

α-GalCerアジュバントの臨床応用でのポイント

● α-GalCerを標的の抗原提示細胞にデリバリーする

- ◆ 投与ルート
- ◆ 薬剤処方

KRN7000単独IV連投ではIFN-γは上昇しない

◆ 第I相臨床試験で患者さんにKRN7000を3回IV投与したが血中のIFN-γの十分な上昇が認められなかった。

Drug Formulation and Administration. The clinical dosage form of KRN7000 was supplied as vials containing lyophilized KRN7000 (0.2 mg), sucrose (56 mg), L-histidine (7.5 mg), and polysorbate 20 (5 mg) and was stored at 2°C to 8°C. Just before administration, KRN7000 was reconstituted with 1 ml of water. KRN7000 was administered by slow i.v. infusion on days 1, 8, and 15 of a 4-weekly cycle. Before drug administration, signs and symptoms of toxicity had to have disappeared. Doses administered and number of patients included at each dose level are summarized in Table 1.

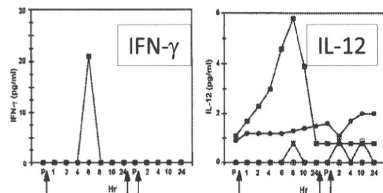
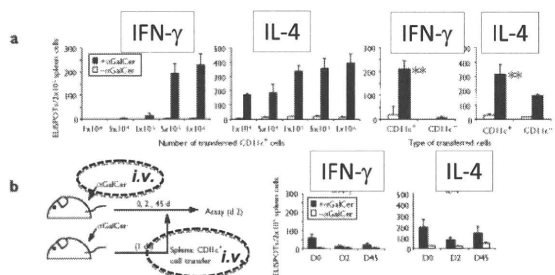


Fig 4. Serum IFN-γ (a) and IL-12 (b) in patients with high pre-treatment NKT-cell numbers (>333/ml, n = 10). Serum samples were collected before the first administration; at 1, 2, 4, 8, 10, and 24 h after the first administration, and on day 15 (before the third administration), and at 2, 4, 10, and 24 h after administration. Data represent the means of duplicate ELISA assays. Patient 3 showed an increase of both IFN-γ and IL-12 levels after the first administration. Closed symbols, the four patients with TNF-α and GM-CSF responses on KRN7000 (■, patient 3; ▲, patient 5; ●, patient 9; ▼, patient 17). Arrows, the three first weekly injections.

- 2002: Giaccone G, Punt C JA, Ando Y, et al. "A phase I study of the natural killer T-cell ligand α-galactosylceramide (KRN7000) in patients with solid tumors." *Clin Cancer Res*, 8:3702.

◆ KRN7000を単独でIV投与した後に、KRN7000パルスしたDCをIV投与するとIFN-γの産生が認められない。
◆ KRN7000単独のIV投与で、NKT細胞の免疫抑制機能、たとえばIL-10産生が増強される可能性が示唆される。



- 2002: Fujii S, Shimizu K, Kronenberg M, et al. "Prolonged IFN-γ-producing NKT response induced with α-galactosylceramide-loaded DCs." *Nat Immunol*, 3:867.

α-GalCerを使った癌ワクチン

● α-GalCerを樹状細胞にデリバリーして、NKT細胞からのIFN-γ産生を誘導する

◆ 投与ルート

- ▶ 体外での細胞パルス
- ▶ 静脈

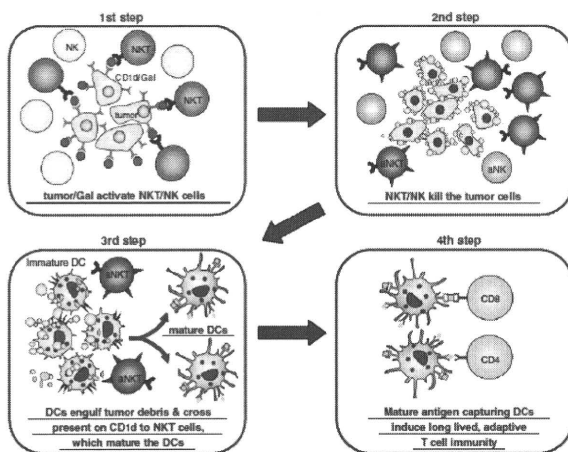
◆ 薬剤処方

- ▶ 細胞
 - ◆ 患者末梢血細胞⇒ex vivo DC differentiation
 - ◆ 患者癌細胞
 - ◆ 人工アジュバントベクター細胞
- ▶ ナノ粒子

がんワクチンへの応用

◆ がん細胞自身をベクターにするワクチン

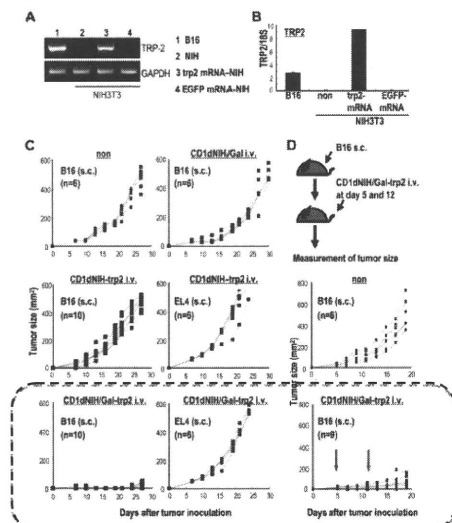
- ◆ α-GalCer (KRN7000)を取り込ませたB16メラノーマを体内に戻すとT細胞依存的な抗ガン作用を示す。



- 2007: Shimizu K, Kurosawa Y, Taniguchi M, Steinman RM and Fujii S, "Cross-presentation of glycolipid from tumor cells loaded with α-galactosylceramide leads to potent and long-lived T cell-mediated immunity via dendritic cells." *J Exp Med*, 204:2641.

◆ 人工ベクター細胞を用いるワクチン

- ◆ α-GalCer (KRN7000)とがん抗原mRNAを取り込ませたアロ纖維芽細胞を体内に戻すとT細胞依存的な抗ガン作用を示す。



- 2009: Fujii S, Goto A and Shimizu K, "Antigen mRNA-transfected, allogeneic fibroblasts loaded with NKT cell ligand confer antitumor immunity." *Blood*, 113:4262.

α-GalCerを使った免疫抑制ワクチン

- α-GalCerをCD1d^{hi}-B細胞にデリバリーして、NKT細胞からIL-10産生を誘導し、Treg細胞分化を促進する。

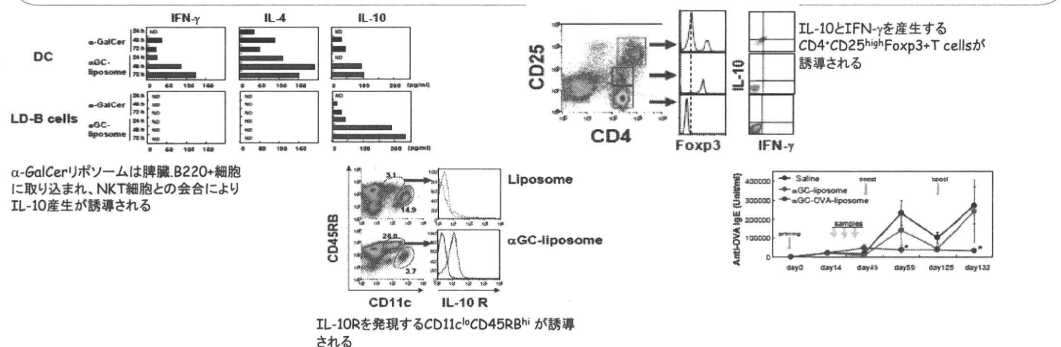
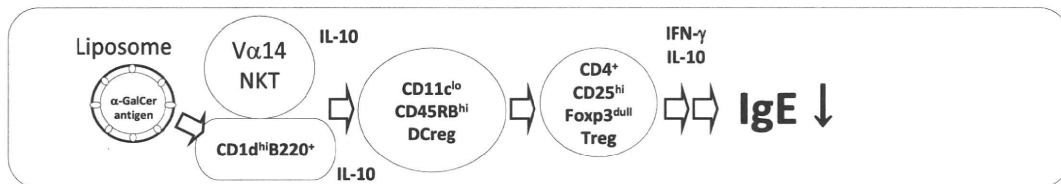
◆ 投与ルート

