

Table 2 Local adverse events by application of MH800 loaded with influenza HA

		Erythema				Purpura		Pigmentation	
		Diameter (mm)		No. of positive subjects		No. of positive subjects		No. of positive subjects	
		TCI (n=19)	SCI (n=20)	TCI (n=19)	SCI (n=20)	TCI (n=19)	SCI (n=20)	TCI (n=19)	SCI (n=20)
1 st	Day 2	14.0 ± 4.8	12.2 ± 24.3	19 (100%)	5 (25%)	13 (68%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)
	Day 7	10.4 ± 4.9	1.0 ± 1.3	16 (84%)	8 (40%)	12 (63%)	1 (5%)	3 (16%)	0 (0%)
	Day 21	3.3 ± 6.0	1.0 ± 1.3	5 (26%)	8 (40%)	0 (0%)	1 (5%)	10 (53%)	0 (0%)
2 nd	Day 23	14.8 ± 6.8	1.7 ± 1.5	19 (100%)	13 (65%)	14 (74%)	13 (65%)	0 (0%)	0 (0%)
	Day 28	11.6 ± 3.5	1.3 ± 1.2	19 (100%)	12 (60%)	6 (32%)	1 (5%)	3 (16%)	1 (5%)
	Day 42	9.3 ± 3.6	1.1 ± 1.0	17 (89%)	13 (65%)	0 (0%)	0 (0%)	10 (53%)	0 (0%)
		Induration		Pressure pain		Feeling of feverishness		A water blister	
		No. of positive subjects		No. of positive subjects		No. of positive subjects		No. of positive subjects	
		TCI (n=19)	SCI (n=20)	TCI (n=19)	SCI (n=20)	TCI (n=19)	SCI (n=20)	TCI (n=19)	SCI (n=20)
1 st	Day 2	8 (42%)	1 (5%)	1 (5%)	5 (25%)	0 (0%)	5 (25%)	0 (0%)	0 (0%)
	Day 7	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Day 21	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
2 nd	Day 23	5 (26%)	1 (5%)	0 (0%)	1 (5%)	3 (16%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)
	Day 28	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Day 42	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

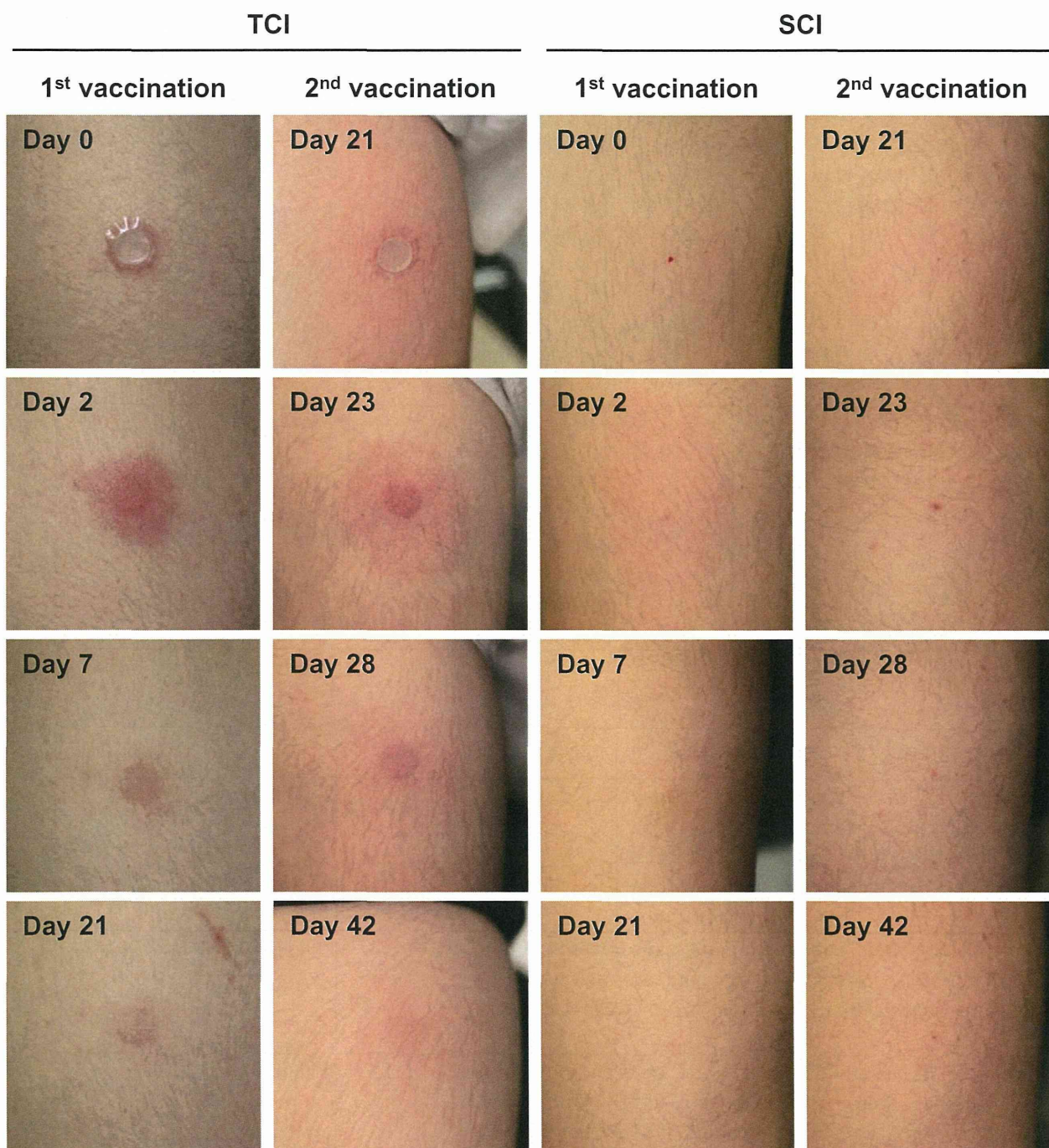


Fig. 3 Photographs of human skin after TCI using MH800 loaded with influenza HA or SCI using injectable HA vaccine.

