The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	皮膚を標的とする経皮免疫製剤を活用したワクチン・アレルゲン免疫療法の開発
Author(s)	伊藤, 沙耶美
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/76495
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　伊藤　沙耶美　　）	
論文題名	皮膚を標的とする経皮免疫製剤を活用したワクチン・アレルゲン免疫療法の開発

論文内容の要旨

皮膚は、生体を外界環境から隔離・保護し、生体の水分保持や体温調節、外来異物の侵入防御など生命維持に必要不可欠な機能を司っており、外側から角質層、生きた表皮、真皮の大きく3層に分けられる。最外の角質層は脱核した角質細胞が幾重にも重なり、細胞間隙をセラミドなどの角質細胞間脂質が埋めることで強固な物理的バリアを構築している。また角質層下の生きた表皮や真皮には、免疫学的バリアを構築するランゲルハンス細胞や真皮樹状細胞といった多種多彩な抗原提示細胞が存在しており、外来異物に対する生体防御機構において重要な役割を担っている。さらに、生きた表皮を構成する細胞の90%以上を占めるケラチノサイトは、異物の侵入を感知してサイトカイン・ケモカインなどの炎症メディエーターを産生し自然免疫応答の誘導に関わっている。しかしながら、従来の皮下注射投与によるワクチン接種やアレルゲン免疫療法は、これらの免疫担当細胞がほとんど存在しない皮下組織に抗原 (ワクチン・アレルゲン) が送達されるため、皮膚に備わっている免疫機構を十分に活かすことができない。そこで申請者の研究グループでは、これらの免疫担当細胞により形成される皮膚免疫システムを利用した経皮免疫製剤の開発に着手し、抗原を生きた表皮や真皮へと送達可能なデバイスとして自己溶解型マイクロニードル (sdMN) および親水性ゲルパッチ (HG) を考案・開発してきた。

これまでに申請者らは、sdMNを活用した経皮ワクチン製剤が、従来の注射型ワクチン製剤と比較して抗原特異的免疫応答の誘導に優れることを報告してきた。これは、皮膚表層に抗原を投与する経皮ワクチン製剤には注射型ワクチン製剤とは異なる特有の免疫応答誘導機序が存在することを想起させ、皮膚内に存在する多種多様な免疫担当細胞の連携が経皮ワクチン製剤による効率的な抗体産生誘導に寄与しているのではないかと推察された。そこで申請者は、経皮ワクチン製剤の有効性・安全性に対する理論的・科学的根拠を提示するべく経皮免疫誘導機序の解明に取り組み、経皮ワクチン製剤の実用化研究を加速する基礎情報の収集を試みた。sdMNを貼付した皮膚局所では、穿刺に伴う物理的な刺激によって炎症性サイトカインやAlarminの遺伝子発現レベルが顕著に増大しており、これに伴って皮膚常在性樹状細胞の所属リンパ節への遊走が亢進し、抗原特異的CD4陽性T細胞が強力に感作・活性化されることを明らかとした。さらに、sdMNによる経皮抗原送達は、皮下注射投与と比較して所属リンパ節における抗原特異的CD4陽性T細胞のメモリーT細胞への分化や胚中心形成を高めることも明らかとし、これら一連の免疫イベントによるB細胞の活性化および抗体産生細胞への分化の促進が経皮ワクチン製剤の優れた抗原特異的抗体産生につながったと結論付けた。

経皮ワクチン製剤の実用化に向けての課題は、ワクチンの用量および接種回数を抑えることによるコストの低減と、安定した免疫誘導能の保証である。申請者はこれらの問題を解決しうる方策として、経皮ワクチン製剤に免疫応答を増強・修飾できるアジュバントの適用を企図した。ワクチン製剤開発におけるアジュバントの併用は古くから重要視されており、本邦において承認されている注射型ワクチン製剤の大半にはアジュバントとしてアルミニウム塩 (Alum) が使用されている。しかしながら、Alumは不溶性であるため経皮免疫製剤への適用が難しく、アルミニウムの毒性や細胞障害性といった問題を抱えている。そこで、経皮アジュバント候補物質として自然免疫と獲得免疫のクロストークに重要なToll様受容体 (TLR) に対するリガンド分子に着目し、TLRリガンド併用による経皮免疫応答の増強効果ならびに免疫偏向性を精査した。経皮免疫製剤への適用に有望なアジュバントとして、Th1型免疫偏向性をもつK3 (CpG-ODN) を見出し、K3がB細胞に直接作用してその活性化・分化を促すことで経皮アジュバント効果を発揮する可能性を示した。さらに臨床研究において、K3装填sdMNがヒト皮膚に対して安全に適用できることを明らかとした。

また申請者は、皮膚を傷つけることなく微量の抗原を皮膚内に浸透させることのできるHGを活用し、小児食物アレルギーに対する新規経皮免疫療法 (EPIT) の開発にも着手した。小児食物アレルギーは日本をはじめとする先進国を中心に増加しており、未だ根本的な治療法は確立されていない。そのため患児およびその家族は、誤食によるアナフィラキシー誘発の危険を常に抱えており多大な疾病負担を強いられる。食物アレルギーの治療の基本は的

