

2023年9月27日

国立大学法人東北大学
国立研究開発法人理化学研究所
国立研究開発法人 科学技術振興機構 (JST)

キラーT細胞を活性化するRNAワクチンを創出 ～創薬実現に向けた技術開発、安全性向上に期待～

【発表のポイント】

- ビタミン E 構造を含む人工脂質を用いて作られた脂質ナノ粒子が、がん免疫や感染免疫を促進する性質を持つことを見出しました。
- この脂質ナノ粒子に mRNA を搭載した RNA ワクチンは、がんや感染細胞を殺傷するキラーT細胞と呼ばれる免疫細胞を強く活性化しました。
- この RNA ワクチンを生体内で取り込み、キラーT細胞を直接活性化する橋渡し役の免疫細胞を特定しました。
- RNA ワクチンのメカニズム解析は、より効率的なワクチンの開発や、目的のタンパク質を補充する mRNA 医薬の創出につながることで期待されます。

【概要】

RNA ワクチンは、病原体の目印となる「抗原」を遺伝子情報としてメッセージャーRNA (mRNA) に組み込み、生体内でタンパク質がつくられるようにした製剤です。mRNA を生体内の細胞の中に届けるために、脂質ナノ粒子 (LNP: Lipid Nanoparticle) ^(注1) が使用されています。SARS-CoV-2 ^(注2) に対して迅速な応用が進んだ一方、その免疫誘導メカニズムには未解明な部分が多いのも現状です。

東北大学大学院薬学研究科の秋田英万教授、理化学研究所生命医科学研究センターの岡田峰陽チームリーダーを中心とする研究グループは、ビタミン E を構造内に含む人工脂質を用いて LNP を作製し、mRNA を組み込むと、がんや感染細胞を殺傷するキラーT細胞 ^(注3) と呼ばれる免疫細胞を強く活性化する RNA ワクチンとして働くことを見出しました。また、本 LNP を生体内で取り込み、キラーT細胞にワクチン抗原を提示する免疫細胞を特定しました。

本知見は副作用の少ない RNA ワクチンの開発や、ワクチン以外の遺伝子治療のような免疫応答が不要な医薬品の創出へ貢献すると期待されます。

本成果は 2023 年 9 月 27 日 (現地時間) に ACS Nano 誌電子版に掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

近年、mRNA を生体に投与し、ワクチン効果の誘導を目指す RNA ワクチンが注目されています。特に 2020 年以降、SARS-CoV-2 に対する RNA ワクチンが日米欧を含む世界各国で承認され、臨床で使用されるようになりました。

RNA ワクチンでは、病原体の目印となる抗原タンパク質をコードした mRNA を合成し、生体自らに翻訳^(注 4)させることでワクチン機能を発揮します。mRNA がタンパク質へと翻訳されるためには、翻訳が行われる場である細胞質^(注 5)へ送達される必要があります。しかし mRNA は水溶性が高い高分子であり、酵素分解によって分解されやすいという性質上、生体内で自発的に細胞膜を超えて細胞質にたどり着くことは極めて困難です。

このため、mRNA を生体内で保護しつつ、細胞質へと送達するために、LNP 技術が開発されました。この技術を用いて作られた RNA ワクチンは、脂質からなるナノサイズの粒子に、mRNA が内封された構造体であり、モデルナ社やファイザー社の SARS-CoV-2 に対する RNA ワクチンにも、この技術が使われています。

RNA ワクチンによって誘導が期待される獲得免疫は、抗体を主体とする液性免疫と、キラーT 細胞 (CD8 陽性 T 細胞が活性化した細胞) を主体とする細胞性免疫に大別されます。従来の感染症を対象とした RNA ワクチンは、病原体に直接作用し感染を防ぐことができる抗体を、どれだけ効率的に誘導できるかという観点を中心に、その効果が論じられてきました。しかしながら、感染細胞の中に隠れている病原体は、抗体では除去することが出来ない場合が多いことも知られています。そのため、感染細胞を殺傷するキラーT 細胞の活性化も、欠かすことのできない防御戦略です。さらに、がんに対する免疫においても、キラーT 細胞の活性化は、非常に重要であることが知られています。それにもかかわらず、キラーT 細胞活性化に焦点を当てた RNA ワクチンの研究は進んでいませんでした。

