

Title	感染症予防対策に資する画期的経皮免疫製剤（貼るワクチン）の基盤技術開発および臨床研究
Author(s)	松尾, 一彦
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58578
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

していることを薬理的に検証した。また、NOの関与している病態モデルとして、MPTP誘発パーキンソン病モデルマウスを採り上げ、ROS産生、NO産生、MAPKのリン酸化、ドパミン神経障害、行動異常の面からNCXの関与について検討し、NCXがin vivoでのNO関連神経障害に関わっていることを初めて示した。

これらの結果は、パーキンソン病の病態発現にNCXが関わっていることを初めて明らかにしたもので、神経系におけるNCXの新たな創薬的意義を示したものである。NO-NCX相互作用をin vitro、in vivoで追究した本研究成果は、今後の創薬研究に貢献することが期待され、博士（薬学）の学位授与に充分値するものと考えられる。

【14】

氏名	まつお かず ひこ 松 尾 一 彦
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 2 4 5 2 1 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	感染症予防対策に資する画期的経皮免疫製剤(貼るワクチン)の基盤技術 開発および臨床研究
論文審査委員	(主査) 教授 中川 晋作 (副査) 教授 八木 清仁 教授 藤尾 慈 教授 辻川 和丈

論文内容の要旨

新興・再興感染症の世界的流行が危惧される今日、唯一の根本的予防手段であるワクチンの重要性が再認識されるようになった。しかし現在実用化されているワクチンの大半は注射による免疫法である。注射は、痛みを伴う、接種に医療技術者を必要とする、輸送や保管に一貫した冷蔵管理を必要とする、などの技術的・経済的な問題点を有しており、これらの点がワクチンを最も必要としている開発途上国にワクチンを浸透させにくい原因となっている。また注射型ワクチンではパンデミック発生時に大規模なワクチン接種を迅速に行えないことも欠点として挙げられる。したがって、注射投与に代わる効果的かつ簡便、安価、低侵襲な新規ワクチン手法の開発ならびに実用化が開発途上国をはじめとする世界各国で待望されている。そこで申請者は、まさに皮膚に貼るだけという簡便な方法で免疫応答を誘導しうる経皮免疫製剤(貼るワクチン)の開発を推進した。

貼るワクチンの標的組織である皮膚には抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞(LC)をはじめ様々な免疫担当細胞が豊富に存在している。なかでも、LCは皮膚免疫を惹起する司令塔としての役割を果たしているため、ワクチン抗原をLCに送達することさえできれば、高いワクチン効果が期待できる。しかし、皮膚の最外層を構成している角質層は物質透過の最大のバリアとして機能しているため、単に抗原を皮膚表面に塗布するだけでは、LCへの抗原送達とは極めて困難である。したが

って、貼るワクチンの開発においては、抗原をLCへと送達しうるDDS技術の開発が必要不可欠となる。

このような観点から、著者は親水性ゲルパッチならびに生分解性マイクロニードルという2種類の新規経皮ワクチンデバイスを利用した経皮免疫製剤の開発を試みた。親水性ゲルパッチはアクリル酸エステル系粘着基材をベースとしたシート状のデバイスであり、抗原の角質層透過を促進させるために湿潤剤や吸収促進剤を配合している。一方、生分解性マイクロニードルはマイクロメートルサイズの微小針を0.8 cm²あたり200本有しており、生体適合性に優れたヒアルロン酸を主成分とする。

まず、抗原含有親水性ゲルパッチを角質層の存在する皮膚に貼付すると、抗原は角質層を透過し、その一部はLCに捕食されることが明らかとなった。また抗原を取り込んだLCは免疫誘導の場である所属リンパ節へと遊走することが判明した。そこで、親水性ゲルパッチを応用した経皮免疫製剤の安全性および有効性について検証したところ、破傷風トキソイド/ジフテリアトキソイド含有親水性ゲルパッチ貼付した動物においては、適用皮膚局所および全身性に重篤な副反応を示すことなく、注射免疫群と同等の免疫応答が誘導されることが明らかとなった。さらに親水性ゲルパッチによる抗原の角質層透過促進効果について解析したところ、親水性ゲルパッチの貼付により角質層が水和・膨潤し、角質細胞間隙の構造が緩むことで、水溶性抗原が透過しやすくなると考えられた。また本パッチを適用することで、皮膚表面上に抗原濃度勾配が現出、維持されており、これが物質透過の駆動力となることで抗原の角質層透過がより促進されるものと推察できた。これらの基礎・前臨床研究の成果に基づき、本経皮免疫製剤のヒトにおける安全性および有効性を検証する臨床研究を実施した。破傷風トキソイド/ジフテリアトキソイド経皮免疫製剤を健康成人の上腕内側皮膚に貼付したところ、一部の被験者において適用皮膚局所に一時的な軽度の紅斑が認められたものの、重度の副反応を誘発することはなかった。また半数以上の被験者においてトキソイド特異的な抗体価の上昇が認められ、親水性ゲルパッチを応用した経皮免疫製剤のヒトにおける有効性が実証された。今後経皮免疫用アジュバントの開発研究を融合することで抗原量や免疫回数の削減が達成できれば、本経皮免疫製剤の実用化への道が大きく前進するものと考えられる。