- ▶ 静脈
 - ➡ 脾臓
- ▶ 経口

◆ 薬剤処方

- ▶ ナノ粒子
 - ➡ リポソーム
- ▶ 腸溶カプセル

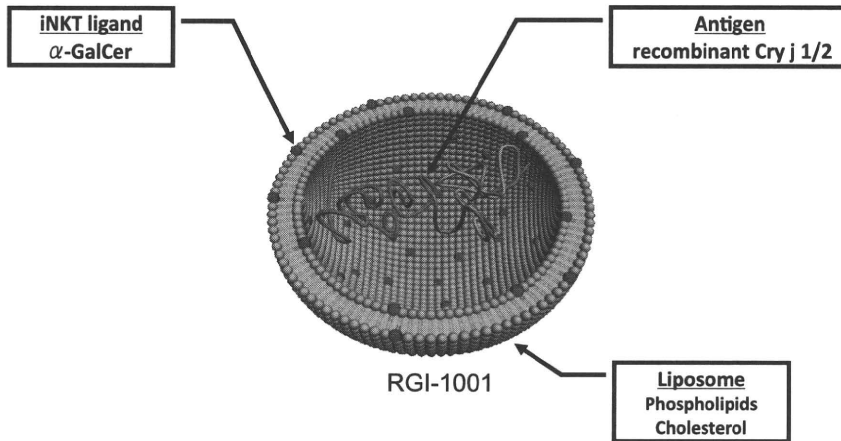
アレルギーワクチンへの応用



Ishii et al, 2008 Front. Biosci.