RNA ワクチンの効果は、mRNA にコードされた抗原タンパク質が生体内で産生された後、樹状細胞^(注 6)などの抗原提示細胞と呼ばれる免疫細胞群が、抗原タンパク質を捕捉し、獲得免疫を担うヘルパーT 細胞^(注 7)やキラーT 細胞へ情報伝達することで、誘導されると考えられています。しかしながら RNA ワクチンが生体内に投与された後、どのような種類の細胞がワクチン抗原を T 細胞に提示しているのか、明らかとなっていませんでした。また獲得免疫を効率的に成立させるためには、一連の免疫応答の起点となる自然免疫^(注 8)を適切に活性化する必要があります。RNA ワクチンに含まれるどのような成分が自然免疫を活性化するのかについてはほとんど明らかになっていませんでした。

今回の取り組み

東北大学大学院薬学研究科の秋田英万教授、同大学の田中浩揮助教、理化学研究所生命医科学研究センターの岡田峰陽チームリーダー、同センターの石亀晴道上級研究員（当時）、千葉大学大学院医学薬学府後期博士課程3年の大山遼太郎氏を中心とする研究グループは、細胞性免疫を強く誘導するRNAワクチンに資するLNPを創出し、その免疫誘導機構を解明するための研究を行いました。

研究グループはマウスモデルを用いて、細胞性免疫の活性を基準にmRNA封入LNPの条件検討を行い、脂質の組成、脂質とmRNAの配合比、調製条件に関して検討しました。このようにして得られた効果的なRNAワクチンは、マウスにおいてがんや細胞内寄生原虫の感染に対してワクチン効果を発揮しました。

続いて、RNAワクチンのどのような性質が、自然免疫の活性化に関わるかマウスを用いて検討しました。その結果、LNPを構成する脂質の中でも、イオン化脂質^(注9)と呼ばれる成分の脂溶性構造の違いが、免疫応答に寄与していることを見出しました。特に、イオン化脂質の脂溶性ユニットとしてビタミンEを採用すると、種々の免疫を活性化するサイトカイン^(注10)が血液中に誘導されることが明らかとなりました（図1）。この応答は、mRNAの有無にかかわらず観察されることや、脂溶性ユニットを脂肪酸に入れ替えた場合は、観察されませんでした。このビタミンE含有脂質から形成されるLNPを投与した際には、I型インターフェロン^(注11)と呼ばれるサイトカインによる細胞間情報伝達が、誘導されていることが示唆されました。そこで、I型インターフェロンの受容体を阻害する抗体を投与したところ、ビタミンE含有脂質から形成されるLNPによる細胞性免疫誘導が減弱しました（図2）。このことから、ビタミンE構造を持つ脂質が、I型インターフェロンのシグナルを介して、免疫を誘導していることが確認されました。

また研究グループは、ワクチン抗原の情報をT細胞に伝える抗原提示細胞についても着目し、RNAワクチンの投与からキラーT細胞の活性化に至るまでの過程を解析しました。その結果、古典的樹状細胞（cDC）と呼ばれる樹状細胞の一種が重要であることが判明しました。マウスにおいてcDCは、cDC1とcDC2の2種類に分類されます。従来の不活化病原体やタンパク質を用いたワクチンにおいては、cDC1が細胞性免疫の誘導に重要と考えられています。これはcDC1が、細胞外のタンパク質抗原を取り込み、キラーT細胞に抗原提示を行うことで、細胞性免疫を誘導できるクロスプレゼンテーション^(注12)という能力を備えているためです。一方で、cDC2はそのような能力が低く、ヘルパーT細胞の活性化への寄与が大きいことが知られています。