確な診断に基づく最小限の原因食品の除去と誘発症状に対する抗ヒスタミン剤や副腎皮質ホルモン剤を用いた対症療法であるが、アレルギー疾患における唯一の根治療法である免疫療法が食物アレルギーに対しても積極的に導入されるようになってきた。しかし、現行の免疫療法はアレルゲンを皮下注射法により頻回投与するものであり、注射針による疼痛があること、定期的な通院が3～5年間必要なこと、頻度は低いもののアナフィラキシーショックなどの重篤な副作用の危険性があることから患者側、医療側の双方にとって容易に施行できる治療法とは言いがたい。このような現状から、患者負担が少なく済み、高い安全性と治療効果を兼ね備えた新規免疫療法の開発研究に対する期待は大きい。本研究ではマウスモデル実験において、アレルゲン装填HGを用いたEPITが特異的IgG抗体(アレルゲン中和抗体) の産生を誘導し、従来の皮下注射免疫と比較して特異的IgE抗体 (アレルギー誘発抗体) の産生を低減できることを示した。これらの前臨床結果に基づいて、重度の牛乳アレルギー患児を対象とした探索的臨床研究を実施したところ、牛乳アレルゲン装填HGを適用した被験者8例のうち4例で症状誘発閾値が顕著に上昇し、経口免疫療法への移行を可能とした。また、奏効した患児においては血中特異的IgE抗体価の減少傾向と血中特異的IgG4抗体価の上昇傾向も観察され、HGを応用したEPITがアナフィラキシーショックなど重篤な副作用を誘発することなく、食物アレルギーに対する簡便な根治療法の確立に貢献できる治療戦略であることを実証した。

本研究における申請者ら独自のsdMNを応用した経皮ワクチン製剤は、ワクチン接種を簡便、安全、安価にすることでワクチンの世界的普及を強力に推進し、乳幼児のワクチン接種の負担を大きく軽減できるのみならず、感染症地域への渡航者に対する事前予防ワクチンの接種、開発途上国へのワクチン普及など、感染症に対して安全・安心な社会の実現に大きく貢献できるものと考える。本研究の成果が、近い将来、世界初、日本発の理想的なワクチン製剤の上市という形で予防医療の一翼を担うことを期待したい。また、HGを応用した経皮免疫製剤を実用化することができれば、アレルゲン特異的免疫療法の簡便化による在宅治療の実現と服薬アドヒアランスの向上はもちろんのこと、皮膚を標的とする新たな免疫療法開発理論の開拓などアレルギー学全体への理論・技術貢献にもつながると確信している。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（伊藤　沙耶美）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	岡田　直貴
	副 査	教授	藤尾　慈
	副 査	教授	齊藤　達哉
	副 査	教授	近藤　昌夫

論文審査の結果の要旨

本論文は、皮膚に貼付するだけでワクチン接種あるいはアレルゲン特異的免疫療法を実施できる経皮免疫製剤の開発を取り扱ったもので、以下の成果が得られている。

① 申請者は、自己溶解型マイクロニードル（sdMN）を用いた経皮ワクチン製剤の免疫応答誘導機序の解明に取り組み、sdMNを貼付した皮膚局所では穿刺に伴う物理的な刺激によって炎症性サイトカインやAlarminの遺伝子発現レベルが顕著に増大し、皮膚常在性抗原提示細胞の所属リンパ節への遊走が亢進することを明らかにした。またsdMNによる経皮抗原送達は、所属リンパ節における抗原特異的CD4陽性T細胞を強力に感作・活性化することでメモリーT細胞への分化や胚中心形成を亢進することを明らかとし、これら一連の免疫イベントによるB細胞の活性化および抗体産生細胞への分化の促進が経皮ワクチン製剤の優れた抗原特異的抗体産生につながるものと結論付けた。

② 申請者は、経皮ワクチン製剤の免疫応答を増強・修飾できるアジュバントの探索を企図し、Toll様受容体（TLR）9のリガンドであるK3（CpG-ODN）の併用が経皮ワクチン製剤の抗原特異的抗体産生を増強し、免疫応答をTh1型に偏向させることを見出した。また、経皮投与されたK3が所属リンパ節のB細胞に直接作用して活性化・分化を促すこと、さらには臨床研究においてK3装填sdMNがヒトに対して安全に適用できることを明らかにした。

③ 申請者は、親水性ゲルパッチ（HG）を用いた新規経皮アレルゲン特異的免疫療法（EPIT）の開発を推進し、マウスモデル実験において、アレルゲン装填HGを用いたEPITが特異的IgG抗体（アレルゲン中和抗体）の産生を誘導し、従来の皮下注射法と比較して特異的IgE抗体（アレルギー誘発抗体）の産生を低減できることを明らかにした。また、重症牛乳アレルギー患児を対象とした探索的臨床研究において、牛乳アレルゲン装填HGを用いたEPITが重篤な副作用を誘発することなく8名中4名の被験者に奏効し、経口免疫療法への移行に有用な手段であることを実証した。

以上の研究成果は、ワクチン接種を簡便、安全、安価にする経皮ワクチン製剤の開発ならびに患者負担が少なく済み高い安全性と治療効果を兼ね備えた新規EPITの開発に多大な貢献を成す貴重な基礎情報であり、学術的・産業的な発展に寄与するところが大である。また、申請者が自立して研究活動を行うに十分な能力と学識を有することを証したものであり、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。