JST 独自のシーズ展開事業 革新的ベンチャー活用開発
「創薬イノベーションプログラム」

スギ花粉症ワクチン(RGI-1001) -preclinical stage-



REGIMMUNE

α -GalCerを使った感染症ワクチン

- α -GalCerを粘膜下の樹状細胞にデリバリーして、NKT細胞からのIL-4産生を誘導し、IgA産生を促進する。

⊕ 投与ルート

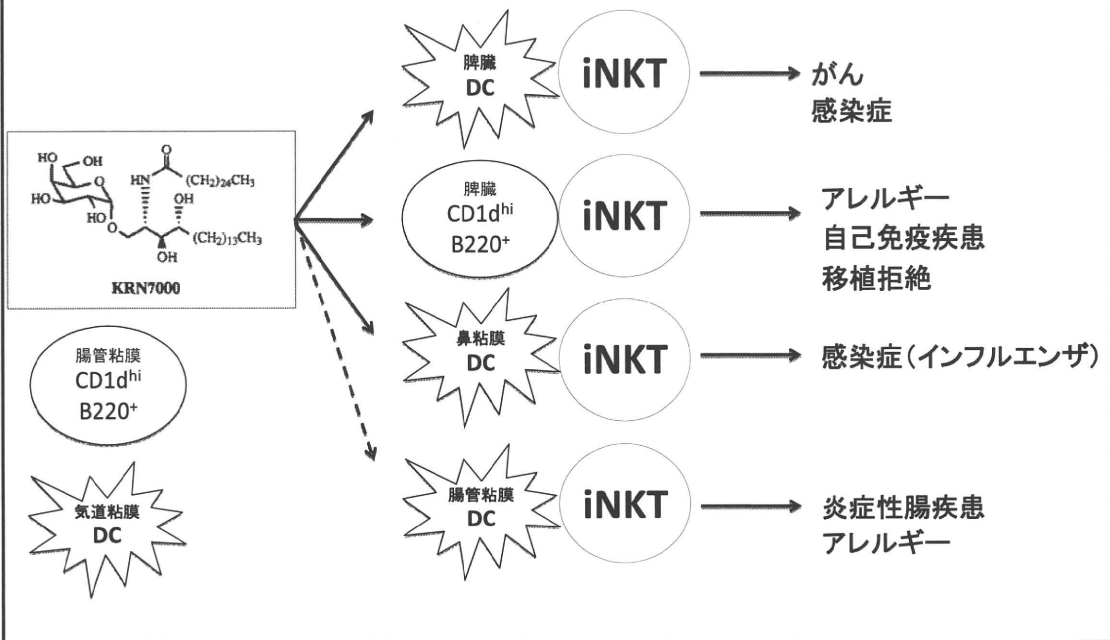
- ▶ 経鼻
 - ➡ NALT
- ▶ 経口
 - ➡ GALT

⊕ 薬剤処方

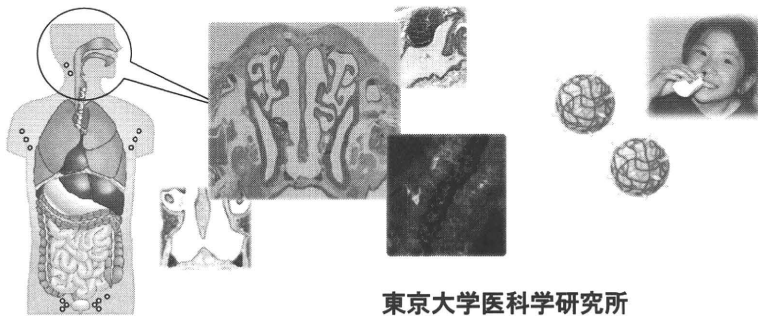
- ▶ ナノ粒子
 - ➡ リポソーム
- ▶ 腸溶カプセル

REGIMMUNE

α-GalCerアジュバントの臨床開発ポテンシャル



粘膜アジュバントとDDS研究の新展開



THE UNIVERSITY OF TOKYO

東京大学医科学研究所
感染・免疫部門 炎症免疫学分野
清野 宏



粘膜免疫機構の理解に立脚した注射器・注射針不要のワクチン開発へ

典型的な粘膜ワクチン



経口ワクチン

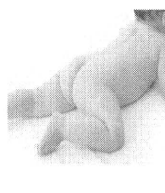


経鼻ワクチン



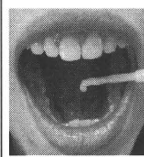
Omaha world-Herald

経肛門ワクチン



新規の粘膜ワクチン

舌下ワクチン



塗布ワクチン



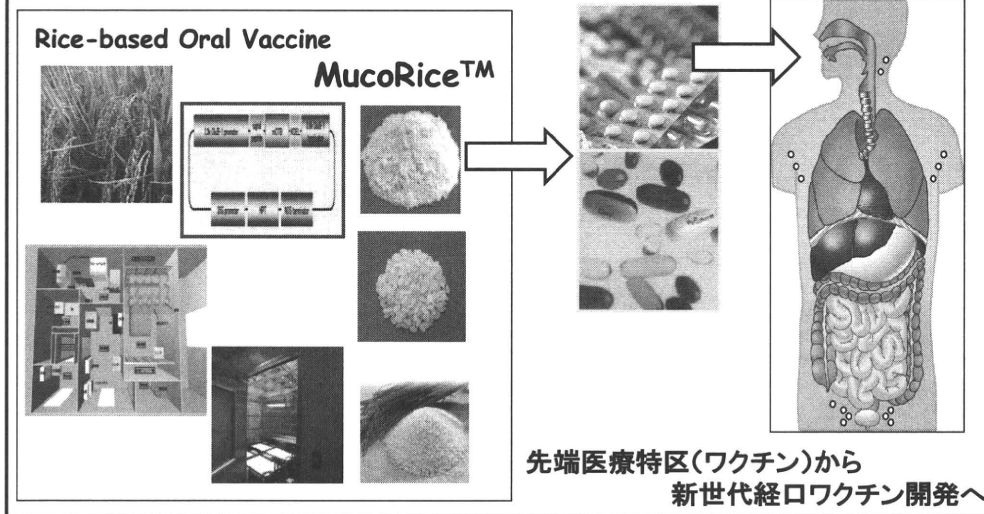
点眼ワクチン



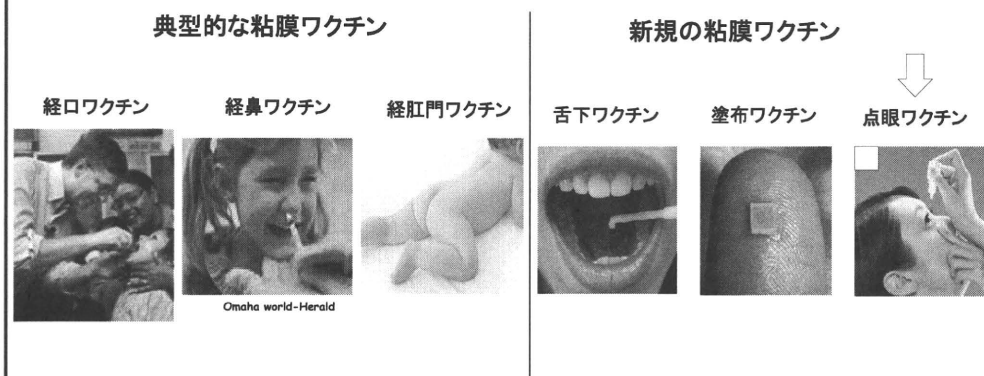
抗原特異的粘膜免疫と全身免疫の両方を誘導出来る

病原体に対する二段構えの防御免疫

コメ型経口ワクチン(MucoRice)の研究開発
 食べるコメから
 ワクチンを生産、貯蔵そして経口投与体(医薬製剤)としてのコメへ



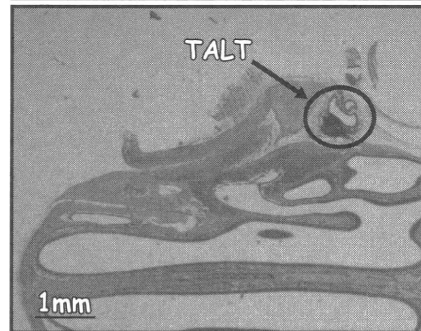
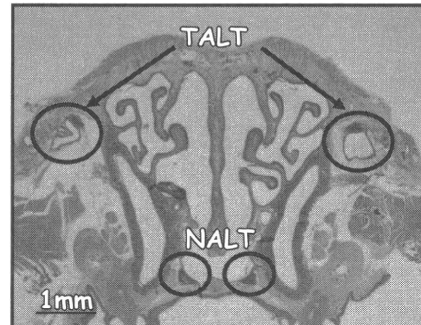
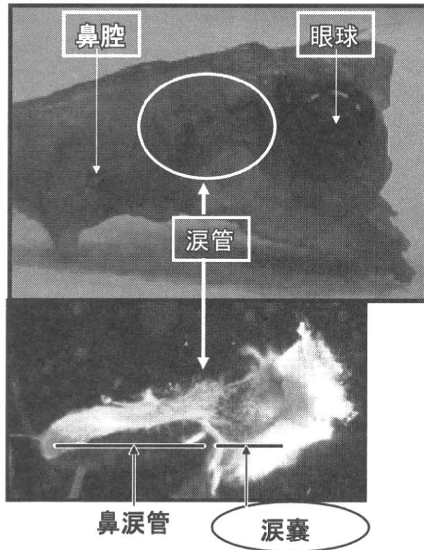
粘膜免疫機構の理解に立脚した注射器・注射針不要のワクチン開発へ



抗原特異的粘膜免疫と全身免疫の両方を誘導出来る

病原体に対する二段構えの防御免疫

涙管関連リンパ組織の同定
(Tear Duct-associated Lymphoid Tissue :TALT)

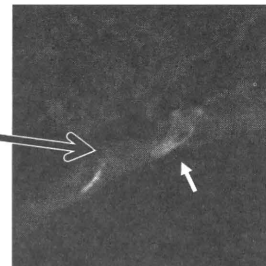
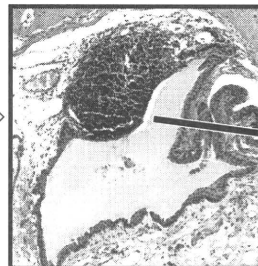
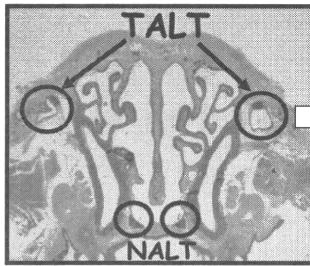


TMP-IMSUT

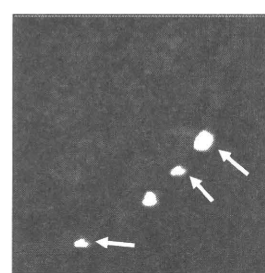
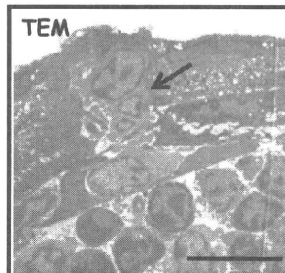
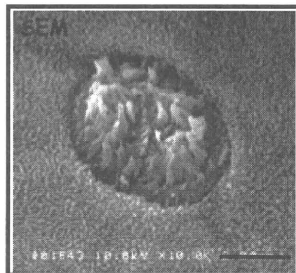
J. Exp. Med. 206: 2351-64, 2009

涙管関連リンパ組織(TALT)におけるM細胞の存在

NKM16-2-4 UEA-1



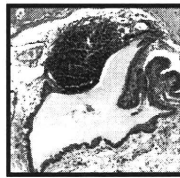
TALT-FAEに存在するM細胞と抗原の取り込み



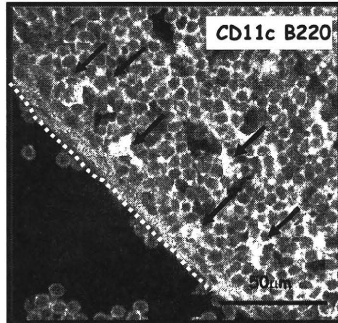
IMSUT-TMP

J. Exp. Med. 206: 2351-64, 2009

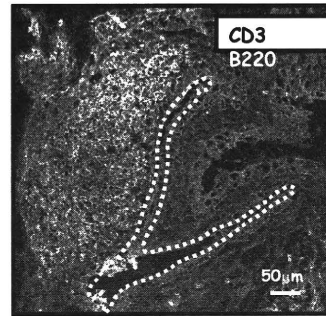
粘膜免疫誘導組織としてのTALT:免疫担当細胞の集積



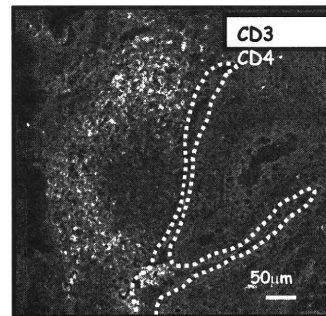
CD11c⁺ DC
(上皮細胞層直下)



二次リンパ組織としての微細構造



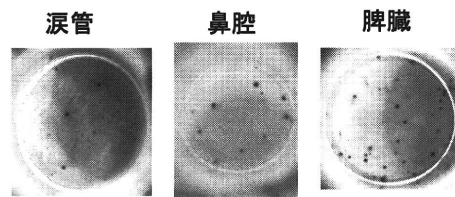
B細胞
領域



T細胞
領域

IMSUT-TMP

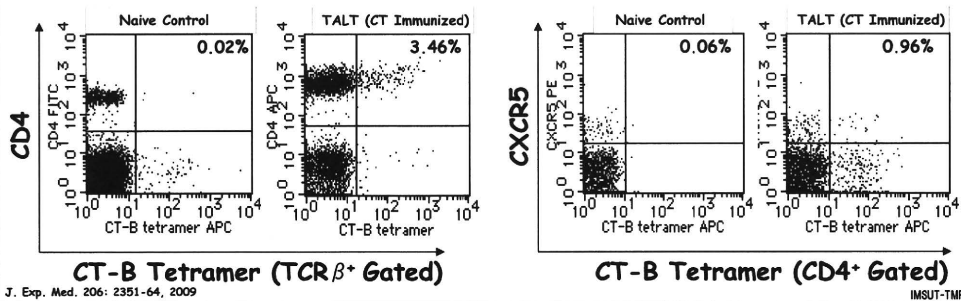
点眼免疫による抗原特異的IgA⁺B細胞とTh細胞免疫応答誘導



点眼免疫によりTALTとNALTを介して
抗原特異的免疫応答が
粘膜系(涙管・鼻腔)と
全身系(脾臓)に誘導される

CT特異的IgA産生細胞 CT特異的
IgG産生細胞

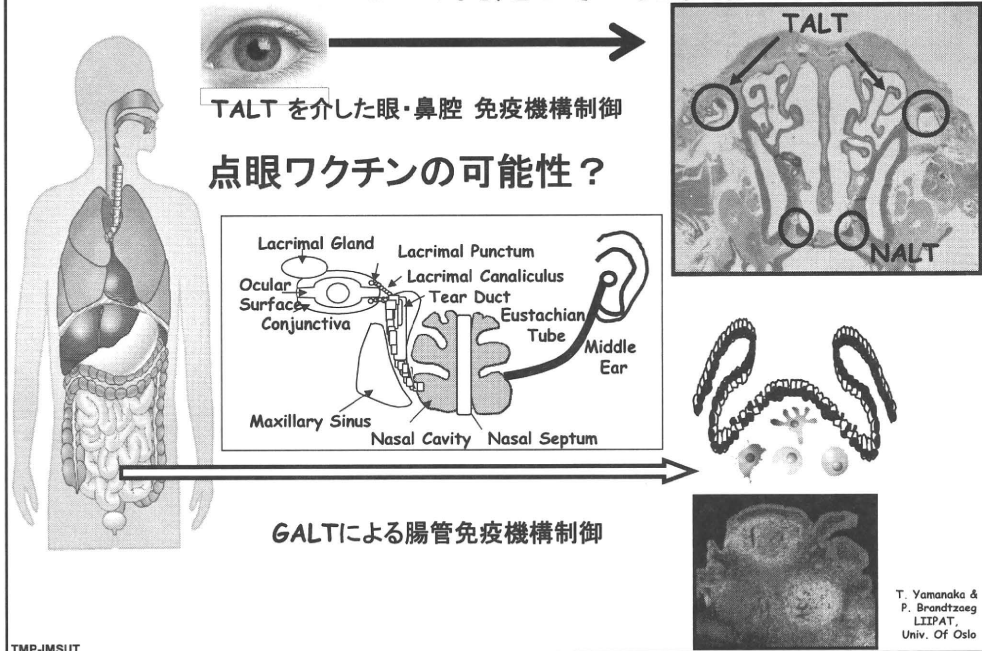
CT-B特異的CD4⁺T細胞の誘導



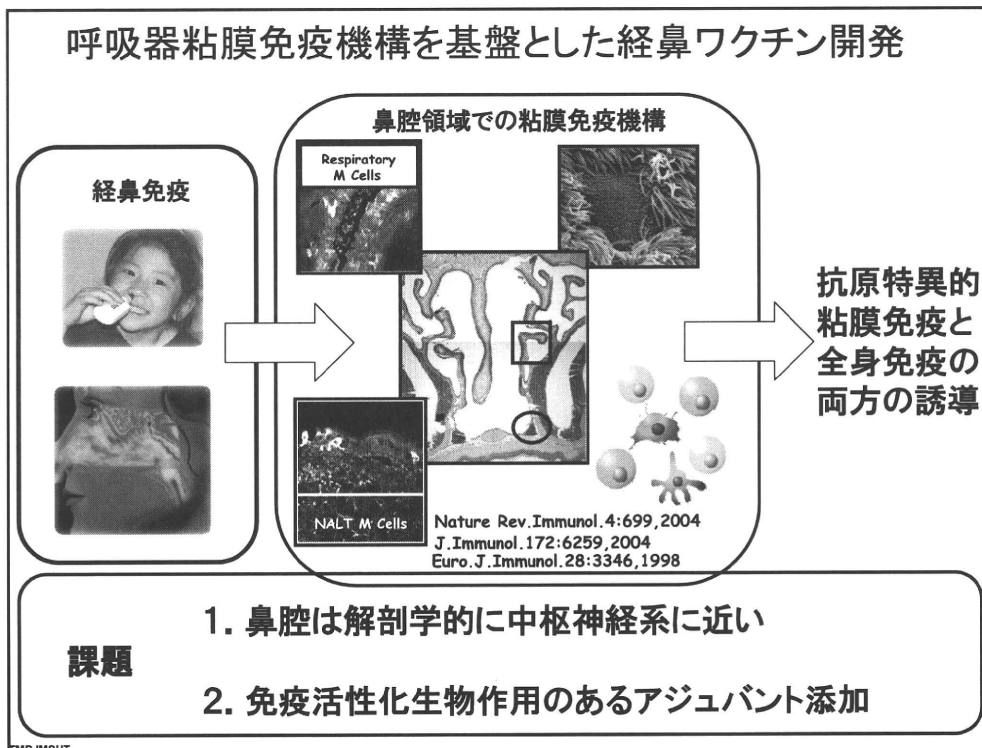
J. Exp. Med. 206: 2351-64, 2009

IMSUT-TMP

頭部顎顔面粘膜免疫機構としての TALTの同定とその免疫学的位置付け



呼吸器粘膜免疫機構を基盤とした経鼻ワクチン開発



疎水化高分子を応用したシャペロン型ナノゲル粘膜ワクチンの開発

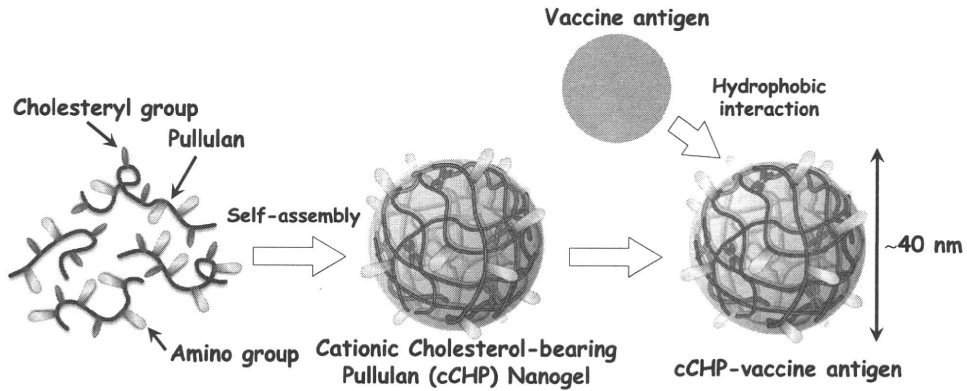
負・Anion(-)



ワクチン抗原を一定期間粘膜面から恒常的に提示出来ないか？



東京医科歯科大学
秋吉一成教授

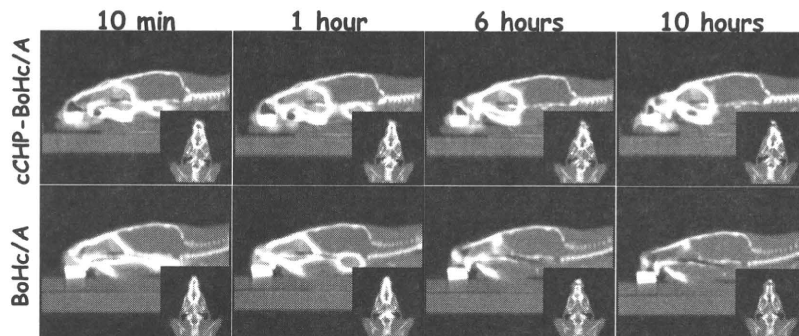
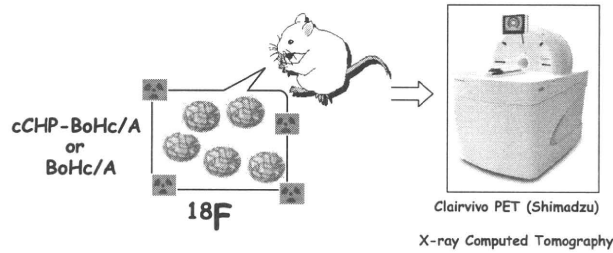


プルラン(グルコースからなる多糖類)に疎水性のコレステロールとカチオン性官能基付加

TMP-IMSUT

Nature Materials, 9: 572-578, 2010

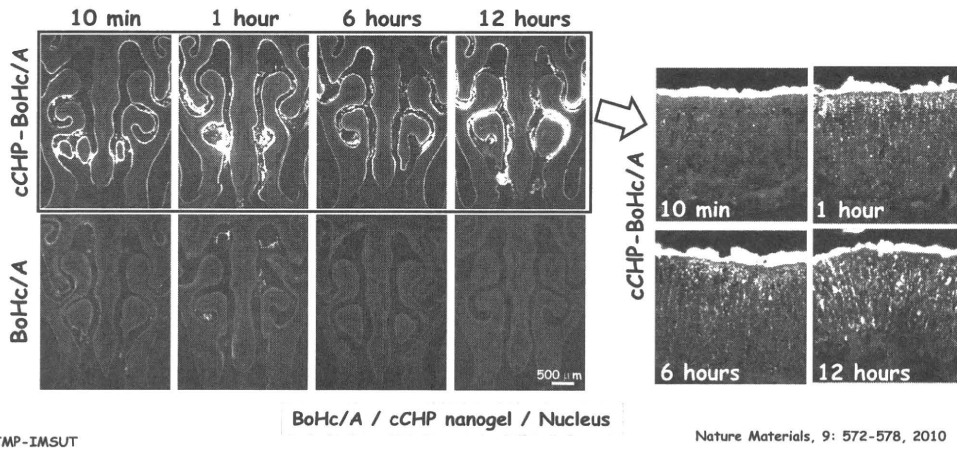
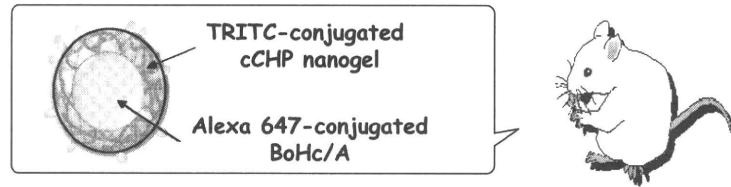
カチオン化CHP ナノゲル型経鼻ワクチンには鼻腔 粘膜面での抗原長時間付着効果がある



Collaboration with Hamamatsu Photonics K.K.

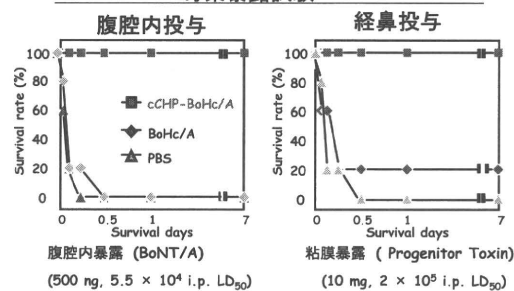
Nature Materials, 9: 572-578, 2010

カチオン化CHP ナノゲル型経鼻ワクチンには長期鼻腔 粘膜 附着性だけではなく抗原送達・除法効果もある



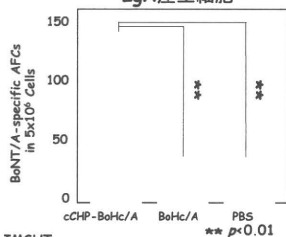
カチオン化CHP ナノゲル型経鼻ワクチンは粘膜面と全身系両方にボツリヌス菌毒素に対する防御免疫を誘導する

毒素暴露試験



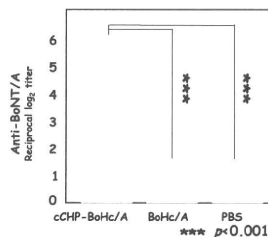
ELISPOT

鼻腔での毒素特異的 IgA 産生細胞

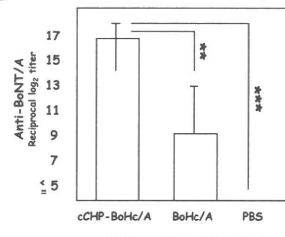


ELISA

鼻腔分泌液中毒素特異的 IgA



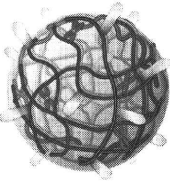
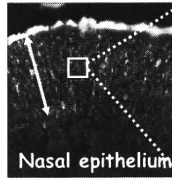
血清中毒素特異的 IgG



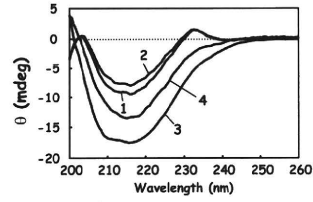
TMP-IMSUT

Nature Materials, 9: 572-578, 2010

カチオン化CHP ナノゲルが人工的シャペロンとして
粘膜系樹状細胞に抗原を効果的に引き渡す

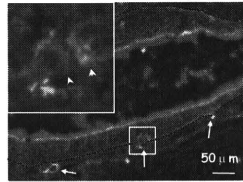


Circular Dichroism Analysis

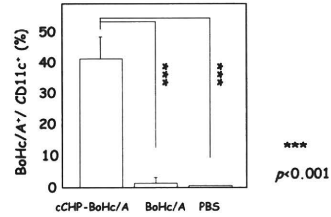


- 1: Native BoHc/A
- 2: BoHc/A heated for 5 h at 45 C
- 3: BoHc/A incorporated cCHP nanogel
- 4: BoHc/A released from cCHP-BoHc/A (Methyl-β-cyclodextrin)

ワクチン抗原の
自然体形状放出



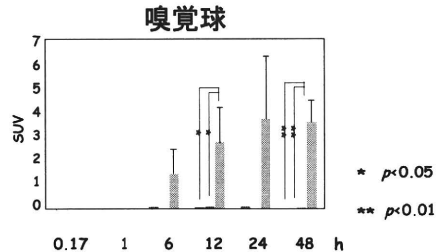
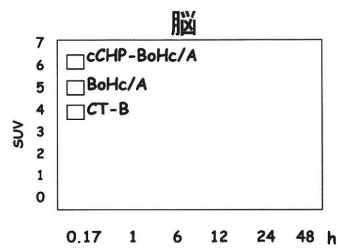
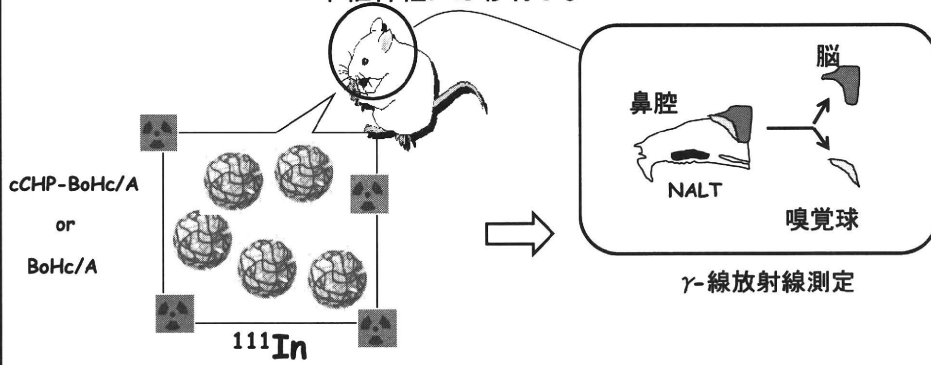
CD11c / cCHP nanogel / BoHc/A



TMP-IMSUT

Nature Materials, 9: 572-578, 2010

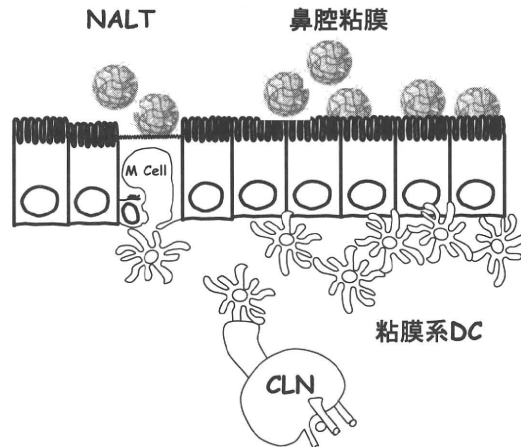
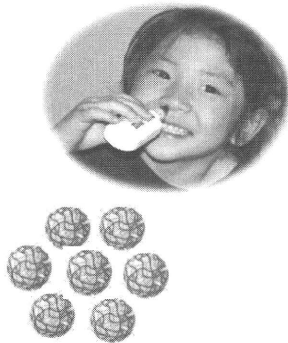
カチオン化CHP ナノゲルにより経鼻投与されたワクチン抗原は
中枢神経には移行しない



TMP-IMSUT

Nature Materials, 9: 572-578, 2010

粘膜シャペロン型ワクチンとしてのカチオン化CHP ナノゲル

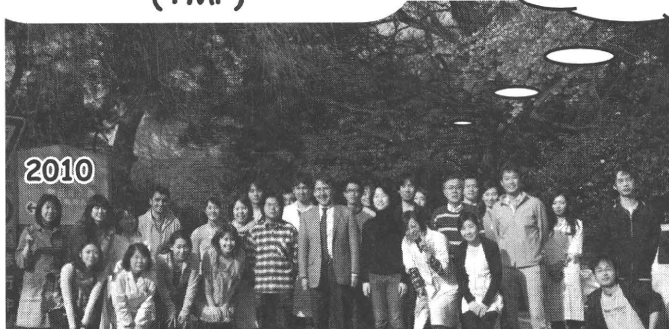


粘膜系と全身系両方への抗原特異的免疫誘導

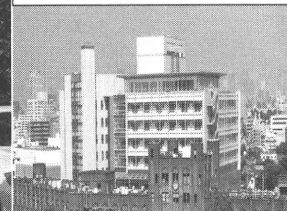
- 長時間付着性
- 抗原自然体形状放出
- 人工シャペロン
- 中枢神経系への抗原移行と付着なし

Tokyo Mucosal Patches (TMP)

Mucosal Immunology
Fascinating World of Immunity!!



The Institute of Medical Science
The University of Tokyo
(IMSUT)



Dong-Young Kim

Yoshikazu Yuki

Kazunari Akiyoshi

Hideo Tsukada

Ayuko Sato

Tomonori Nochi

Haruko Takahashi

Nobuhiro Harada

Satoshi Fukuyama

Daisuke Tokuhara

Shin-ichi Sawada

Shunji Kozaki

Takahiro Nagatake

Mio Mejima

Tomoko Kohda

Il Gyu Kong

Shiho Kurokawa

Yuko Takahashi

Jun Kunisawa

Shintaro Sato

Understanding of Mucosal Immunity for Vaccine Development

ワクチンフォーラム2010

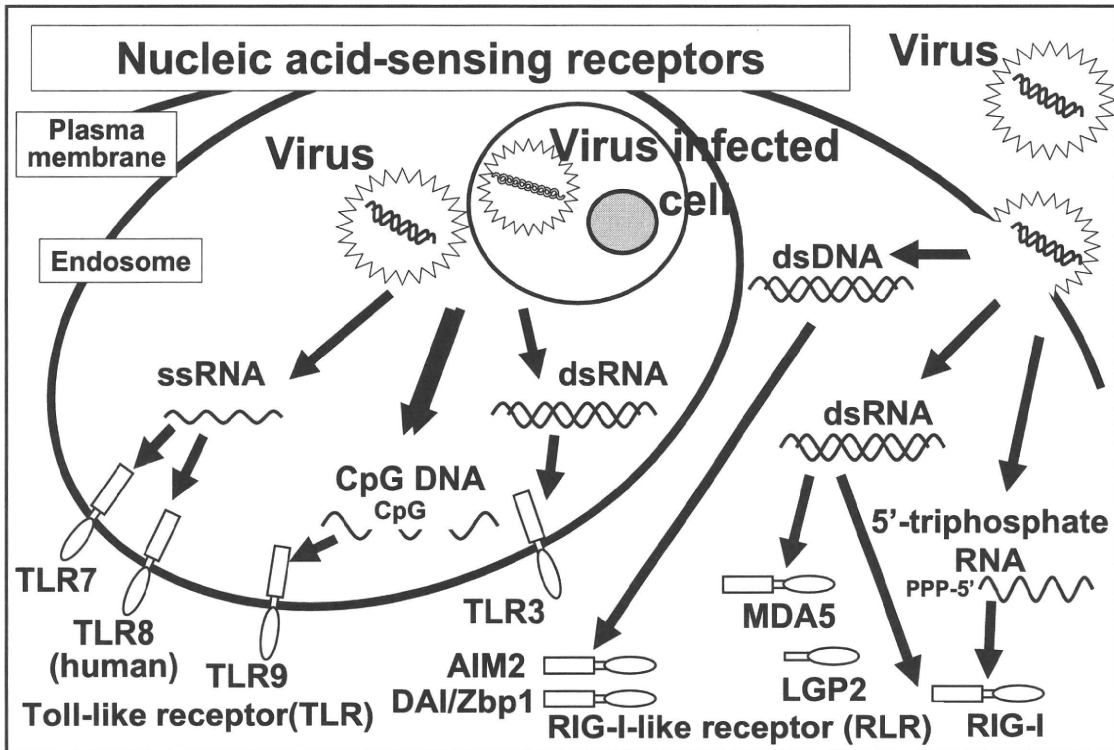
September 14, 2010

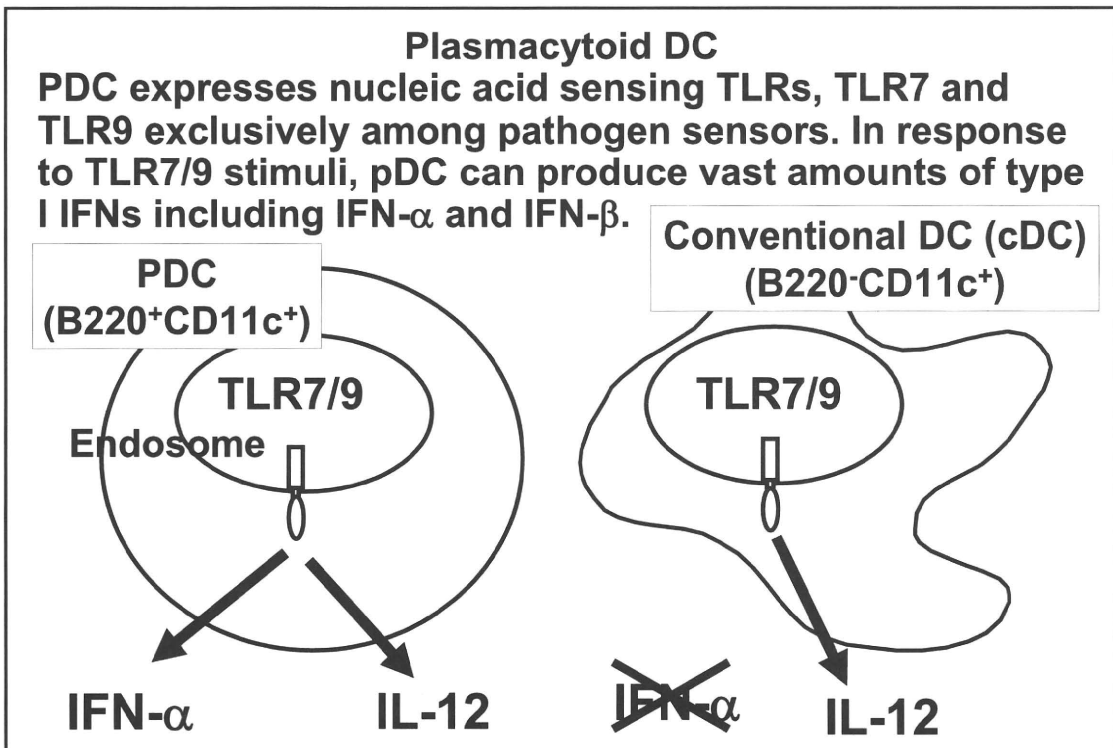
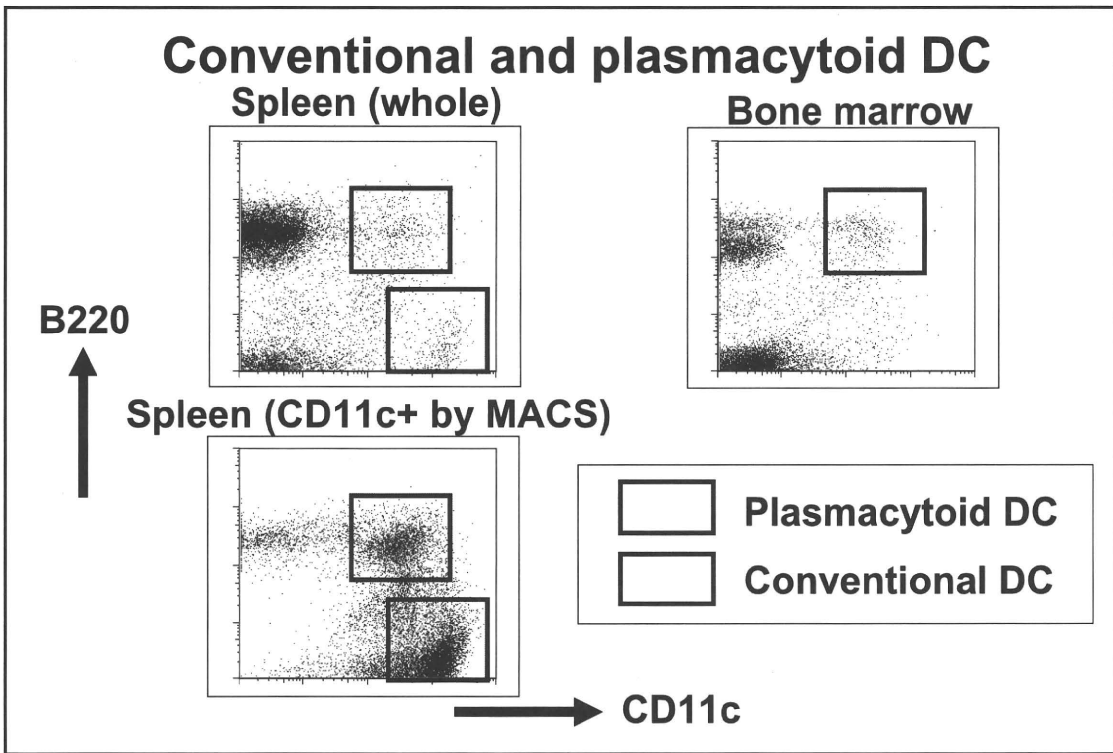
核酸アジュバントによる 樹状細胞活性化の分子メカニズム