親水性ゲルパッチは水溶性抗原の角質層への分配ならびにそれに続く単純拡散を促進することによって抗原の角質層透過を達成することから、水に不溶性の分子あるいは懸濁された粒子状物質への適用は困難である。一方生分解性マイクロニードルは、微小針が角質層を物理的に突破することにより粒子状抗原をもLCへと送達できると考えられる。また従来までのマイクロニードルは金属製の針が皮膚内に折れ残り、重篤な組織傷害を引き起こす危険性があったが、生分解性マイクロニードルは針成分であるヒアルロン酸が皮膚内の水分を吸収することによって溶解するために、安全に内包した抗原を経皮送達できると期待された。実際に、抗原封入生分解性マイクロニードルを貼付すると、針は皮膚内で溶解しており、内包物質の形状が可溶性分子、不溶性粒子に拘わらず、LCが存在する生きた表皮、さらにはその下の真皮へと送達できることが示された。また皮膚に対する局所反応を評価したところ、剥離直後には一時的な軽度の紅斑が認められたが、すぐに元の状態に回復することが判明した。したがって、生分解性マイクロニードルは従来マイクロニードルの問題点を一挙に克服したデバイスとして非常に有望であると考えられた。そこで次に、粒子状抗原である季節性インフルエンザHA抗原を封入した生分解性マイクロニードルを製し、その有効性を評価した。本製剤を貼付した動物において抗HA IgG抗体価の上昇が認められ、その効果はアジュバントを併用した注射免疫群ならびに経鼻免疫群に匹敵した。さらに本手法は破傷風トキソイド/ジフテリアトキソイドやマラリアSE36などの可溶性抗原に対しても免疫応答を誘導できることを明らかとしている。マイクロニードルは未だ実用例のない新規剤形であるために、承認申請に関するガイドラインの策定や評価基準についての議論が待たれるところではあるが、著者らは現在、生分解性マイクロニードルを応用した経皮免疫製剤の臨床応用の実現を図るべく、ヒトにおける安全性および有効性の検証を推進している。

以上本博士論文では、親水性ゲルパッチならびに生分解性マイクロニードルを応用した経皮免疫製剤(貼るワクチン)が抗原特異的な免疫応答を強力に惹起できることを明らかとした。また、健康成人を対象とした臨床研究において、親水性ゲルパッチを応用した貼るワクチンの安全性と有効性を実証することができた。これらの研究成果が、簡便性、安全性、有効性に優れた貼るワクチンの一日も早い実用化を達成し、世界的なワクチンの普及ひいては感染症に対して安全・安心な社会の実現に貢献できることを期待する。

論文審査の結果の要旨

新興・再興感染症の世界的流行が危惧される今日、唯一の根本的予防手段であるワクチンの重要性が再認識されるようになった。しかし現在実用化されているワクチンの大半は注射による免疫法である。注射は、痛みを伴う、接種に医療技術者を必要とする、輸送や保管に一貫した冷蔵管理を必要と

する、などの技術的・経済的な問題点を有しており、これらの点がワクチンを最も必要としている開発途上国にワクチンを浸透させにくい原因となっている。また注射型ワクチンではパンデミック発生時に大規模なワクチン接種を迅速に行えないことも欠点として挙げられる。したがって、注射投与に代わる効果的かつ簡便、安価、低侵襲な新規ワクチン手法の開発ならびに実用化が開発途上国をはじめとする世界各国で待望されている。本研究では、簡便性・安全性・普及性に優れた新規剤形ワクチンの開発を目的に、独自の経皮ワクチンデバイスを応用した経皮免疫製剤（貼るワクチン）の基礎研究・前臨床研究・臨床研究を実施し、以下の結論を得た。

1. 親水性ゲルパッチは抗原蛋白質の角質層透過を促進することで、LCによる効率的な抗原捕捉に基づく抗原特異的免疫応答の誘導を可能とした。また親水性ゲルパッチを用いた経皮免疫により誘導される免疫応答は注射免疫に比べるとTh2優勢であることが示唆された。
2. 親水性ゲルパッチによる抗原の角質層透過促進機構には、パッチ表面上における抗原濃縮層の形成、およびパッチ貼付による角質層の水和が主に関与することが示された。また適用蛋白質の一つのパラメーターが親水性ゲルパッチによる蛋白質の角質層への分配を規定するわけではなく、様々な物性パラメーターが複合的に関与していることが示唆された。
3. 生分解性マイクロニードルは微小針が角質層を物理的に突破することにより、内封した物質の形状が可溶性分子、不溶性粒子に拘わらず皮膚内へと送達できることを明らかとした。また生分解性マイクロニードルの微小針は皮膚内で溶解することが示され、適用した皮膚局所には重篤な刺激性が誘発されないことが判明した。さらに、生分解性マイクロニードルを応用した経皮免疫製剤は各種ワクチン抗原に対して強力な免疫応答を誘導できることが示された。
4. 親水性ゲルパッチを応用した経皮免疫製剤は、ヒトにおいても局所反応や全身性副反応を惹起することなく抗原特異的免疫応答を誘導できることを実証した。

本研究で示した親水性ゲルパッチならびに生分解性マイクロニードルを応用した経皮免疫製剤（貼るワクチン）は、従来までの注射に代わる新規剤形ワクチンとして簡便性・普及性・安全性に優れるものであり、いずれも臨床応用の一歩手前の段階にある。本研究成果は、世界初の貼るワクチンの実用化に向けた革新的な一歩を踏み出したものであり、ワクチン普及を協力を推進することで感染症に対して安心・安全な社会の実現に大いに貢献できるものであり、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものとする。