研究ではコアコロナ型ポリスチレンナノ粒子によるワクチン開発の結果をもとに、新規な生分解性高分子ナノ粒子を用いて、安全性・有効性の高い抗レトロウイルスワクチンの開発を目的としている。これまでに、微生物由来のポリアミノ酸や天然多糖の両親媒構造を制御する方法を用いて、水分散性に優れた生分解性ナノ粒子が調製可能であることを見出した。さらに、抗原内包ナノ粒子の優れた免疫誘導効果も確認され、ナノ粒子ワクチンの優位性を明らかにしている。平成 18 年度においては、ナノ粒子ワクチンの免疫誘導における作用メカニズムの解明を行い、ナノ粒子の有用性について解析した。HIV ワクチンに関しては、サル免疫実験により、感染性ウイルスに対するナノ粒子ワクチンの感染防御効果について評価を行った。

納豆菌由来のポリ( $\gamma$ -グルタミン酸) ( $\gamma$ -PGA) を種々の芳香族アミノ酸を用いて疎水修飾することで、 $\gamma$ -PGA 誘導体の疎水化度を制御することができた。また、疎水化度の違いにより、調製されるナノ粒子の粒径を制御することが可能であった。このナノ粒子は、様々な感染症・免疫疾患関連の抗原を担持させることができ、あらゆる免疫原に対応し得るナノキャリアーであることが明らかとなった。また、疎水化  $\gamma$ -PGA ナノ粒子の免疫誘導における作用メカニズムにおいては、ナノ粒子が MyD88 を介して転写調節因子 NF- $\kappa$ B の活性化させることで、樹状細胞を成熟（活性化）させることが分かった。さらに抗原内包ナノ粒子の細胞内・生体内挙動解析の結果、ナノ粒子を取込んだ細胞内での抗原徐放、ナノ粒子貪食細胞の所属リンパ節への移行増大が観察され、ナノキャリアーとしての特性が明確に示された。次に、抗エイズワクチンへの応用の可能性を探るため、HIV-1 の Env 抗原 (gp120) を表面固定化もしくは内包した  $\gamma$ -PGA ナノ粒子をマウスに 1 回のみ経鼻投与したところ、非常に強くかつ長期間持続する抗原特異的細胞性免疫を誘導できることを見出した。HIV-1 gp120 内包ナノ粒子を用いたサル免疫実験および SHIV 感染防実験では、免疫されたサルにおいて抗原特異的な細胞性免疫が有意に誘導されることがわかった。しかしながら、これらのサルにおける感染防御効果は弱く、さらなるナノ粒子の機能化が求められる。今後は感染防御に加え、治療ワクチンとしての効果を検討する。

このナノ粒子は免疫原となる蛋白質やペプチドを粒子表面や内部に効率よく固定化することが可能である。そのため、レトロウイルスのみならず、他の感染症や免疫疾患に対する免疫療法とし

て有用なナノキャリアーとして期待される。今後は、ナノ粒子ワクチンの臨床応用を目指し、ナノ粒子自身の安全性試験を行い、普遍性の高いワクチンキャリアーの開発を試みる。また、様々なアミノ酸で修飾したナノ粒子を調製し、キャリアーとしての機能最適化を目指す。

## 2. 研究実施内容

### 1) 疎水化 $\gamma$ -PGA 誘導体を用いたナノ粒子の調製と機能評価 (明石 G)

これまでに分子量約 30 万の  $\gamma$ -PGA に疎水性のアミノ酸でフェニルアラニンを導入することで、水分散性に優れた生分解性ナノ粒子を調製してきた。そこで本年度は、 $\gamma$ -PGA の分子量および疎水性アミノ酸の種類の違いによるナノ粒子の物性への影響について検討した。また、モデル抗原である OVA や HIV 抗原以外の他の感染症・免疫疾患に関する抗原 (蛋白質、ペプチド) のナノ粒子への固定化を試みた。