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
廣部祥子, 岡田直貴, 中川晋作	経皮ワクチン製剤のDDS技術の動向と実用化の可能性		DDS製剤の開発・評価と実用化手法	技術情報協会	東京	2013	186-193
廣部祥子, 岡田直貴, 中川晋作	皮膚を標的とした新規ワクチン製剤「貼るワクチン」の開発	田畑泰彦	遺伝子医学MOOK別冊 — コルドゥこまで広がるドラッグ徐放技術の最前線 — 古くて新しいドラッグデリバリーシステム (DDS) —	メディカ	大阪	2013	277-282
松尾一彦, 岡田直貴, 中川晋作	アルツハイマー型認知症に対する経皮ワクチン療法	永井恒司, 岡田弘晃	ドラッグデリバリーシステムの最新展開II — 核酸医薬・抗体医薬・ワクチン医療を支えるDDS技術	シーエムシー出版	東京	2012	155-161

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kazuhiko Matsuo, Sachiko Hirobe, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa	Frontiers of transcutaneous vaccination systems: Novel technologies and devices for vaccine delivery	Vaccine	31(19)	2403-2415	2013
Sachiko Hirobe, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa	Transcutaneous vaccines: current and emerging strategies	Expert Opinion on Drug Delivery	10(4)	485-498	2013
Yasuhiro Hirai, Takeshi Nakagawa, Ying-Shu Quan, Fumio Karonemiyama, Sachiko Hirobe, Naoki Okada, Shinsaku Nakagawa	Performance and characteristics evaluation of a sodium hyaluronate-based microneedle patch for a transcutaneous drug delivery system	International Journal of Pharmaceutics	441(1-2)	570-579	2013

Kazuhiko Matsu o, Yayoi Yokot a, You Zhai, Yi ng-Shu Quan, Fu mio Kamiyama, Y ohei Mukai, Nao ki Okada, Shins aku Nakagawa	A low-invasive and e ffective tanscutaneo us immunization syst em using a novel dis solving microneedles patch for soluble a nd particulate antig ens	Journal of C ontrolled Re lease	161(1)	10-17	2012
Kazuhiko Matsu o, Sachiko Hiro be, Yayoi Yokot a, Yurika Ayab e, Masashi Sett o, Ying-Shu Qua n, Fumio Kamiya ma, Takahiro To ugan, Toshihiro Horii, Yohei M ukai, Naoki Oka da, Shinsaku Na kagawa	Transcutaneous immun ization using a diss olving microneedle a rray protects agains t tetanus, diphtheri a, malaria, and infl uenza	Journal of C ontrolled Re lease	160(3)	495-501	2012
廣部祥子, 岡田 直貴, 中川晋作	経皮ワクチンの進歩と 展望	臨床免疫・ア レルギー科	58(3)	313-321	2012

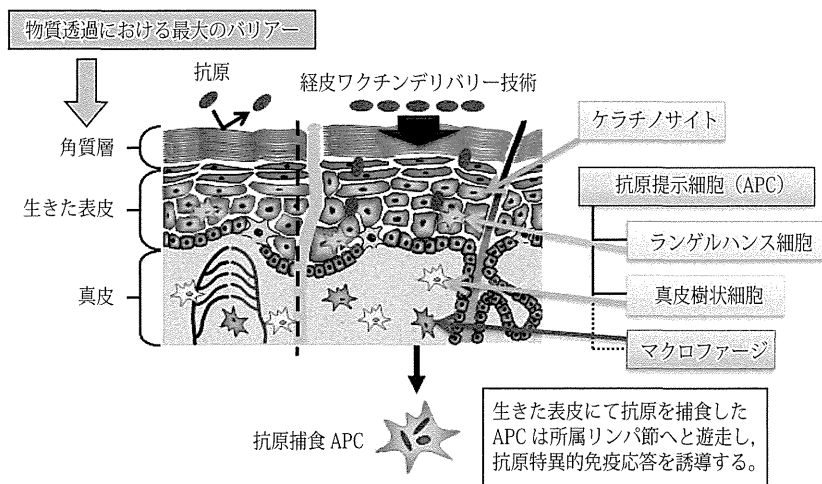
<2> 経皮ワクチン製剤の DDS 技術の動向と実用化の可能性

はじめに

ワクチンは感染症に対する根本的な予防対策であり、疾患の発症ならびに症状の重篤化を抑制する画期的な医薬品である。種痘法は天然痘に対する予防策として、1798年にエドワード・ジェンナーにより開発され、ワクチンの起源であるとともに1980年の天然痘撲滅宣言に多大な貢献をした¹⁾。このような背景をもとに、数多くのワクチンが開発されており、現在の日本では15種類を超える感染症に対してワクチン接種が可能である。しかしながら、これらのワクチンの大半が注射型ワクチンであり、接種に痛みを伴うことや医師による投与が必要であることがワクチン接種の普及を妨げている。また、ワクチン抗原の輸送や保管に冷蔵管理が求められることや、注射針を介した二次感染が危惧されるといった問題が、開発途上国においてワクチンで予防可能な感染症が未だ蔓延している原因となっている。そこで、我々は簡便な予防接種を可能にする皮膚を標的とした経皮ワクチンに着目し、本節では様々な観点から開発された経皮ワクチンデリバリー技術を概説するとともに、著者らの経皮ワクチン製剤の実用化に向けた取り組みを紹介する。

1. 皮膚の免疫学的特徴

皮膚は生体を外界と隔てる障壁であり、常に外界の異物に曝されているために、異物の侵入を防ぐ“物理的バリアー”と異物の除去を担う“免疫学的バリアー”を有する。皮膚は外側から角質層、生きた表皮、真皮に分けられており、皮膚の最外層に存在する角質層は、体で最も硬いケラチタンパク質で出来た角質細胞が幾重にも重なることで構成され、物理的バリアーの主役となっている(図1)。一方で、角質層下の生きた表皮ならびに真皮に存在する様々な細胞群が免疫学的バリアーとして機能している。獲得免疫応答誘導の要となる抗原提示細胞(APC)として、生きた表皮にはランゲルハンス細胞、真皮には真皮樹状細胞が常在し、外来異物に対する免疫監視機構において重要な役割を担っている²⁾。生きた表皮の90%以上を占めるケラチノサイトは、サイトカインの産生・分泌を行い、自然免疫を活性化する³⁾。また、真皮に存在するマクロファージは、死んだ細胞や細菌を処理する食作用と外来抗原を異物として提示する抗原提示作用を有し、皮膚の免疫学的バリアーの形成に寄与するとされている⁴⁾。これらのことから、角質層下に存在する免疫担当細胞、特にAPCへと抗原を送達することができれば、抗原を捕食したAPCがリンパ節へと遊走し、抗原特異的にT細胞ならびにB細胞を活性化することで、強力な獲得免疫応答を誘導できると考えられる。そのため、経皮ワクチンの開発においては、ワクチン抗原を物理的バリアーである角質層を突破し、免疫学的バリアーが構築されている生きた表皮ならびに真皮へと送達しなければならない。



皮膚表面に塗布した抗原は角質層が障壁となり皮膚内へ到達しないが、経皮ワクチンデリバリー技術を用いることで角質層下へと抗原を送達することができる。APCとして生きた表皮にはランゲルハンス細胞、真皮には真皮樹状細胞が存在し、抗原を捕食したAPCは所属リンパ節へと遊走する。リンパ節にてAPCは、T細胞、B細胞を抗原特異的に活性化し、獲得免疫を誘導する。また、生きた表皮の90%以上を占めるケラチノサイトは、サイトカインの産生・分泌を担い、自然免疫の活性化に寄与する。真皮に存在するマクロファージは、死んだ細胞や細菌を貪食する食作用と抗原提示作用を有し、皮膚の免疫学的バリアーの形成に貢献している。

図1 経皮免疫誘導メカニズム

2. 経皮ワクチンデリバリー技術の発展

ワクチン抗原は可溶性の高分子タンパク質や病原体由来コンポーネントの凝集体、さらには無毒・弱毒化したウイルスや細菌である。角質層は水溶性ならびに分子量 500 以上の物質についてその透過を制限することが報告されており⁵⁾、高分子あるいは粒子状のワクチン抗原を単に皮膚表面に塗布しただけでは皮膚内へと送達することは困難である。そこで、様々な戦略をもとに抗原を皮膚内へ送達する手法が開発されている。