ところが、今回開発されたRNAワクチンの場合、cDC1の寄与が小さいことが明らかとなりました（図3）。これらの結果から、クロスプレゼンテーション能力の低いcDC2がRNAワクチンを取り込んで、自らワクチン抗原を発現することで、キラーT細胞に抗原提示を行なっている可能性が考えられました。実

際に、今回開発された RNA ワクチンをマウス生体内で取り込み、ワクチン抗原を発現した免疫細胞の割合を解析したところ、cDC2 がその大部分を占めていました。また、皮膚や筋肉などの投与部位にいる cDC2 が RNA ワクチンを取り込んだ後、リンパ節に移動して抗原提示を行う可能性が見出されました。最後に、リンパ節内の抗原提示の様子を顕微鏡で観察したところ、やはりワクチン抗原を発現した樹状細胞が、抗原特異的なキラーT 細胞と相互作用していることが確認されました (図 4)。

今後の展開

RNA ワクチンは、SARS-CoV-2 のパンデミックを通して、急速な発展を遂げました。その一方で、詳細なメカニズムに関しては未だブラックボックスとなっています。このため、更なる改良に向けた課題点が明確ではないのが現状です。本研究では、LNP を構成する脂質の化学構造によって、免疫応答が異なることを明らかとしました。また、生体投与後、移行性 cDC2 が投与部位付近で LNP を取り込み、抗原を発現し、リンパ節へ移行後、キラーT 細胞に抗原を提示する一連の過程をマウスで解析し、RNA ワクチンによって細胞性免疫が誘導されるメカニズムを明らかにしました。脂質の化学構造が免疫応答に影響することが明らかとなったことから、化学構造の改変により細かな免疫応答の調節をすることで、副作用の少ない RNA ワクチン製剤の開発に繋がるかもしれません。また、免疫応答を起こさずに、目的の細胞に蛋白質補充をする mRNA 医薬の創出にもつながるかもしれません。さらには、投与後の一連の過程が見えてきたことによって、細胞性免疫を高めるために標的とする抗原情報を用いてがんなどを治療するための RNA ワクチンの開発が更に加速されることが期待されます。このような研究成果は、ドラッグデリバリー、マイクロ流体デバイス、感染症学、そして免疫学という異なる分野の研究者が、タッグを組むことによってはじめて達成されたものと言えるので、今後も異分野間の交流を拡げ、そして深めながら、研究を進めることが重要であると考えられます。