#### 1-1) 疎水修飾 $\gamma$ -PGA ナノ粒子の粒径制御

$\gamma$ -PGA (分子量 30 万) の側鎖に導入する疎水性アミノ酸の違いに対するナノ粒子の形成能、導入率の違いによる粒径変化について検討した。疎水性アミノ酸には芳香族基を有するフェニルアラニン (Phe)、チロシン (Tyr)、トリプトファン (Trp) を用いた (図 1)。疎水性アミノ酸の導入率は縮合剤であるカルボジイミドの量により制御可能であった。各疎水化  $\gamma$ -PGA 誘導体を DMSO に溶解後、その溶液を水に添加することでナノ粒子の調製を行った。結果、Tyr を導入した誘導体では粒子形成は認められず、Phe と Trp では導入率 40–60% のサンプルで粒子形成が確認できた。それぞれ導入率の異なる誘導体の粒径を測定した結果、Phe および Trp 導入率の違いによる粒径変化が認められ、導入率の高いものほど、粒径が小さくなる傾向を示した (図 2)。この結果より、用いる疎水性アミノ酸の種類および導入率を制御することで、粒径制御が可能であることが明らかとなった。 $\gamma$ -PGA の分子量効果について検討した結果、分子量 30~500 万で同様のナノ粒子形成が認められ、幅広い分子量領域で粒子の調製が可能であった。

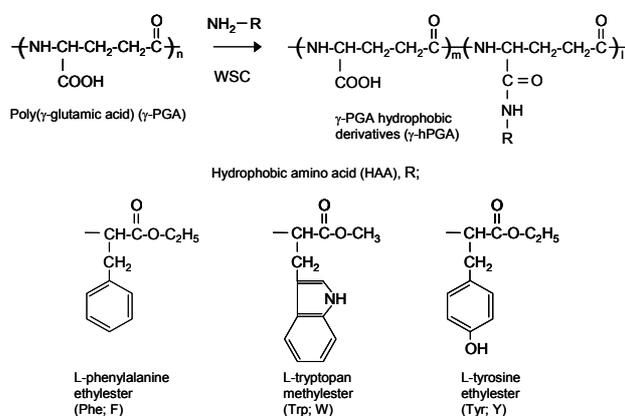


図 1 疎水化  $\gamma$ -PGA 誘導体の合成

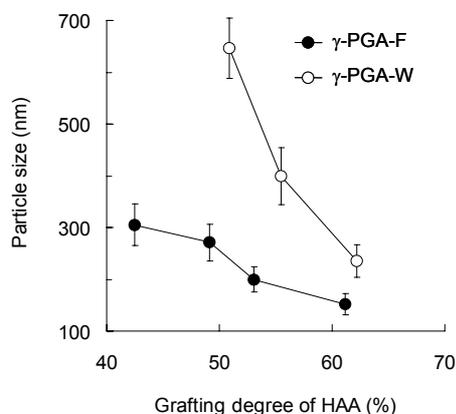


図 2 疎水性アミノ酸の種類および導入率による粒径変化

## 1-2) 抗原固定化ナノ粒子の調製

疎水化  $\gamma$ -PGA ナノ粒子を用いた普遍的なワクチン開発を目指し、様々な感染症関連の抗原とのコンジュゲーションを試みた。抗原には HIV-1 gp120 V3 ペプチド (R15K, T26K)、リステリア抗原ペプチド (LLO<sub>296-307</sub>, LLO<sub>88-99</sub>, p60<sub>216-227</sub>)、スギ花粉抗原ペプチド (Cryj-1, Cryj-2)、ヘリコバクターピロリ菌ウレアーゼ蛋白 (UreB)、インフルエンザウイルス HA 蛋白を用いた。結果、用いたすべての抗原をナノ粒子に担持させることが可能であり、ペプチドの場合は表面固定化、蛋白質の場合は内包が効率よくナノ粒子に担持させることができた。この結果、疎水化  $\gamma$ -PGA ナノ粒子はその表面および内部を巧みに利用することによって、あらゆる免疫原に対応したナノキャリアーであることが明らかとなった。

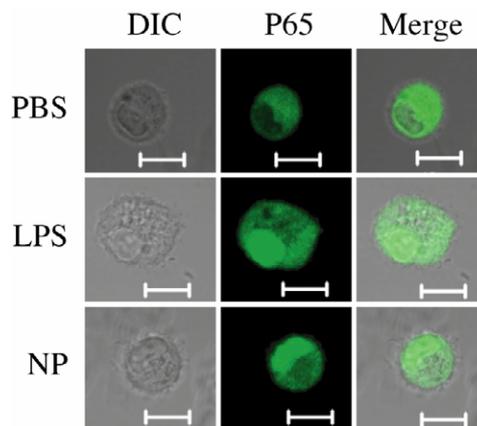
## 2) ナノ粒子と樹状細胞との相互解析および HIV ワクチンとしての有用性評価(馬場 G)