2.1 弾性リポソーム

角質層を突破する手法の一つとして、毛包や汗腺を利用した経皮送達が挙げられる。その代表例がナノ粒子であり、近年では特に弾性リポソームの開発が精力的に行われている⁶⁾。弾性リポソームは脂質や界面活性剤から形成された柔軟な二重膜を有しており、従来のリポソームと比較して皮膚付属器官だけでなく角質層間隙の透過も容易になるとされている。また、ナノ粒子を用いた経皮ワクチンデリバリーは、抗原とアジュバントの両物質を同じ粒子に内包することが可能であり、免疫応答を効率的に活性化できる⁷⁾。実用化に向けては、脂質や界面活性剤の種類、またその比率を適切に調製することで、ワクチン効果を発揮するに十分な抗原量を送達できる弾性リポソームの開発をしていかなければならない。

2.2 エレクトロポレーション

エレクトロポレーション法は、皮膚への電圧負荷により角質層に一時的に孔をあけて抗原を皮膚内へ送達する物理的経皮送達手法の一つである⁸⁾。本手法の特徴は、電圧パルスによって細胞膜の構造が緩むことから、様々な皮膚細胞内へ直接抗原を導入できることであり、特に DNA を用いたワクチンにおいて効率的に免疫応答を誘導できる。動物モデルにおいてエレクトロポレーションを用いた経皮ワクチンの有効性は多数示されており⁹⁻¹¹⁾、注射型製剤に比べて低侵襲な手法であることから、ヒトへの適用が期待されている。しかしながら、エレクトロポレーションの装置が特殊かつ巨大であるためにコストが高いことが実用化に向けた大きな課題となっている。

2.3 Jet injector

Jet injector は針を用いずに、空気の圧力によって抗原を皮膚内へ送達する手法である¹²⁾。針を介した二次感染の危険性がなく、迅速な大規模接種を可能にすることから、軍隊での使用を目的に開発された。日本においても 1970 年代に小・中学校の予防接種に用いられた実績を有するが、神経線維の損傷が多発したことや痛みが大きいことを受け、すでに使用は取りやめられている。現在ではより安価かつ簡便に扱える Jet injector の開発が進められ、臨床試験において様々な感染症に対する有効性が報告されており (表 1(A))¹³⁻¹⁹⁾、実用化に向けた安全性の担保が求められている。

表1 経皮ワクチンデリバリー製剤の臨床研究

デバイス	ワクチン	Phase	文献
(A) Jet injector			
PMED™ (powder)	インフルエンザ DNA ワクチン	phase I (Pfizer)	13, 14
	gp100DNA ワクチン (メラノーマ)	phase I	15
	マラリア DNA ワクチン	phase I	16, 17
Biojector® (liquid)	HIV DNA ワクチン	phase I (Bioject)	18
	不活化 A 型肝炎ワクチン	phase I	19
(B) パッチ			
SPS	易熱性エンテロトキシンワクチン (旅行者下痢症)	phase III (IOMA/Intercell)	20
	不活化三価季節性インフルエンザワクチン	phase II	21
CSSS	不活化インフルエンザワクチン	phase I	22, 23
	メラノーマペプチドワクチン, HIV ペプチドワクチン	phase I	24
親水性ゲルパッチ	破傷風・ジフテリアトキソイド	clinical study (CoSMED)	29
(C) マイクロニードル			
MicronJet®	三価季節性インフルエンザ HA ワクチン	phase I (NanoPass)	32
MicroHyal®	三価季節性インフルエンザ HA ワクチン	clinical study (CosMED)	unpublished

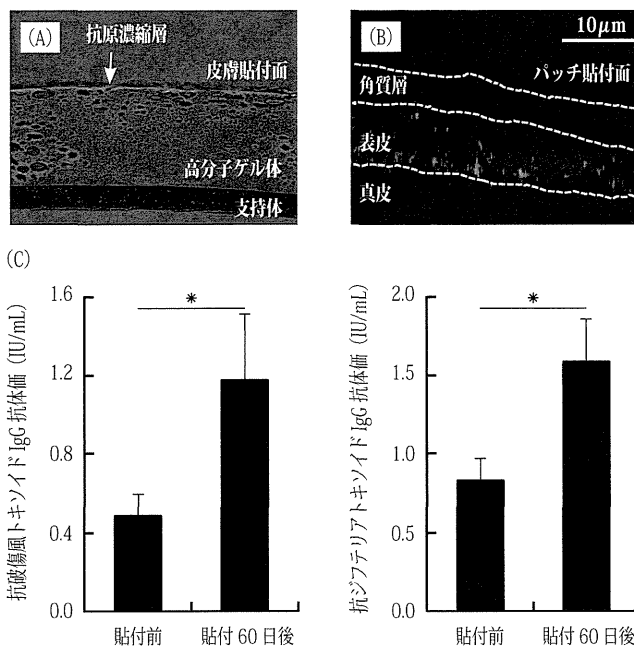
PMED, Particle Mediated Epidermal Delivery ; SPS, Skin Preparation System ; CSSS, cyanoacrylate skin surface stripping ; HIV, human immunodeficiency virus ; HA, hemagglutinin

3. 粘着性およびガーゼパッチを用いた経皮ワクチン

経皮ワクチンデリバリー技術の中でも特殊な装置を必要とせず、ただ貼るだけでワクチン効果を誘導できる粘着性パッチおよびガーゼパッチの開発が世界各国へのワクチン普及や大規模接種の観点から重要視されている。IOMAI 社 (2008 年に Intercell 社により買収) は、アルコールと綿棒で角質層を除去する SPS (skin preparation system) という手法を用いたガーゼパッチワクチンを開発しており^{20,21)}、旅行者下痢症に対する経皮ワクチンは phase III まで臨床試験が進行している (表 1(B))。他にも、接着剤であるシアノアクリレートを用いた角質層の除去 (CSSS ; cyanoacrylate skin surface stripping) により、抗原透過を促進するガーゼパッチ製剤のヒトへの適用が検討されている²²⁻²⁴⁾。しかしながら、これらのパッチ製剤は貼付前に角質層を除去する前処理を必要とするだけでなく、皮膚に適用する直前に抗原溶液をパッチに浸み込ませるため、簡便性に欠けている。また、注射型ワクチンと同様に抗原溶液の輸送や保管に冷蔵管理を要するなど、さらなる改良を加える必要がある。

3.1 親水性ゲルパッチを用いた経皮ワクチンの開発

そこで著者らは、コスメディ製薬株式会社と共同開発した親水性ゲルパッチを応用した経皮ワクチン製剤の開発を推進している²⁵⁻²⁸⁾。親水性ゲルパッチは、アクリル酸エステル系粘着剤をベースに、浸潤剤、吸収促進剤などすでに医薬品や化粧品などで用いられている安全性の高い材料を配合して作製している。また、本パッチの皮膚貼付面に抗原タンパク質水溶液を滴下すると、水分のみが高分子ゲル体に吸収されてパッチ表面に抗原タンパク質の濃縮層が形成される (図 2(A))。このように、抗原を含浸させた状態で取り扱うことができるために、輸送・保管が容易になると考えられる。抗原含有親水性ゲルパッチは、特別な前処理を必要とすることなくただ貼るだけで、抗原を表皮組織にまで送達しており (図 2(B))、破傷風・ジフテリア感染症モデルにおいて各トキソイド特異的な IgG 抗体が産生されることを確認している。親水性ゲルパッチによる抗原分子の角質層透過は、ゲルパッチの貼付により水和した角質層の細胞間隙に水溶性の高分子が分配し、その結果現出した皮膚内の抗原濃度勾配が単純拡散の駆動力となって促進されたと考えられる。また、抗原を含有したゲルパッチを貼付した皮膚局所に顕著な刺激性は認められなかったこと、各種血液検査や病理組織学的検査などにおいても異常が確認されなかったことから、本経皮ワクチン製剤の安全性が動物実験にて実証された²⁷⁾。



- (A) 抗原タンパク質（赤色蛍光標識）水溶液を滴下して 30 分後の親水性ゲルパッチ断面の顕微鏡写真
- (B) 抗原タンパク質（赤色蛍光標識）を含む親水性ゲルパッチをマウス耳介皮膚に 6 時間貼付した後、パッチ適用部位の皮膚組織を摘出し、ランゲルハンス細胞の蛍光免疫染色（緑色）を行った。共焦点レーザー顕微鏡にて撮像した二次元データから三次元画像を構築した。
- (C) 破傷風・ジフテリアトキソイドを各 2 mg 含有した 5 cm × 8 cm の親水性ゲルパッチをヒト上腕内側皮膚に 24 時間貼付した。貼付前ならびに貼付 60 日後に血中の抗トキソイド抗体価を ELISA 法により測定した。データは mean ± S.E. を示した。* : $p < 0.01$ (paired t-test)

図 2 親水性ゲルパッチを用いた貼るワクチン

※ カラーの図は巻頭ページを参照

3.2 親水性ゲルパッチを用いた経皮ワクチンの臨床研究

前臨床研究における成果に基づき、我々は破傷風・ジフテリア経皮ワクチンの安全性・有効性をヒトにおいて検証する臨床研究を実施した²⁹⁾。破傷風・ジフテリアトキソイドをそれぞれ 2 mg 含有した親水性ゲルパッチ製剤 (5 cm × 8 cm) をヒト上腕内側皮膚に 24 時間貼付したところ、重篤な局所ならびに全身性の副反応を観察することなく、抗原特異的な免疫応答を誘導可能であることが明らかとなった (図 2(C))。また、ラマン共焦点分光装置によってパッチ貼付後における角質層内の成分を解析したところ、水分含量の増加、パッチ構成成分である浸潤剤 (グリセリン) ならびに吸収促進剤 (乳酸オクチルドデシル) の角質層への移行が確認された。このことから、角質層の膨潤と角質層に移行した各成分の作用が合わさることで、ヒトにおいても 150 kDa にもなる巨大分子である破傷風トキソイドを角質層下へと送達できたと推察される。このように親水性ゲルパッチはヒトにおいてもただ貼るだけで免疫応答を誘導可能な安全かつ有効なワクチンデバイスであることが実証された。本邦では多くの人が、乳幼児に破傷風・ジフテリアトキソイドワクチンの接種を受け、抗トキソイド抗体を有している。しかし、その抗体価は年齢を重ねると低下すると言われており、皮膚に貼るだけと簡便な手法でブースト免疫を誘導できる本製剤は非常に有用であるといえる。

3.3 粘着性およびガーゼパッチの実用化に向けた今後の課題

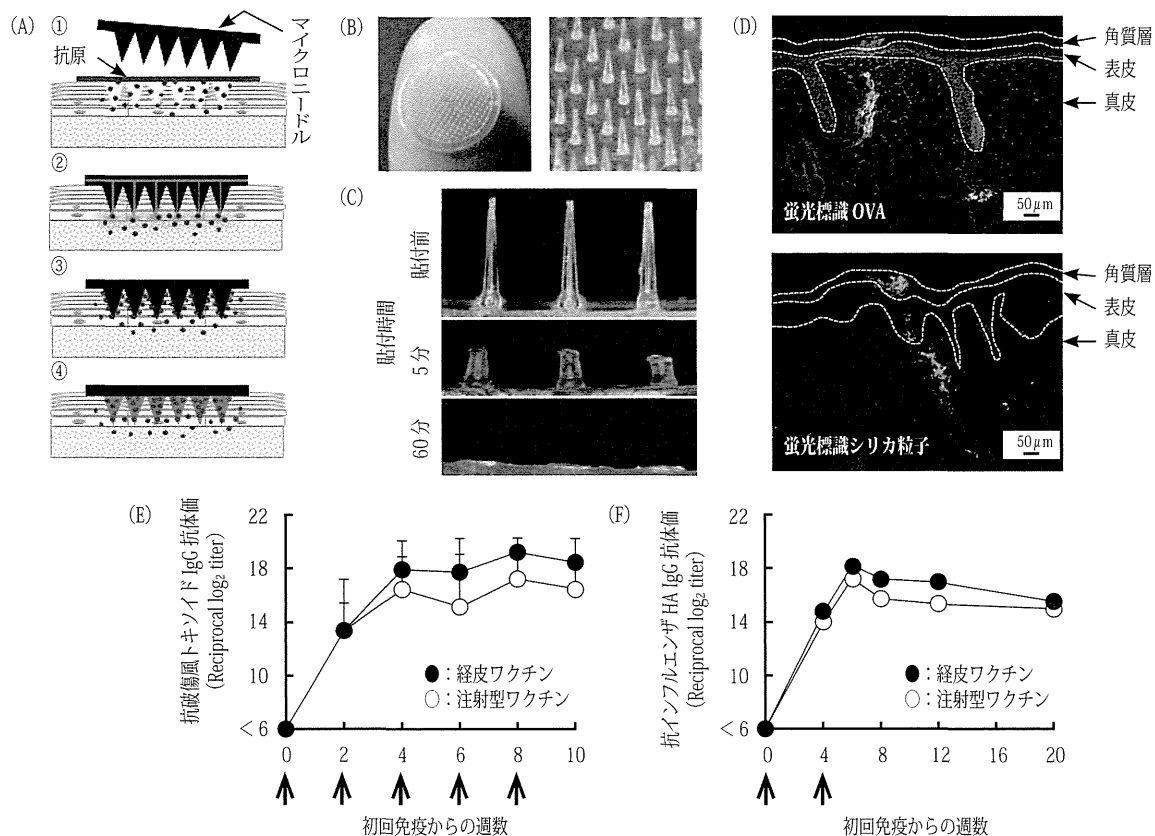
これまで開発されてきたガーゼパッチはもちろんのこと、著者らの親水性ゲルパッチについても、十分なワクチン効果を得るためには、注射型ワクチンに比べて大量の抗原を必要とする。親水性ゲルパッチについて、角質層下に送達される抗原量は含浸させた量の数%程度であることを確認しており、抗原の利用率が低いのが現状である。そのため、簡便かつ安全だけでなく安価でより有効な経皮ワクチン製剤の実用化に向けては、抗原の角質層透過効率に優れるゲルパッチ、ならびに免疫増強効果を図るための臨床応用可能な経皮アジュバントを開発していかなければならない。また、製剤安定性の評価、製剤製造法の樹立や品質試験法の確立など、経皮ワクチンの製品化・実用化に向けた取り組みを推進していくことが重要である。