理研 免疫・アレルギー科学総合研究センター
生体防御研究チーム

改正 恒康

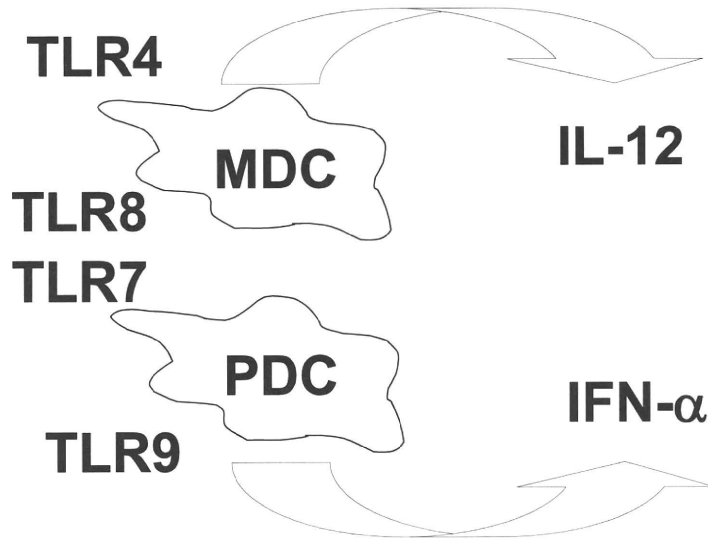
Homepage: <http://www.riken.jp/hosdef/index.html>