昨年度までの研究により、抗原提示細胞である樹状細胞と  $\gamma$ -PGA ナノ粒子との相互作用について検討した結果、ナノ粒子を樹状細胞に作用させることにより、未熟樹状細胞を成熟させることを見出した。また、マウスを用いた免疫実験により、HIV-1 Gag (p24) 抗原を内包した  $\gamma$ -PGA ナノ粒子は、強力で抗原特異的な細胞性および液性免疫を誘導出来ることを明らかにした。そこで、本年度の研究では、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子の樹状細胞成熟作用のメカニズム解析、および HIV-1 Env (gp120) 抗原内包  $\gamma$ -PGA ナノ粒子を用いたマウス免疫実験を行った。

### 2-1) $\gamma$ -PGA ナノ粒子による樹状細胞成熟化のメカニズム

マウスの骨髄細胞より未熟樹状細胞を分離し、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子を作用させると、樹状細胞の成熟化がおこることを明らかにしているが、それに関わるシグナル伝達系の解析を、種々のシグナル伝達物質に対する特異的阻害薬を用いて検討した。その結果、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子は樹状細胞と相互作用した結果、樹状細胞内のシグナル伝達分子である MyD88 を介して NF- $\kappa$ B の活性化させ、樹状細胞の成熟 (活性化) を起こさせることが明らかとなった (図 3)。また、抗原の樹状細胞への取込みについて解析した結果、抗原単独よりもナノ粒子に内包したほうが、はるかに抗原の取込み効率の高いことが分かった。また、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子が *in vivo* においても、樹状細胞を活性化するかどうかについて調べた結果、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子を投与したマウスの脾臓では、樹状細胞に発現している補助刺激分子の upregulation が認められた。

**図 3** 樹状細胞における NF- $\kappa$ B の活性化. 樹状細胞に PBS, lipopolysaccharide (LPS), もしくはナノ粒子 (NP) を添加し、NF- $\kappa$ B (緑色) の核内移行を共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。



## 2-2) HIV-1 Env 抗原表面固定化もしくは内包 $\gamma$ -PGA ナノ粒子によるマウスの免疫実験

HIV-1 の Env 抗原 (gp120) を表面固定化, もしくは内包した  $\gamma$ -PGA ナノ粒子をマウスに 1 回だけ経鼻投与する事によって, 非常に強い抗原特異的細胞性免疫を誘導することを見いだした (図 4)。さらに誘導された細胞性免疫について詳しく解析した結果, 8 ヶ月以上にわたり, 抗原特異的 CD8<sup>+</sup> memory T 細胞が存在し続けることを明らかにし, 抗原刺激に対する炎症性サイトカインの産生も検出することが出来た。

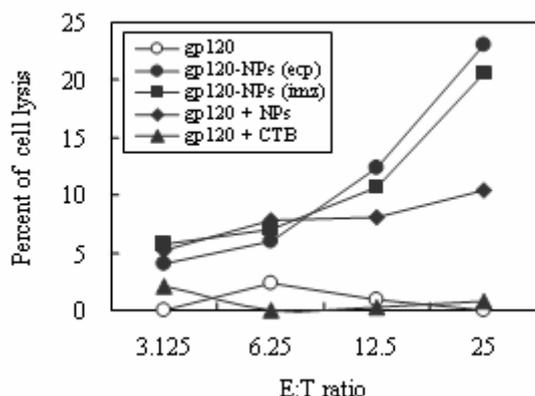


図 4 gp120 表面固定化もしくは内包  $\gamma$ -PGA ナノ粒子により誘導された抗原特異的細胞障害性 T 細胞. gp120 : gp120 抗原単独, gp120-NPs (ecp) : 抗原内包ナノ粒子, gp120-NPs (imz) : 抗原表面固定化 NPs, gp120+NPs : 抗原と NPs の混合物, gp120+CTB : 抗原とコレラトキシン B サブユニット混合物。