4. 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた経皮ワクチン

親水性ゲルパッチは水溶性抗原物質の角質層への分配とその後の単純拡散によって APC への送達効率を上昇させるため、抗原物質が水に不溶性あるいは懸濁された粒子状態の場合には適用が困難である。ところが、注射型ワクチン製剤として実用化されている抗原の多くは、無毒・弱毒化したウイルスや細菌（BCG、麻疹ワクチンなど）、あるいはそれら病原体由来コンポーネントの凝集体（インフルエンザ HA 抗原など）といった粒子状態であるため、親水性ゲルパッチに適用可能なワクチン抗原は限定されてしまう。すなわち、経皮ワクチン製剤の適用を拡大するためには、不溶性ならびに粒子状ワクチン抗原にも対応しうる新たな経皮ワクチンデバイスの開発が必要とされる。そこで著者らは、微小な針により角質層に孔をあけることで抗原を送達するマイクロニードル法に着目した³⁰⁾。

4.1 各種マイクロニードルデバイスの開発

マイクロニードルは神経終末が存在する真皮にまで針が到達しないことから痛みを伴わず、またマイクロニードル製剤を貼るだけという簡便な操作でワクチンを接種することができる利点がある。さらに、抗原透過のバリアーとなる角質層を物理的に突破するため、様々なワクチン抗原に対応可能な新規経皮ワクチンデリバリー技術として注目を集めている。第一世代のマイクロニードルはシリコンや金属（ステンレス、チタン）を構成材料としたものであり、①マイクロニードルの貼付により生じた穿刺孔を介して抗原を皮膚内へ送達する³¹⁾、②マイクロニードルの中空を介して抗原溶液を皮膚内へと注入する³²⁾、③抗原をコーティングしたマイクロニードルを貼付して抗原を皮膚内へと拡散させる³³⁾、といった方法がある（図 3(A)）。これらは剛性に優れる、成形しやすい、といった利点を有しており、シリコン製中空マイクロニードルを用いたインフルエンザワクチンについて臨床試験の成果が報告されている（表 1(C)）。しかし、これらの固形マイクロニードルは生体内で折れ残り、重篤な組織傷害を引き起こす危険性が払拭できないために、実用化が困難となっている。そこで近年では、第二世代マイクロニードルとして、生分解性バイオポリマーやヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸などを利用した溶解型マイクロニードルの開発が注目されている³⁴⁾。これらは生体適合性に優れた構成素材を使用し、④マイクロニードル自体が溶解することによって装填あるいは吸着した抗原を皮膚内へと送達する、といった特徴を有する。そのため、第一世代マイクロニードルの安全面における問題点を克服できると考えられており、臨床応用・実用化が期待されている。



- (A) ①マイクロニードルの貼付により生じた穿刺孔を介して抗原を皮膚内へ送達する。②マイクロニードルの中空を介して抗原溶液を皮膚内へ注入する。③抗原をコーティングしたマイクロニードルを貼付して抗原を皮膚内へと拡散させる。④マイクロニードル自体が溶解することによって装填あるいは吸着した抗原を皮膚内へ送達する。
- (B) 皮膚内溶解型マイクロニードルの全体像。面積は 0.8 cm² であり、生体適合性に優れたヒアルロン酸を主成分として形成された約 200 本の微小な針を有する。
- (C) 針長 800 μm の皮膚内溶解型マイクロニードルパッチをラット背部皮膚に 5 分あるいは 60 分間貼付し、剥離後のマイクロニードルを実体顕微鏡により観察した。
- (D) 針長 800 μm の皮膚内溶解型マイクロニードルパッチに蛍光標識 OVA あるいは蛍光標識シリカ粒子を装填し、マウス背部皮膚に 6 時間貼付した。貼付部位の皮膚を回収し、凍結切片を作製後、蛍光顕微鏡により観察した。
- (E) 破傷風トキソイドを 10 μg 装填した針長 800 μm のマイクロニードルパッチをラット背部皮膚に 6 時間貼付した。対照群のラットには同量の破傷風トキソイドを背部皮下注射した。これらのワクチン投与を 2 週間隔で 5 回繰り返し (図中の↑)、経時的に血中の抗トキソイド抗体価を ELISA 法により測定した。抗体価は免疫前のサンプルよりも吸光度が 0.1 以上高い最大希釈倍率の逆数の対数を Reciprocal log₂ titer として表した。
- (F) インフルエンザ HA 抗原 (A/Brisbane/59/2007 (H1N1)) を 0.2 μg 装填した針長 800 μm のマイクロニードルパッチをマウス背部皮膚に 6 時間貼付した。対照群のマウスには同量のインフルエンザ HA 抗原を大腿部筋肉内注射した。これらのワクチン投与を 4 週間隔で 2 回実施し (図中↑)、経時的に血中の抗 HA 抗体価を ELISA 法により測定した。抗体価は免疫前のサンプルよりも吸光度が 0.1 以上高い最大希釈倍率の逆数の対数を Reciprocal log₂ titer として表した。

図 3 マイクロニードルを用いた貼るワクチン

※ カラーの図は巻頭ページを参照

4.2 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた経皮ワクチン

著者らはコスメディ製薬株式会社との共同研究により独自に開発した皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた経皮ワクチンの開発を進めている。これは皮膚組織成分であるヒアルロン酸を主成分としており、マイクロニードルの形状や長さは自由に制御することができる (図 3(B))³⁵⁻³⁷)。実際に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、装填物質の形状が可溶性分子、不溶性粒子にかかわらず、APC が存在する生きた表皮ならびに真皮へと物質を送達できることを明らかにしている (図 3(C), (D))。また、可溶性抗原である破傷風トキソイドのみならず、粒子状抗原であるインフルエンザ HA 抗原を装填したマイクロニードルパッチにおいても、動物皮膚に貼付することで抗原特異的抗体産生が誘導された (図 3(E), (F))。これらの成果に基づき、すでに著者らは本デバイスのヒトへの適用を検証する臨床研究を開始しており、抗原装填マイクロニードルパッチが皮下注射とほぼ同等の抗体産生を誘導することを確認している。現在欧米のみならず、本邦においても新規剤形であるマイクロニードルを用いたパラトルモンによる骨粗鬆症治療の治験が開始されつつあり、マイクロニードルデバイスを用いた予防・治療の臨床応用が近い将来実現すると考え