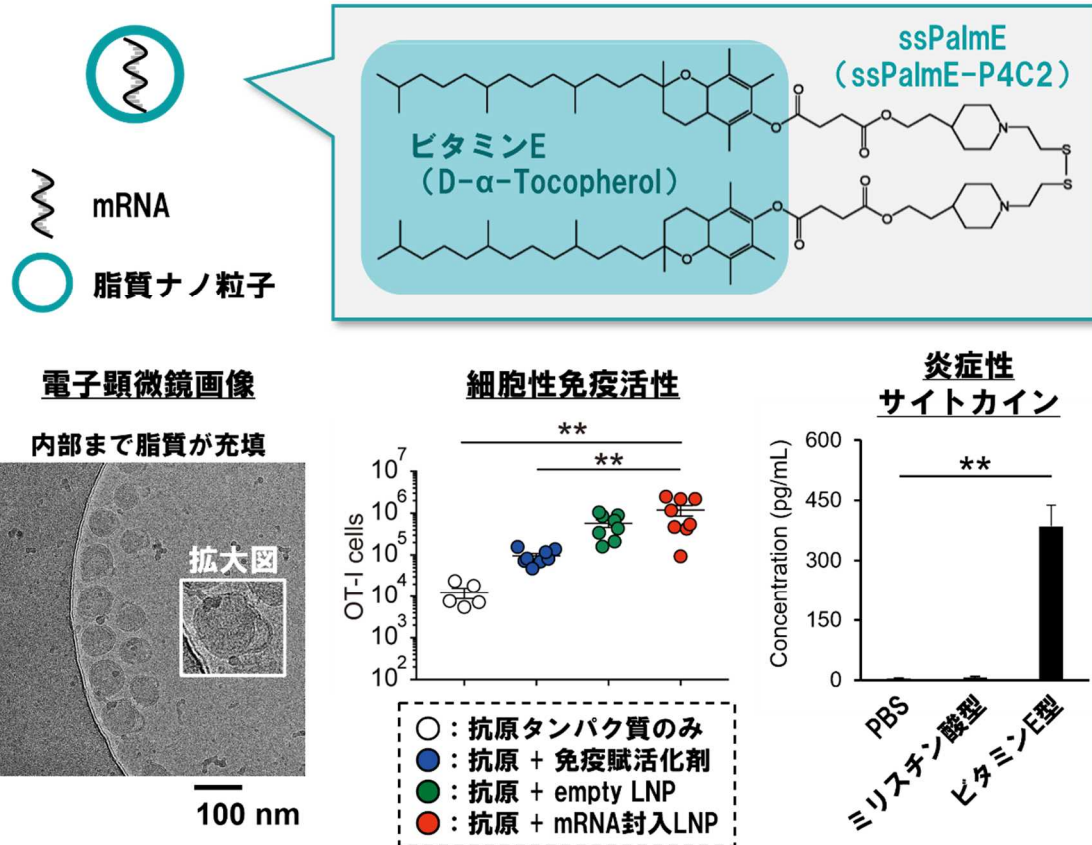


図 1. ビタミンE型イオン化脂質を用いた RNA ワクチン (** 99%以上の確率で 2 群間に統計学的に有意な差が存在する)。

**ビタミンE型イオン化脂質から形成されるLNPの
投与により投与部位皮膚で促進したシグナル経路**

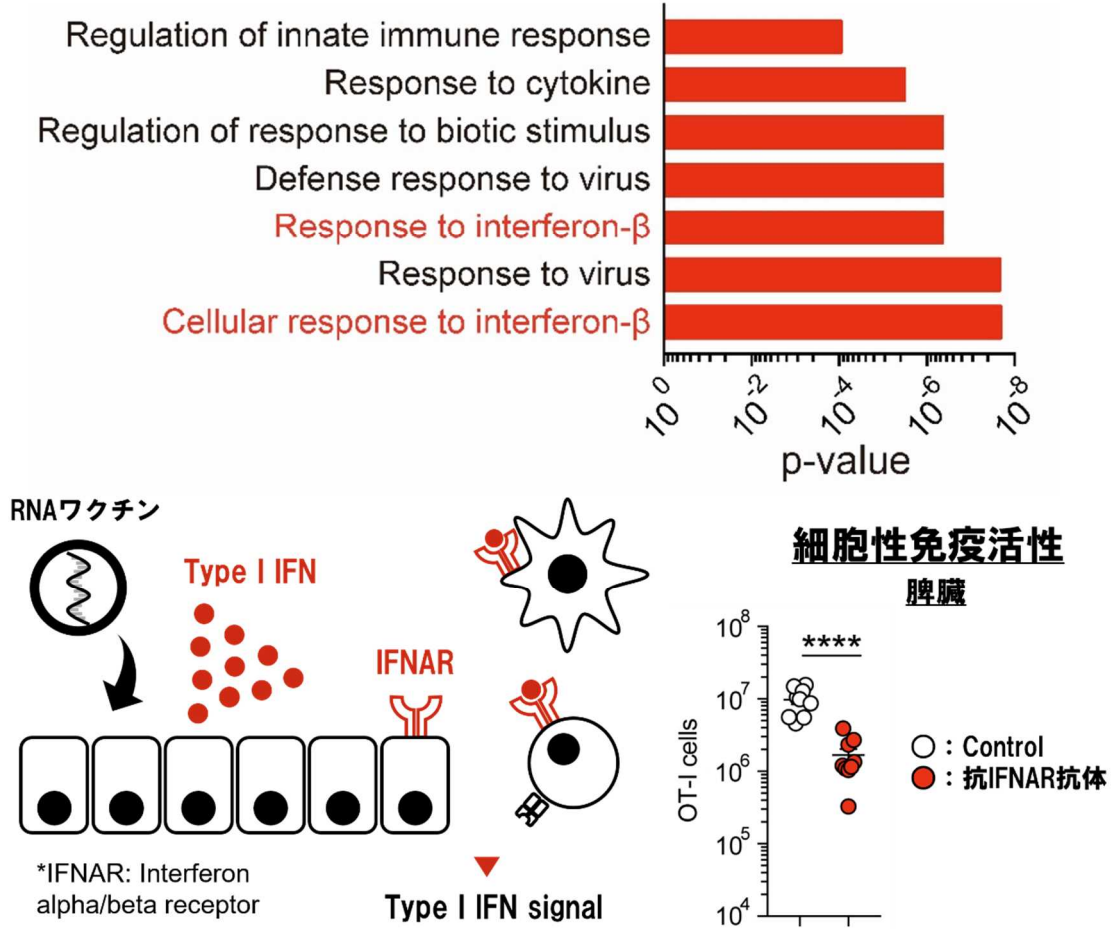


図 2. ビタミン E 型イオン化脂質から形成される LNP の投与により投与部位皮膚で促進したシグナル経路（上側）。