## 3) $\gamma$ -PGA ナノ粒子の癌ワクチンキャリアーとしての応用 (中川 G)

これまでに中川 G では, 両親媒化  $\gamma$ -PGA により作製したナノ粒子の癌ワクチンキャリアーとしての応用を推進し, 抗原蛋白質内包  $\gamma$ -PGA ナノ粒子をマウスに皮下免疫することによって, 既存のアジュバントの中で最強とされるフロイント完全アジュバントを適用した場合をも上回る抗腫瘍効果が誘導できることを明らかとした。本成果は, 有効性の観点から  $\gamma$ -PGA ナノ粒子が優れた癌ワクチンキャリアーとなりうることを実証したものであるが, 本アプローチを臨床研究へと展開するためには, 強力な抗腫瘍効果が発揮される理論的根拠を解明すると共に,  $\gamma$ -PGA ナノ粒子の安全面での検証が必要となる。そこで本年度は, 抗原蛋白質内包  $\gamma$ -PGA ナノ粒子の腫瘍免疫誘導機序の解析ならびに  $\gamma$ -PGA ナノ粒子の急性毒性試験を行うことで,  $\gamma$ -PGA ナノ粒子を癌ワクチンキャリアーとして実用化するにあたって必要とされる基礎情報の収集を図った。

### 3-1) 抗原蛋白質内包 $\gamma$ -PGA ナノ粒子の細胞内・生体内挙動の解析

生体内に広く分布する抗原提示細胞 (APC) は, 末梢組織で抗原を捕捉すると所属リンパ節へと移行し, 抗原特異的な T 細胞依存性免疫応答を強力に活性化する。そのため, APC が貪食した抗原蛋白質内包  $\gamma$ -PGA ナノ粒子の“細胞内挙動 (MHC class I 抗原提示機構)”と, ナノ粒子を取り込んだ APC の“生体内挙動 (リンパ節移行性)”を解析することによって,  $\gamma$ -PGA ナノ粒子の優れた癌ワクチンキャリアー特性に寄与するメカニズムの解明を試みた。

これまでに我々は, ナイーブ T 細胞を活性化できる唯一の APC である樹状細胞 (DC) が,  $\gamma$ -PGA ナノ粒子をエンドサイトーシスによって取り込み, 内包抗原を MHC class I 分子上に効率よく提示することを報告している。一般に, エンドサイトーシスを介して取り込まれた抗原の MHC class I

分子上への提示には、エンドソーム内の抗原が細胞質へと移行する過程（エンドソームエスケープ）が必須とされ、この機構は“クロスプレゼンテーション”として知られている。そこで、蛍光標識抗原（FITC-OVA）を内包した $\gamma$ -PGA ナノ粒子を DC に取り込ませ、経時的に内包抗原の細胞内動態を解析したところ、作用 25 分後では初期エンドソーム内に局在していた内包抗原が、120 分後には初期エンドソームおよび後期エンドソームとは異なる部位に存在していた。さらに、異なる蛍光プローブで $\gamma$ -PGA ナノ粒子と内包抗原を二重標識した粒子を用いて解析したところ、作用 2 時間後の DC 内では内包抗原が $\gamma$ -PGA ナノ粒子と一致した局在を示したのに対して、16 時間後では抗原由来の蛍光が細胞質全体に拡散した像が得られた（図 5）。これらの結果から、DC にエンドサイトーシスを介して取り込まれた $\gamma$ -PGA ナノ粒子は、抗原を内包したままエンドソームから細胞質へと移行し、細胞質内で内包抗原を放出することによって、クロスプレゼンテーションを促進することが示唆された。