られる。

おわりに

DDS 技術を基盤とした経皮ワクチン製剤が多数考案・開発されている中、皮膚に貼るだけという簡便な操作で予防接種を施行可能なパッチ製剤ならびにマイクロニードル製剤の研究開発に期待が寄せられている。著者らは独自に開発した親水性ゲルパッチならびに皮膚内溶解型マイクロニードルを応用した経皮ワクチン製剤をすでに臨床研究へと展開しており、ヒトにおける有用性を見出している。経皮ワクチン製剤が従来までの注射に代わる簡便性・普及性に優れた新規剤型ワクチンとして実用化されれば、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施行、開発途上国へのワクチン普及に大きく貢献できるものと期待する。

謝辞

本節にて紹介した研究内容は、「先駆的医薬品・医療機器研究発掘支援事業（独立行政法人医薬基盤研究所）」、「厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）」ならびに「文部科学研究費補助金（挑戦的萌芽）（基盤研究 B）」からの研究助成によるものであり、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。また、研究を遂行するにあたりご協力いただきましたコスメディ製薬株式会社 神山文男先生、権英淑先生、奈良県立医科大学 浅田秀夫先生、大阪大学大学院医学系研究科 小豆澤宏明先生、片山一朗先生、一般財団法人阪大微生物病研究会に深謝いたします。

文 献

- 1) Radetsky M. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 18, 85-93 (1999)
- 2) Valladeau J, Saeland S. *Semin. Immunol.* 17, 273-83 (2005)
- 3) Sugita K, et al. *Clin. Exp. Immunol.* 147, 176-83 (2007)
- 4) Nestle FO, Nickoloff BJ. *J. Clin. Invest.* 117, 2382-5 (2007)
- 6) Gupta PN, et al. *Int. J. Pharm.* 293, 73-82 (2005)
- 7) Schlosser E, et al. *Vaccine* 26, 1626-37 (2008)
- 8) Weaver JC. *Methods Mol. Biol.* 55, 3-28 (1995)
- 9) Zhao YL, et al. *Vaccine* 24, 1282-90 (2006)
- 10) Cristillo AD, et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 366, 29-35 (2008)
- 11) Hirao LA, et al. *Vaccine* 26, 440-8 (2008)
- 12) Kelly K, et al. *Vaccine* 26, 1344-52 (2008)
- 13) Roberts LK, et al. *Vaccine* 23, 4867-78 (2005)
- 14) Jones S, et al. *Vaccine* 27, 2506-12 (2009)
- 15) Cassaday RD, et al. *Clin. Cancer Res.* 13, 540-9 (2007)
- 16) Wang R, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 10817-22 (2001)
- 17) Epstein JE, et al. *Hum. Gene Ther.* 13, 1551-60 (2002)
- 18) Aboud S, et al. *Clin. Vaccine Immunol.* 17, 1124-31 (2010)
- 19) Williams J, et al. *Vaccine* 18, 1939-43 (2000)
- 20) Frech SA, et al. *Lancet* 371, 2019-25 (2008)
- 21) Frech SA, et al. *Vaccine* 23, 946-50 (2005)
- 22) Vogt A, et al. *J. Immunol.* 180, 1482-9 (2008)
- 23) Combadiere B, et al. *PLoS One* 5, e10818 (2010)
- 24) Yagi H, et al. *Cancer Res.* 66, 10136-44 (2006)
- 25) Ishii Y, et al. *J. Control. Release* 131, 113-20 (2008)

- 26) Matsuo K, et al. *J. Control. Release* **149**, 15-20 (2011)
- 27) Matsuo K, et al. *Biol. Pharm. Bull.* **34**, 1835-40 (2011)
- 28) Matsuo K, et al. *Biol. Pharm. Bull.* **34**, 586-9 (2011)
- 29) Hirobe S, et al. *Vaccine* **30**, 1847-54 (2012)
- 30) Prausnitz MR. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **56**, 581-7 (2004)
- 31) Henry S, et al. *J. Pharm. Sci.* **87**, 922-5 (1998)
- 32) Van Damme P, et al. *Vaccine* **27**, 454-9 (2009)
- 33) Matriano JA, et al. *Pharm. Res.* **19**, 63-70 (2002)
- 34) Sullivan SP, et al. *Nat. Med.* **16**, 915-20 (2010)
- 35) Matsuo K, et al. *J. Control. Release* **161**, 10-7 (2012)
- 36) Matsuo K, et al. *J. Control. Release* **160**, 495-501 (2012)
- 37) Hiraishi Y, et al. *Int. J. Pharm.* **441**, 570-579 (2013)

6. 予防

1) 皮膚を標的とした新規ワクチン製剤「貼るワクチン」の開発

廣部祥子・岡田直貴・中川晋作

要旨

経皮ワクチン，すなわち「貼るワクチン」は免疫担当細胞が多数存在する皮膚を標的としており，投与が簡便なだけでなく，高いワクチン効果が期待できる。しかしながら，皮膚には外界と生体を隔てるバリアとなる角質層が存在するため，抗原の皮膚内への送達は容易ではない。そこで筆者らは，2種類の経皮ワクチンデバイス（親水性ゲルパッチ，皮膚内溶解型マイクロニードル）を創製し，その実用化をめざしている。簡便・安全・有効な貼るワクチンは，開発途上国へのワクチン普及を促進するとともに，新興・再興感染症の世界的流行を阻止し，感染症対策に大きく貢献できる。

キーワード ワクチン，経皮薬物デリバリー，親水性ゲルパッチ，皮膚内溶解型マイクロニードル，ヒアルロン酸，破傷風，ジフテリア，トキソイド，インフルエンザ，臨床研究

はじめに

感染症の歴史は生物の発生とともに幕を開け，感染症の人類への影響は多大なるものであった。人類は感染症との長い闘いの中で，医学の進歩や公衆衛生事業の拡大により多くの戦果を得てきた。しかしながら，現在の発達した交通網は世界のボーダレス化を進展させ，様々な人的・物的交流に伴う国境を越えた病原体の移動を可能としている。昨今話題となっている高病原性鳥インフルエンザウイルスはひとたびヒト-ヒト感染が成立すれば世界規模の流行を招きかねない。このように新興・再興感染症の蔓延が脅威となる中，ワクチンがその阻止に最も効果的な対策であることから，その重要性が再認識されつつある。