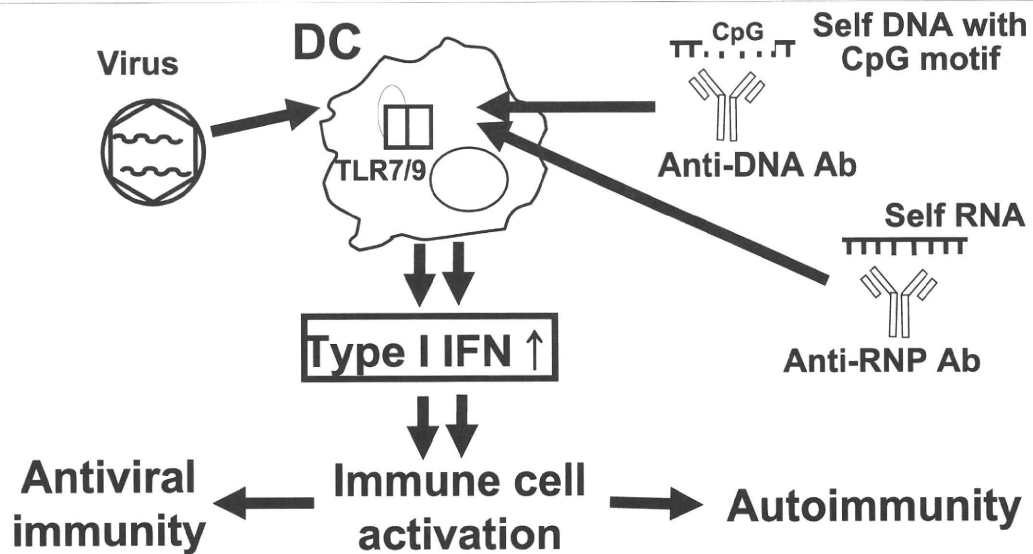


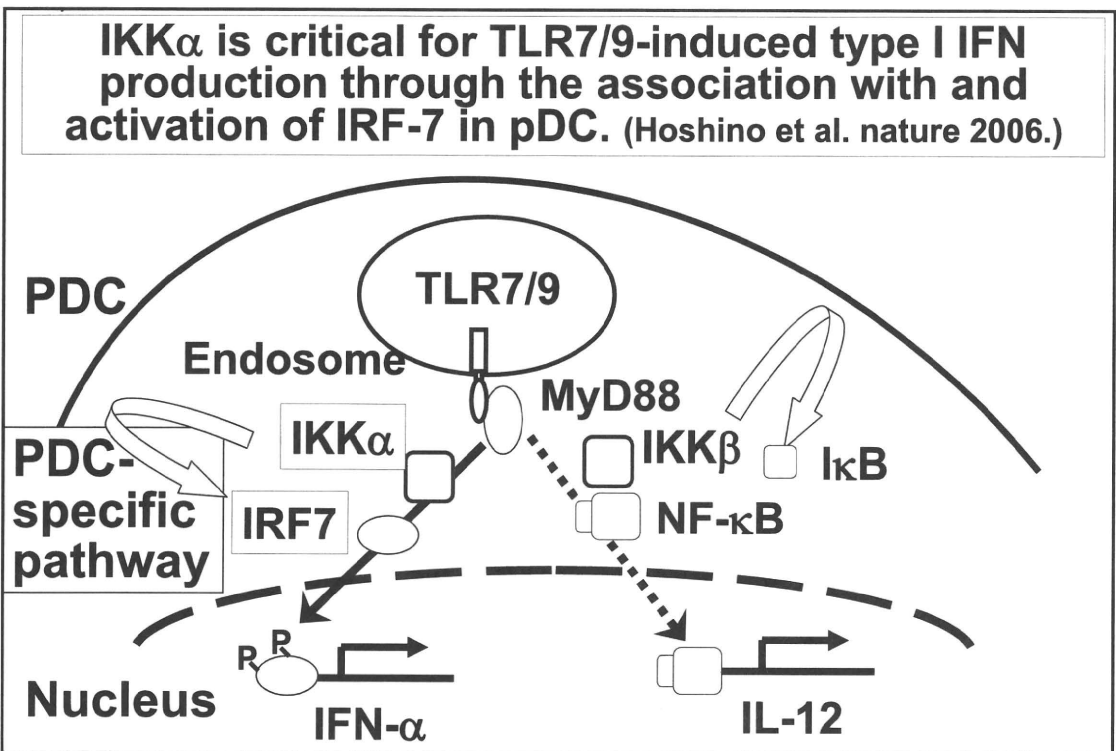
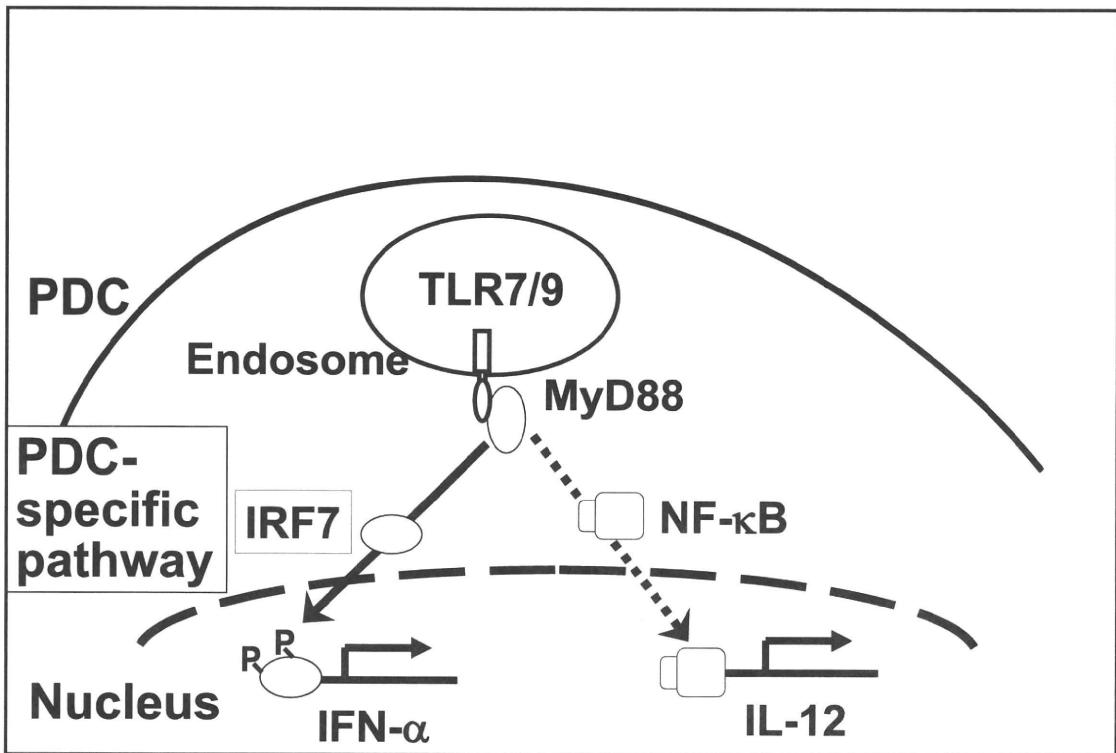
In human

Human DC subsets



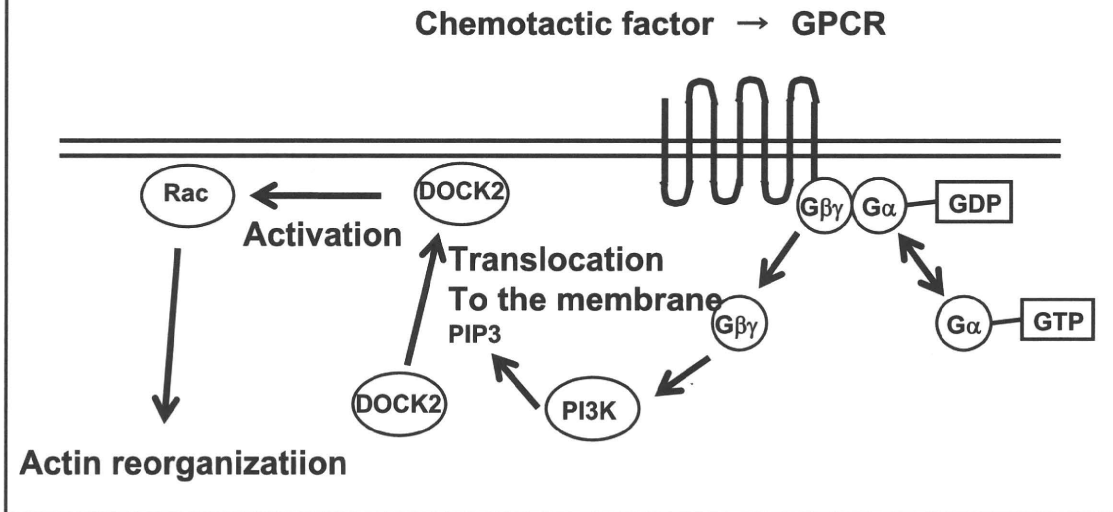
Type I IFN induction through TLR7/9 signaling is critical not only for antiviral immunity but also for pathogenesis of autoimmune diseases.





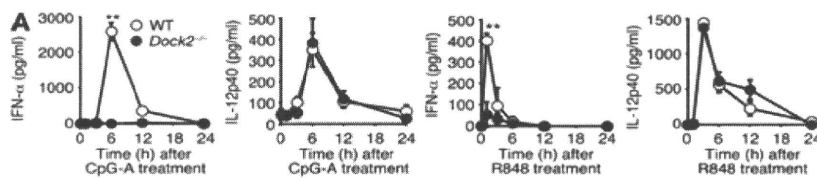
DOCK2

The Rac activating molecule at the downstream of neutrophil GPCR

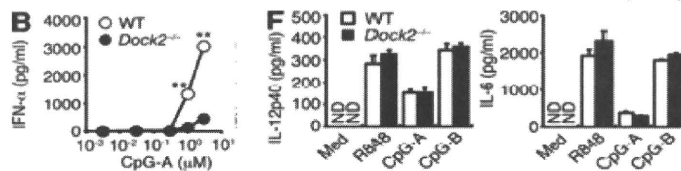


DOCK2 is required for TLR7/9-mediated type I IFN induction in pDC

Serum cytokine level after injection of TLR7/9 agonists



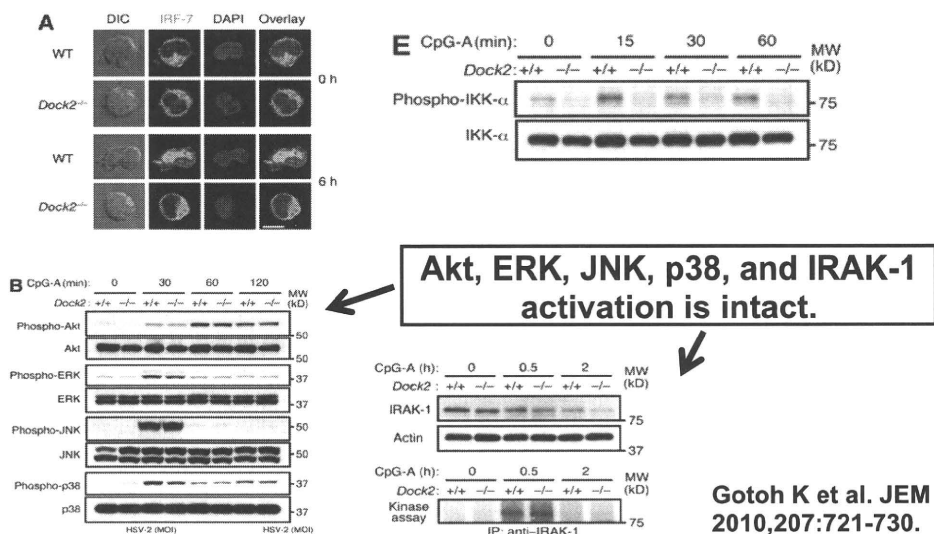
Cytokine production from TLR7/9-stimulated pDC



Gotoh K et al. J Exp Med 2010,207:721-730.

DOCK2-mediated Rac activation is critical for IKK α activation in pDCs.

Impairment of IRF-7 nuclear translocation and IKK α phosphorylation induced by TLR9 stimuli



DOCK2 regulates TLR7/9-induced IRF-7 activation through IKK α