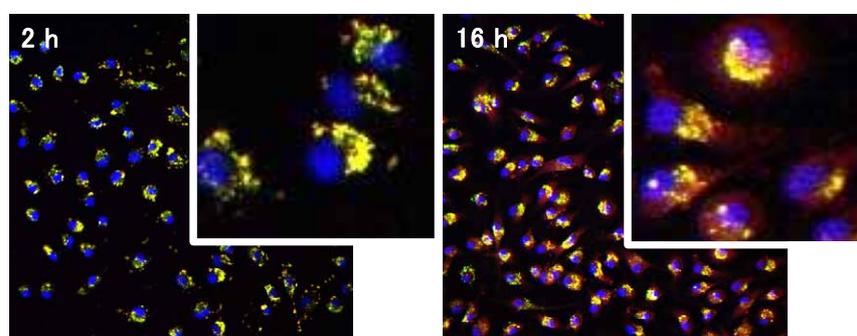


図5 樹状細胞における $\gamma$ -PGAナノ粒子と内包抗原の細胞内挙動  
 緑: $\gamma$ -PGA NP, 赤:OVA, 青:核, 黄: $\gamma$ -PGA NP と OVA の局在が一致した部分

続いて、*in vivo* における APC の抗原蛋白質内包 $\gamma$ -PGA ナノ粒子の取り込みと、その後の所属リンパ節への遊走について検討した。FITC-OVA 内包 $\gamma$ -PGA ナノ粒子を皮下投与したマウスの所属リンパ節には、数日間にわたって多数の蛍光スポットが観察され、それらの分布は MHC class II 陽性細胞、すなわち APC、のリンパ節内局在と一致した（図 6）。したがって、抗原蛋白質内包 $\gamma$ -PGA ナノ粒子は、*in vivo* においても投与局所の APC に効率よく貪食され、その抗原捕食 APC が所属リンパ節へと移行することによって、T 細胞を抗原特異的に感作・活性化することが強く示唆された。以上の結果をまとめると、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子は、APC 内でのエンドソームエスケープを促進することによって内包抗原を MHC class I 提示経路へと効率よく送達し、その効果によってリンパ節に移行する抗原提示 APC 数の増大とそれに伴う抗原特異的 CTL の活性化増強を達成できるワクチンキャリアーであることが明らかとなった。

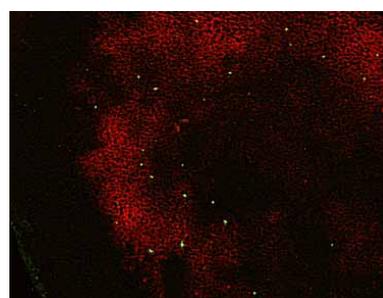


図6 FITC-OVA内包 $\gamma$ -PGA ナノ粒子のリンパ節内局在。  
 緑: $\gamma$ -PGA NPに内包された FITC-OVA, 赤:抗原提示細胞

### 3-2) $\gamma$ -PGA ナノ粒子の急性毒性試験

昨年度までの検討において、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子は投与部位である皮下組織を傷害せず、炎症性細胞の浸潤もほとんど認められないという知見を得ている。そこで本実験では、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子を尾静脈内投与したマウスにおける急性毒性試験を行った。

PBSを投与したコントロール群と比較して、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子を 1 mg/mouse で投与した群では、投与 24 時間後まで GOT 値・GPT 値 (肝障害マーカー) およびクレアチニン値 (腎障害マーカー) の上昇は全く認められなかった。また、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子を 10 mg/mouse という高用量で投与したマウスでは、投与 6 時間後においてクレアチニン値に一過性の上昇が認められたが、24 時間後には PBS 投与マウスと同レベルにまで回復していた。さらに、これらのマウスから投与 24 時間後に回収した肝臓・腎臓・脾臓・肺の病理組織学的所見では、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子を取り込んだ貪食系細胞の腫脹が認められたものの、いずれの臓器においても明らかな組織傷害は観察されなかった。

以上の結果は、 $\gamma$ -PGA ナノ粒子が極めて安全性に優れた抗原送達キャリアーであることを示しており、将来的に粒子を構成する両親媒性 $\gamma$ -PGA の分子量や親疎水バランスを最適化することによって単位粒子あたりの蛋白質内包量を向上させることが出来れば、キャリアーの投与量の削減に基づいたさらに安全性の高い抗原送達システムが構築可能であると考えている。

### 3-3) 小胞体移行シグナルを活用した新規ペプチドワクチン療法の開発

現在、臨床研究の場で最も盛んに実施されている癌ワクチン療法は、個々の癌患者の MHC 型に適合する合成 TAA ペプチドを抗原として用いるペプチドワクチン療法である。そこで我々は、TAA ペプチドを APC 内の小胞体 (MHC class I 分子との複合体形成の場合) へと効率よく送達できるシステムの構築と、本アプローチのペプチドワクチン療法における有用性の評価を試みた。