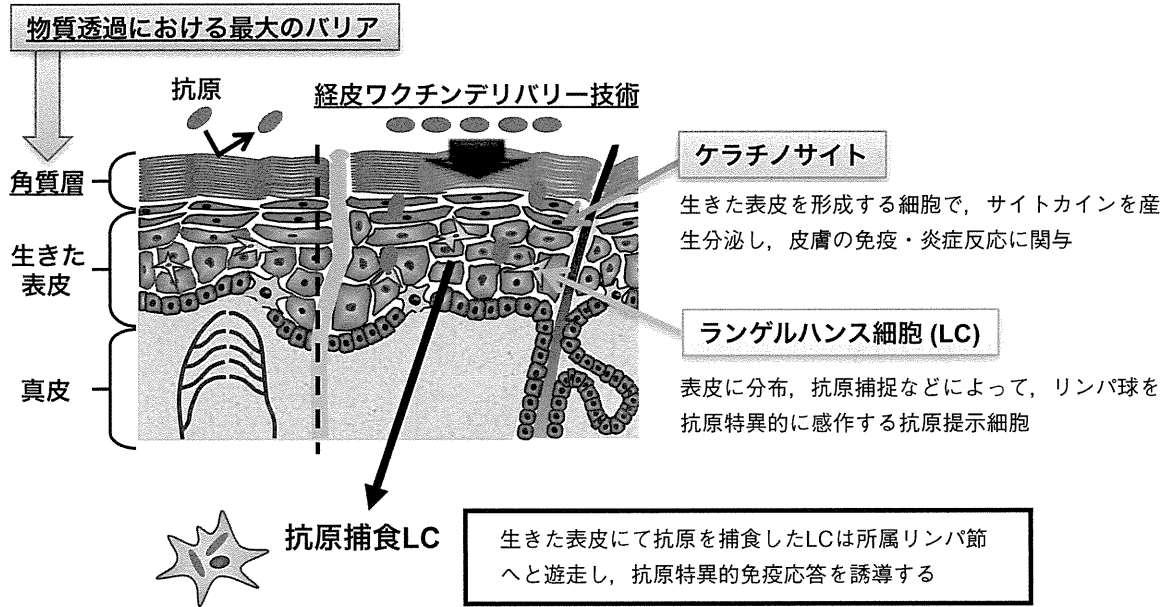
新規ワクチンデバイスの開発は，従来のワクチン手法が抱える問題点を克服し，様々な感染症ワクチンの有用性を向上させると考えられる。これまでに実用化されたワクチンは，大半が注射型ワクチンである。しかしながら，注射型ワクチン製剤は投与に医療従事者を必要と

し，注射針を介した二次感染の危険性がある。また，注射剤の輸送・保管にコールドチェーンが不可欠であるなど，技術的・経済的な制約が実際にワクチンを最も必要としている開発途上国などの地域にワクチンが浸透しにくい原因となっている。さらに，感染症パンデミックやバイオテロリズム発生時にワクチンの大規模投与を迅速に施行できない点も懸念されている。このように，注射に代わる簡便で有効かつ安全な新規ワクチン手法の確立が待望されていることから，筆者らは皮膚をターゲットとした経皮ワクチン製剤，すなわち「貼るワクチン」の開発を推進している。

I. 皮膚を標的としたワクチンの開発

皮膚は，ワクチンのターゲットとして非常に優れた組織である（図1）。解剖学的に皮膚は外側から，角質層，生きた表皮，真皮という順番で大きく3層に分けられている。そして常に外界からの異物侵入の危険にさらされている組織であるため，最外層に存在する角質層が

図① 経皮免疫誘導メカニズム



物質透過を制限する物理的バリアとして機能している。また、皮膚は物理的バリアとしてだけでなく、生体を守る免疫系が高度に発達した「免疫学的バリア」をも兼ね備えた組織である。生きた表皮は各種サイトカインやケモカイン、増殖因子を分泌するケラチノサイトが約90%を占めており、異物侵入に対する自然免疫の誘導に関わっている。また、ケラチノサイトの細胞間隙には、抗原提示細胞の1つであるランゲルハンス細胞（LC）が散在している。さらに真皮には、真皮樹状細胞や肥満細胞、単球などの細胞群が存在し、免疫学的バリアの形成に関与している。特に生きた表皮に常在するLCは免疫監視機構において非常に重要な役割を担っており、異物を認識・捕食したLCは免疫誘導の場である所属リンパ節へと遊走する。そしてT細胞ならびにB細胞を抗原特異的に活性化することで、全身性の獲得免疫応答を誘導する。したがって、ワクチンとして抗原を効率よく生きた表皮に送達することができれば、抗原特異的な免疫応答を強力に誘導できるものと期待される。

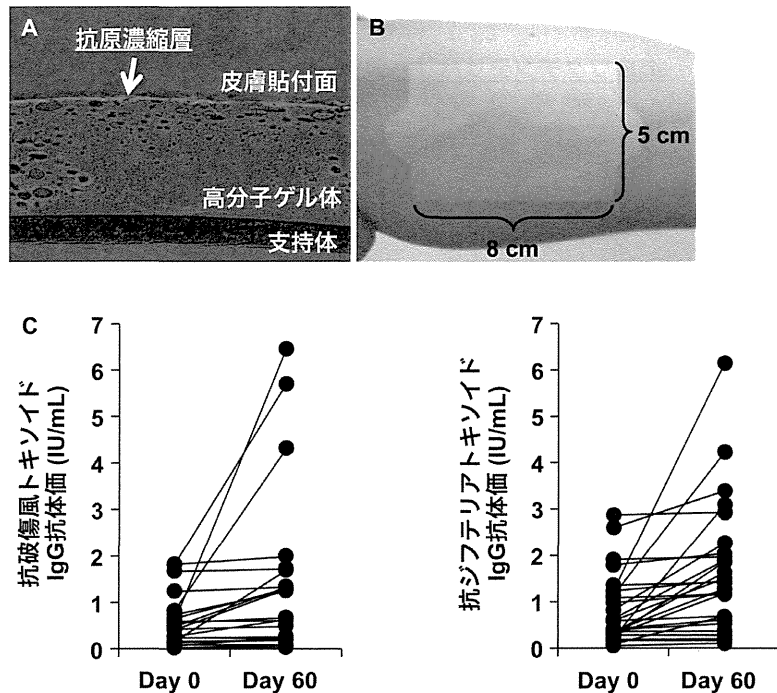
上述のとおり、皮膚には物質透過のバリアとなる角質層が存在するため、水溶性で分子量500以上の物質は透過しにくいと言われている¹⁾。したがって、ペプチドやタンパク質といった高分子の抗原を単に皮膚表面に塗布するだけでは、生きた表皮に常在するLCに抗原を効率よく送達することはできず、効果的な免疫応答を誘導す

ることはできない。そこで、DDS領域で開発されてきた経皮薬物デリバリー技術を応用することで、角質層下の生きた表皮にまでワクチン抗原を送達し、感染防御効果を得られる「経皮ワクチン」の開発が試みられている²⁾。

II. ゲルパッチを用いた「貼るワクチン」の臨床研究

特殊な装置を必要とせず、まさに皮膚に貼るだけで免疫応答を誘導可能な「貼るワクチン」の開発が精力的に行われている。IOMAI社（2008年にIntercell社により買収）および国立感染症研究所は、粘着性パッチおよびガーゼパッチを応用した「貼るワクチン」において、抗原特異的な免疫応答を誘導できることを報告している³⁾⁴⁾。しかしながら、これらの経皮ワクチン製剤は抗原の十分なデリバリーのために角質層あるいは角質層脂質成分を部分的に除去する前処理を必要とし、また効果的な免疫応答を誘導するためにはアジュバントを併用しなければならない。さらにガーゼパッチを応用した経皮ワクチン製剤は、皮膚に適用する直前に抗原溶液を浸み込ませるため簡便性に欠けてるうえ、注射型ワクチンと同様に抗原溶液の輸送や保管に一貫した冷蔵管理を必要とする。このような問題点が指摘される中、筆者とコスメディ製薬が共同開発した親水性ゲルパッチを応用した貼るワク