I 型インターフェロン（Type I IFN）シグナルの遮断が細胞性免疫に与える影響（下側）。（**** 99.99%以上の確率で 2 群間に統計学的に有意な差が存在する）。

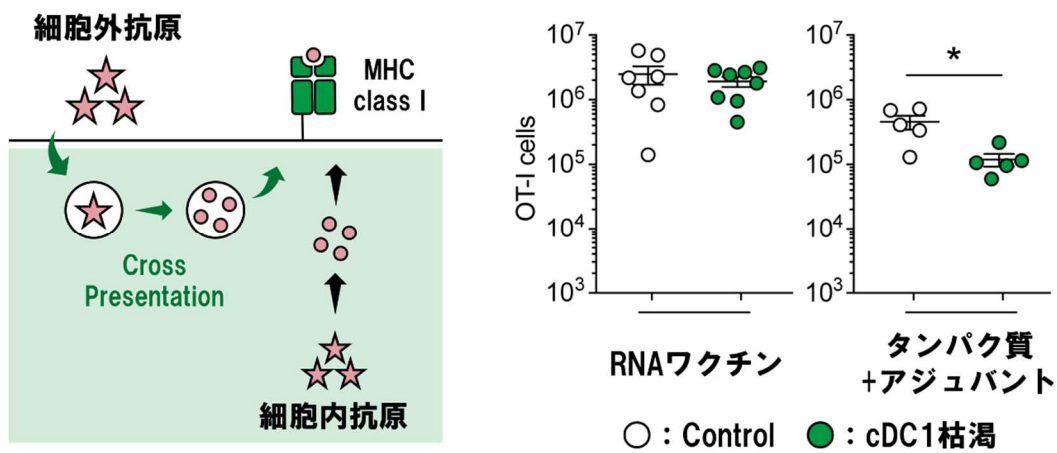


図 3. MHC class I（主要組織適合遺伝子複合体クラス I）への抗原提示機構と cDC1 枯渇時の細胞性免疫活性。（* 95%以上の確率で 2 群間に統計学的に有意な差が存在する）。

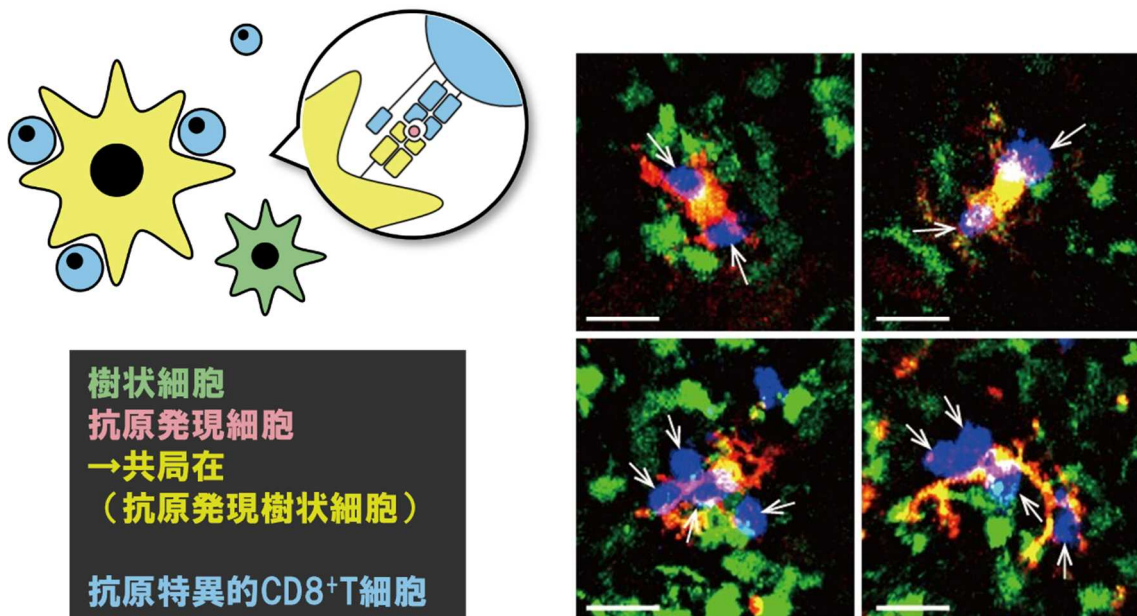


図 4. 樹状細胞からキラーT 細胞への抗原提示の様子（Bar = 20 μ m）

【謝辞】

本研究は JST CREST（JPMJCR17H1）およびムーンショット型研究開発事業（JPMJMS2025）、JSPS 科学研究費助成事業（17H06558、18K18377、21K18035、21K18320）などの研究費支援を受けて実施されました。

【用語説明】

注1. 脂質ナノ粒子 (Lipid Nanoparticle)

脂質同士が会合することによって形成されるナノサイズの集合体。使用する脂質によっては mRNA など核酸を粒子の内部に封入することができる。核酸は脂質ナノ粒子に封入されることで酵素による分解を防ぎ、細胞膜を通過できるようになる。

注2. SARS-CoV-2

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 の略。2019 年に中国で初めて確認され、その後世界的な感染拡大が起こったとされている、コロナウイルスの一種。本ウイルスに感染することで起こる症状は COVID-19 (Coronavirus Diseases 2019) と称されている。

注3. キラーT細胞

T細胞の一種。T細胞は、胸腺 (Thymus) で発生する免疫細胞の一種であり、キラーT細胞 (CD8 陽性) とヘルパーT細胞 (CD4 陽性) に分けられる (なお、CD8 と CD4 は各タイプの T細胞表面に発現する補助受容体)。キラーT細胞は、活性化すると、がんや病原体の持つ抗原を目印に、これらを直接殺傷する。ヘルパーT細胞については注7 参照。

注4. 翻訳

mRNA からタンパク質に変換される過程のこと。リボソームと呼ばれるタンパク質を中心に mRNA の配列を読み取り、対応するアミノ酸の配列を生成することで行われる。

注5. 細胞質

細胞膜で囲まれた内側の空間のうち、細胞核を除いた領域。生体において mRNA からタンパク質への翻訳はここで行われる。

注6. 樹状細胞

免疫細胞の一種であり、獲得した抗原情報を T細胞に伝えることで獲得免疫の活性化を誘導する。樹状細胞が抗原タンパク質を獲得すると、それを分解酵素によって断片化する (抗原ペプチド)。この断片を細胞表面上の MHC と呼ばれる分子と会合させ、これを抗原提示と呼ぶ。MHC には、クラス I と II が存在し、それぞれキラーT細胞、ヘルパーT細胞と相互作用する。従って、樹状細胞は相互作用した T細胞の活性化を介して獲得免疫を誘導する。この機能は主に古典的樹状細胞 (cDC) によって担われている場合が多い。cDC 以外の樹状細胞としては、I型インターフェロン分泌能力