我々は、アデノウイルス由来の小胞体移行シグナル配列 (ER insertion signal sequence; Eriss) を付加した TAA ペプチドを合成し、これを封入した膜融合型バイオナノ粒子 (Fusogenic liposome; FL) を創製した。すなわち、FL の膜融合活性を利用した TAA ペプチドの効率のよい APC 細胞質内導入と、Eriss による TAA ペプチドの効率のよい小胞体移行を一挙に達成できる戦略を考案した。OVA 由来エピトープペプチド (SL8) の N 末端に Eriss を付加したペプチド (ML26) を封入した FL (FL-ML26) を作用させた APC においては、細胞表面の MHC class I 分子上に SL8 を極めて効率よく提示し、SL8 作用群、ML26 作用群、SL8 封入 FL (FL-SL8) 作用群と比較すると、高い抗原提示レベルをより長期間にわたって維持することができた。また、FL-SL8 を免疫したマウスに OVA 発現腫瘍を攻撃接種したところ 10 例中 4 例において明らかな腫瘍増殖が観察されたのに対して、FL-ML26 免疫群では全例で腫瘍の完全拒絶が達成されるという強力なワクチン効果が発揮された。以上のことから、膜融合型バイオナノ粒子である FL を用いた TAA ペプチドの小胞体ターゲティングシステムが、APC における抗原提示レベルの増強および抗原提示期間の延長に基づいてペプチドワクチン療法の有効性を大幅に増強できることが明らかとなった。

#### 4) HIV-1 gp120 内包ナノ粒子を用いたサル免疫実験および感染防御能の評価(三浦 G)

マウス免疫実験より HIV-1 gp120 内包ナノ粒子の経鼻免疫により強力な抗原特異的な細胞性免疫の誘導効果が認められた。そこで本年度では、この免疫誘導効果が実際に HIV の感染防御効果に有効であるかを検証するために、サルを用いた免疫および SHIV の攻撃接種による感染防御能について検討を行った。

##### 4-1) gp120 内包ナノ粒子(gp120-NP)のサルでの免疫誘導能の解析

群構成としては、gp120-NP 接種群 3 頭(MM471、MM472、MM473)、gp120 単独接種群 3 頭(MM468、MM469、MM478)、コントロール(PBS のみ)群 3 頭(MM474、MM475、MM476)の計 3 群 9 頭を用いた。接種する抗原量は、1 回につき 100  $\mu$ g とした。

経鼻接種で 3 回(4 週間隔; 初回免疫から 12 週目まで)免疫を行ったが、12 週目で gp120-NP 接種群 2 頭(MM471、MM473)で ELISpot による gp120 特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞の増加が認められたのみであった(図 8)。そこで、さらに皮下接種による追加免疫を 2 回(初回免疫から 12 週目と 16 週目)行うこととした。追加免疫に用いる抗原量は 1 回につき 300  $\mu$ g とした。追加免疫 1 回後の 2 週(初回免疫から 14 週目)以内に gp120-NP 接種群 3 頭中 2 頭で ELISpot による抗原特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞が検出され、Th レスポンスの上昇が認められた(図 1)。追加免疫 2 回目後では、gp120-NP 接種群全頭で Th レスポンスの有意な上昇が認められた。

gp120 単独接種群では、追加免疫 1 回目後 1 週目(初回免疫から 13 週目)で 1 頭(MM478)で ELISpot による抗原特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞が検出され、追加免疫 2 回目後(初回免疫から 17 週目)全頭で ELISpot による抗原特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞数の増加が認められた(図 1)。すなわち、gp120-NP 接種および gp120 単独接種のいずれにおいても、経鼻での 3 回接種では特異免疫の誘導は不十分であり、その後の皮下接種でのブースターが必要であった。誘導された免疫は、gp120 単独接種よりも gp120-NP 接種群の方が強力に免疫を誘導した。

