

Banyu Foundation Research Grant 2014—女性研究者支援—

研究成果報告書(公表用) <概要>

所 属	大阪大学大学院薬学研究科薬剤学分野
氏 名	廣部 祥子
研究テーマ	乳幼児に対する経皮インフルエンザワクチンの開発

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

【研究目的】

インフルエンザ感染症は全世界へ社会的・経済的に大きな影響を与える感染症である。本邦で用いられている不活化スプリットワクチンは免疫が成立していないヒトに免疫記憶細胞と免疫実行細胞を誘導する免疫プライミング能が低いために、免疫力が弱く、インフルエンザ感染の既往のない乳幼児へのワクチン効果は低いことが知られている。本研究課題では、皮膚への抗原送達を目的としたデバイス(マイクロニードル; MN)を用いた経皮ワクチンシステムの経皮免疫誘導機構を詳細に解析し、乳幼児に対する安全かつ有効な経皮インフルエンザワクチンの開発を目指した。

【研究手法】

乳幼児に対する経皮インフルエンザワクチンが達成すべき有効性の課題を克服するために、Toll 様受容体のリガンド (TLR-L) を候補物質としてアジュバントスクリーニングを実施した。オボアルブミン (OVA) と TLR-L を併用投与し、OVA 特異的 IgG・IgE 抗体価を測定した。次に、経皮免疫応答誘導機構の解明に向けて、フローサイトメトリー解析によって、OVA 装填 MN の貼付による皮膚常在性樹状細胞 (DC) (Langerhans 細胞, CD207⁺ 真皮 DC, CD207⁻ 真皮 DC) および LN に存在する DC (CD8α⁺ DC, plasmacytoid DC) の抗原補足率を評価した。また、優れた免疫応答の誘導には、T 細胞の分裂増殖・活性化が必要である。そこで、OT-II マウス由来 CD4 陽性 T 細胞を野生型マウスに移入した後、経皮免疫によるこれら移入 OVA 特異的 T 細胞の増殖ならびに活性化マーカー発現変化をフローサイトメトリーにより解析した。

【研究成果】

アジュバントスクリーニングにおいて、K3 併用群が抗原単独群と比較して、初回免疫から抗体価の上昇が認められ、2・3 回目の免疫後には高い抗体価を示した。また、OVA 単独群では IgG1 抗体のみが検出されたことから Th2 型免疫応答が誘導されているのに対し、K3 併用群では IgG2c 抗体価が検出されており、Th1 偏向性が確認された。さらに、K3 併用群において IgE 抗体価の顕著な産生は認められず、K3 は経皮免疫に適した安全性・有効性に優れたアジュバント物質であることが判明した。

経皮免疫では、皮下注射免疫よりも各 DC サブセット、特に皮膚常在性 DC サブセットによる抗原取り込みが多く、MN を用いた経皮免疫に皮膚常在性 DC が大きく寄与することが示唆された。さらに、免疫に伴う OVA 特異的 CD4 陽性 T 細胞 (移入 OT-II 細胞) の分裂頻度は、皮下注射免疫群と比較して経皮免疫群で高く、経皮投与により皮膚に送達された抗原は、皮下に投与された抗原よりも CD4 陽性 T 細胞に効率よく提示 (MHC class II 介在性) される可能性が示唆された。また、経皮免疫後の OT-II 細胞では、CD44 (T 細胞活性化マーカー) 高発現分画の割合が皮下注射免疫後の OT-II 細胞よりも高値を示し、分裂増殖した T 細胞が活性化していることが確認された。以上のように、MN を用いた経皮免疫が従来の皮下注射免疫と異なる機構により、免疫応答を誘導することを明らかにしつつある。今後、より詳細に解析を進め、経皮免疫の安全性ならびに有効性の理論的根拠を明らかにするとともに、本成果を経皮免疫に適したデバイスやアジュバントの開発につなげていきたいと考えている。

本成果は研究全体を見渡すと未だ一部を明らかにしただけではあるが、今後さらに経皮免疫応答誘導機構に関する基礎研究とヒトに対して MN を適用する臨床研究の両方を強力に推進することで、乳幼児に対する安全性・有効性に優れたインフルエンザ経皮ワクチンの開発を目指していく予定である。

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2016年 12月5-7日	第45回日本免疫学会学術集会 Sayami Ito, Honoka Takeuchi, Sachiko Hirobe, Masashi Tachibana, Shinsaku Nakagawa, Naoki Okada
2	2016年 12月5-7日	第45回日本免疫学会学術集会 Ryosuke Eguchi, Sachiko Hirobe, Masashi Tachibana, Shinsaku Nakagawa, Naoki Okada
3	2016年 10月22-23日	第20回日本ワクチン学会学術集会 江口涼介, 廣部祥子, 中川晋作, 岡田直貴 経皮ワクチン製剤の貼付に伴う皮膚常在性樹状細胞サブセットの所属リ
4	2016年6月30日	第32回日本DDS学会学術大会 伊藤沙耶美, 廣部祥子, 竹内ほのか, 中川晋作, 岡田直貴 経皮ワクチン製剤により誘導されるT細胞応答の解析
5	2016年6月30日	第32回日本DDS学会学術大会 江口涼介, 廣部祥子, 吉田淳哉, 小山田孝嘉, 中川晋作, 岡田直貴 経皮ワクチン製剤の貼付による抗原提示細胞サブセットのポピュレーション
6	2016年5月23-25日	The 4 th International Microneedle Conference Sachiko Hirobe Transcutaneous influenza vaccination using a dissolving microneedle patch
7	2016年 5月19-21日	日本薬剤学会 第31年会 伊藤沙耶美, 廣部祥子, 中川晋作, 岡田直貴 K3 (CpG-ODN) の経皮免疫製剤用アジュバントとしての特性解析
8	2016年3月28日	日本薬学会第136年会 廣部祥子, 小野彰彦, 権 英淑, 神山文男, 中川晋作, 岡田直貴 生体適合性材料を用いた新規ソリッドマイクロニードルパッチの開発
9	2016年3月28日	日本薬学会第136年会 江口涼介, 廣部祥子, 吉田淳哉, 小山田孝嘉, 中川晋作, 岡田直貴 経皮ワクチン製剤の貼付に伴う樹状細胞サブセットの遊走と局在
10	2016年3月28日	日本薬学会第136年会 伊藤沙耶美, 廣部祥子, 小野彰彦, 中川晋作, 岡田直貴 経皮免疫製剤に適用可能なアジュバント候補物質の探索
11	2015年11月14日	第19回日本ワクチン学会学術集会 廣部祥子, 竹内ほのか, 江口涼介, 須佐井亮, 岡田直貴, 中川晋作 経皮ワクチンおよび皮下注射ワクチンにおける免疫学的変化の比較
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2017年予定	Biochem. Biophys. Res. Commun.

2		
3		
4		