の高い形質細胞様樹状細胞が存在し、ウイルス感染センサーとして働くと考えられている。

注7. ヘルパーT細胞

T細胞（注3参照）の一種。抗体を作るB細胞の活性化に重要な役割を果たし、またキラーT細胞の活性化を促進する働きも持つ。

注8. 自然免疫

病原体による感染後、最初に誘導される免疫システム。炎症性サイトカインやケモカインが分泌され、免疫細胞の活性化による病原体の貪食や、免疫細胞の炎症部位への遊走が促進される。また、活性化した抗原提示細胞が抗原を獲得することで、獲得免疫の活性化が行えるようになる。

注9. イオン化脂質

pHに応じて荷電状態が変化する脂質を指し、本稿では生理的条件下では中性、酸性環境においてカチオン性を帯びる脂質を意味する。細胞内に取り込まれたLNPは、通常エンドサイトーシスによって分解されてしまう。しかし、成熟したエンドソーム内は低pH環境であるため、イオン化脂質搭載LNPは正に帯電し、エンドソームを脱出することで分解を回避することができると考えられている。

注10. サイトカイン

細胞から分泌される生理活性を持つタンパク質の総称。標的細胞に発現する受容体に結合し、シグナル伝達を誘導する。

注11. I型インターフェロン

自然免疫応答によって分泌されるサイトカインの一種で、抗ウイルス応答と呼ばれる反応を惹起する。抗ウイルス応答には核酸の分解の促進、翻訳の抑制、獲得免疫の活性化へ寄与などが挙げられる。特に獲得免疫のうち、細胞性免疫の活性化に関与することが報告されている。

注12. クロスプレゼンテーション

細胞外から取り込んだタンパク質抗原を、断片化してMHCクラスI上に提示すること。体内のほとんどの細胞は、免疫寛容のために、その細胞自身が発現したタンパク質抗原を、自己抗原としてMHCクラスI上に提示しているが、細胞外のタンパク質抗原をMHCクラスI上に提示する能力はない。しかし、一部の樹状細胞（主にcDC1）は、キラーT細胞活性化のために、この能力を有している。

【論文情報】

タイトル : An ionizable lipid material with a Vitamin E scaffold as an mRNA vaccine platform for efficient cytotoxic T cell responses.

著者 : Ryotaro Oyama, Harumichi Ishigame, Hiroki Tanaka, Naho Tateshita, Moeko Itazawa, Ryosuke Imai, Naomasa Nishiumi, Jun-ichi Kishikawa, Takayuki Kato, Jessica Anindita, Yoshifumi Nishikawa, Masatoshi Maeki, Manabu Tokeshi, Kota Tange, Yuta Nakai, Yu Sakurai, Takaharu Okada*, Hidetaka Akita*

*責任著者 : 東北大学大学院薬学研究科 教授 秋田英万

理化学研究所 生命医科学研究センター チームリーダー 岡田峰陽

掲載誌 : ACS Nano

DOI: 10.1021/acsnano.3c02251

URL: <https://doi.org/10.1021/acsnano.3c02251>

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院薬学研究科

教授 秋田 英万

TEL: 022-795-6831

Email: hidetaka.akita.a4[at]tohoku.ac.jp

理化学研究所生命医科学研究センター

チームリーダー 岡田 峰陽

(JST 事業に関すること)

科学技術振興機構 戦略研究推進部

ライフイノベーショングループ

保田 睦子

TEL: 03-3512-3524

Email: crest[at]jst.go.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院薬学研究科・薬学部 総務係

TEL: 022-795-6801

Email: ph-som[at]grp.tohoku.ac.jp

理化学研究所 広報室

TEL: 050-3495-0247

Email: ex-press[at]ml.riken.jp

科学技術振興機構 広報課

TEL: 03-5214-8404

Email: jstkoho[at]jst.go.jp