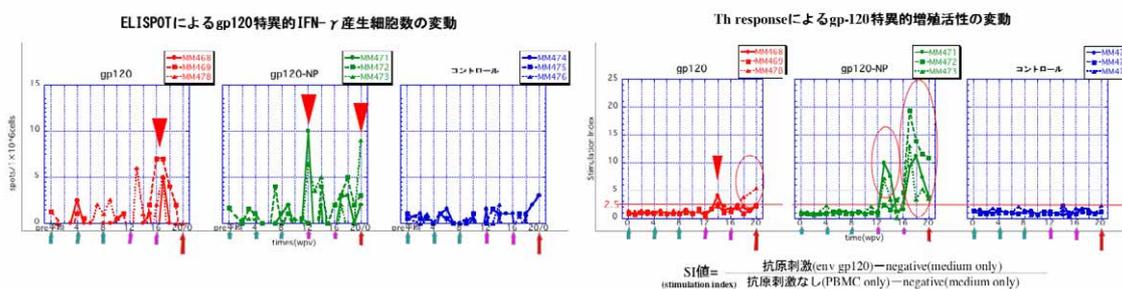


図 8 免疫期間中の gp120 特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞数と Th レスポンス

#### 4-2) SHIV 攻撃接種に対する感染防御能の評価

初回免疫から 20 週後に SHIV-KU2  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub> を経静脈接種した。接種後、血漿中ウイルス量の測定、ELISpot による抗原特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞の検出(gp120、p27)、抗原特異的細胞増殖活性(Th レスポンス)の測定(細胞性免疫)(gp120、p27)、ELISA による血漿中の特異抗体の検出(抗体産生能)および血液中 CD4 陽性細胞の解析を行った。

血漿中のウイルス量は、コントロール群では SHIV-KU2 接種後 1 週でピーク( $10^6$ - $10^7$  copies/ml)を示したが、gp120-NP 接種群および gp120 単独接種群ではピークは攻撃接種後 2 週目でいずれも  $10^8$  copies/ml 以上であった(図 9)。その後のセットポイントの血漿中のウイルス量も、gp120-NP 接種群では他の群に比して 100 倍程度高値を示した。血液中の CD4 陽性 T 細胞数の割合は、gp120-NP 接種群と gp120 単独接種群では、いずれも攻撃接種後 1-3 週目にかけて大幅に減少(攻撃接種前の 20%以下)した(図 9)。gp120-NP 接種群の 3 頭中 1 頭(MM471)ではその後徐々に回復したが、残りの 2 頭と gp120 単独接種群では全頭で攻撃接種後 12 週目においても低値を示した。

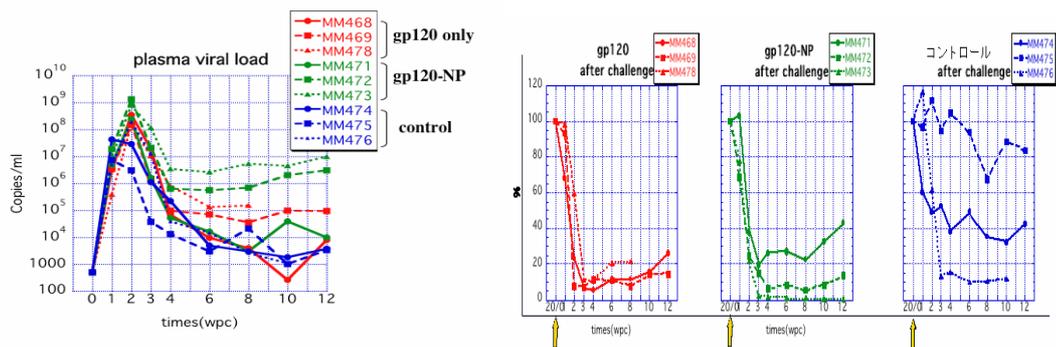


図 9 SHIV 攻撃接種後の血漿中ウイルス量(左)と CD4 陽性 T 細胞数(右)

攻撃接種後の抗原特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞は、env 特異的なものが gp120-NP 接種群および gp120 単独接種群では 3 週以内に増加を示し、コントロール群では 4 週以降で増加した。一方、Gag に対する Th レスポンスはコントロール群で優勢であった。以上の結果から、gp120-NP 接種群と gp120 単独接種群では、誘導された免疫により env 特異的な反応が攻撃接種後早期に起こったが、その反応では攻撃接種ウイルスの感染を防御できず、むしろコントロール群に比して血漿中のウイルス量が増加していることから、ウイルス増殖を増強させてしまった可能性が示唆された。コントロール群では、gag 特異的な免疫反応が優位に認められていることより、ウイルス感染の防御あるいは増殖の抑制には gag 特異的な免疫反応を誘導することが重要なかもしれない。

本実験の結果から、サルにおいてもマウス免疫実験と同様に gp120-NP は優れた免疫誘導効果を示すことが明らかとなった。しかしながら、内包した gp120 抗原に対する免疫は感染防御には有効でないことが示唆された。今後は内包する標的抗原を gag(p27)に変更し、治療ワクチンとしての効果を検討する。

### 3. 研究実施体制

#### (1)「明石」グループ

##### ①研究者名

明石 満 (大阪大学大学院工学研究科 教授)

##### ②研究項目

- ・研究統括
- ・生分解性ナノ粒子の調製
- ・ナノ粒子への免疫原固定化方法の検討と機能性評価

#### (2)「馬場」グループ

##### ①研究者名

馬場 昌範 (鹿児島大学大学院・医歯学総合研究科附属難治ウイルス病態制御研究センター 教授)

##### ②研究項目

- ・ $\gamma$ -PGA 粒子を用いたマウスの免疫実験と免疫応答の解析
- ・ナノ粒子と免疫細胞（特に樹状細胞）との相互作用の解析
- ・ナノ粒子の免疫細胞（特に樹状細胞）のシグナル伝達に与える影響についての解析

#### (3)「中川」グループ

##### ①研究者名

中川 晋作 (大阪大学大学院薬学研究科 教授)

##### ②研究項目

- ・膜融合リポソーム (FL)を用いたワクチン開発
- ・生分解性ナノ粒子を用いた抗腫瘍ワクチンとしての有用性評価
- ・ナノ粒子による免疫誘導メカニズムの解析

#### (4)「三浦」グループ

##### ①研究者名

三浦 智行 (京都大学ウイルス研究所 助教授)

##### ②研究項目

- ・サルを用いたナノ粒子ワクチンの感染防御能の評価

### 4. 研究成果の発表等

#### (1) 論文発表(原著論文)

- Takami Akagi, Tatsuo Kaneko, Toshiyuki Kida, Mitsuru Akashi, “Multifunctional Conjugation of Proteins on/into Bio-nanoparticles Prepared by Amphiphilic Poly( $\gamma$

-glutamic acid”, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **17**, 875-892 (2006).

- Yuki Itoh, Michiya Matsusaki, Toshiyuki Kida, Mitsuru Akashi, “Enzyme-Responsive Release of Encapsulated Proteins from Biodegradable Hollow Capsules”, *Biomacromolecules*, **7**, 2715-2718 (2006).
- Taiki Shimokuri, Tatsuo Kaneko, Mitsuru Akashi, "Effects of Thermoresponsive Coacervation on Hydrolytic Degradation of Amphipathic Poly( $\gamma$ -glutamate)s", *Macromol. Biosci.*, **6**, 942-951 (2006).
- Akira Hayashi, Hisashi Wakita, Tomoaki Yoshikawa, Tsuyoshi Nakanishi, Yasuo Tsutsumi, Tadanori Mayumi, Yohei Mukai, Yasuo Yoshioka, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa, “A strategy for efficient cross-presentation of CTL-epitope peptides leading to enhanced induction of in vivo tumor immunity”, *J. Control. Release*, **117**, 11-19 (2007).
- Kazuhiro Hamada, Tatsuo Kaneko, Ming Qing Chen, Mitsuru Akashi, “Size-Selective Material Adsorption Property of Polymeric Nanoparticles with Projection Coronas”, *Chem. Mater.*, **19**, 1044-1052 (2007).
- Tomofumi Uto, Xin Wang, Katsuaki Sato, Masami Haraguchi, Takami Akagi, Mitsuru Akashi, Masanori Baba, “Targeting of antigen to dendritic cells with poly( $\gamma$ -glutamic acid) nanoparticles induce antigen-specific humoral and cellular immunity”, *J. Immunol.*, **178**, 1979-2986 (2007).

## (2) 特許出願

平成 18年度特許出願:1 件 (CREST 研究期間累積件数:5 件)