図2 親水性ゲルパッチを用いた貼るワクチン



- A. 抗原タンパク質（赤色蛍光標識）水溶液を滴下して30分後の親水性ゲルパッチ断面の顕微鏡写真
 B. 親水性ゲルパッチのヒト上腕内側皮膚への貼付写真
 C. 破傷風・ジフテリアトキソイドを各2 mg含有した5 cm×8 cmの親水性ゲルパッチをヒト上腕内側皮膚に24時間貼付した。貼付前ならびに貼付60日後に血中の抗トキソイド抗体価をELISA法により測定した。

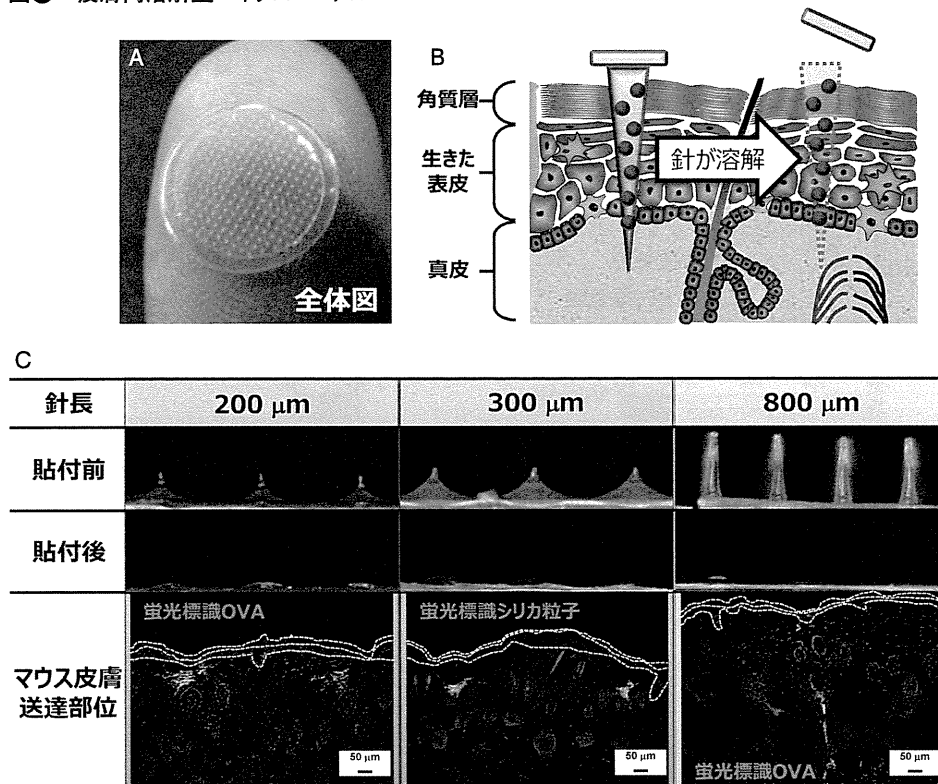
（グラビア頁参照）

チンは、皮膚の前処理やアジュバントの併用をすることなく抗原特異的な抗体産生を誘導できる点で画期的である⁵⁾⁻⁶⁾。親水性ゲルパッチはアクリル酸エステル系粘着基剤をベースに、湿潤剤、吸収促進剤などすでに医薬品および化粧品においてヒトに適用されている安全性の高い材料を配合して作製している。また、本パッチの皮膚貼付面に抗原タンパク質水溶液を滴下すると、水分のみが高分子ゲル体に吸収されてパッチ表面に抗原タンパク質の濃縮層が形成される（図2A）。このように、抗原を含浸させた状態で取り扱うことができるために、輸送・保管が容易になると考えられる。

親水性ゲルパッチによる抗原分子の角質層透過機構の1つとして、パッチの角質層に対する水和効果が挙げられる。すなわちパッチを皮膚に貼付すると、皮膚からの水分蒸散が妨げられ、角質層の水分含量が増大する。そ

れによって角質層の細胞間隙を構成する脂質二重層の構造が緩み、水溶性の高分子が角質層へと分配しやすくなると考えられる。またもう1つの機構としては、パッチを用いることにより皮膚表面の抗原濃度勾配が増大できることが挙げられる。抗原濃縮層が形成されたパッチを皮膚に貼付すると、角質層にワクチン抗原が分配し、皮膚表面に大きな抗原濃度勾配が現出される。これが単純拡散の駆動力となって抗原の角質層透過が促進されると考えられる。これまでに、角質層を透過した抗原を捕食したLCが免疫誘導の場である所属リンパ節へ遊走していることを確認するとともに⁵⁾、破傷風・ジフテリアトキソイドを含有した親水性ゲルパッチを用いた経皮ワクチンが中和活性を有する抗原特異的なIgG抗体を誘導することを明らかにしている⁶⁾。さらに、抗原含有パッチを貼付した皮膚局所に顕著な刺激性は認められなかった

図③ 皮膚内溶解型マイクロニードル



- A. 皮膚内溶解型マイクロニードルの全体像。面積は0.8 cm²であり、生体適合性に優れたヒアルロン酸を主成分として形成された200本の微小な針を有する。
- B. 皮膚内溶解型マイクロニードルの抗原送達機構。穿刺された針部が皮膚内の水分によって溶解し、装填された抗原を角質層下へと送達する。
- C. 針部の長さおよび形状が異なる3種類の皮膚内溶解型マイクロニードルに蛍光標識OVAあるいは蛍光標識シリカ粒子を装填し、マウス背部皮膚に6時間貼付した。貼付部位の皮膚を回収し、凍結切片を作製後、蛍光顕微鏡により観察した。

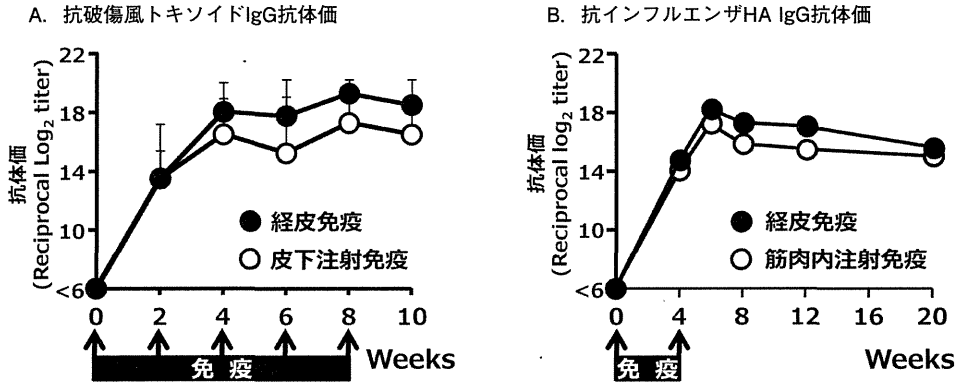
(グラビア頁参照)

こと、各種血液検査や病理組織学的検査などにおいても異常が認められなかったことから、本経皮ワクチン製剤は安全性にも優れることが確認された⁹⁾。

さらに筆者らは、これらの結果に基づき、破傷風・ジフテリア経皮ワクチンの安全性・有効性をヒトにおいて検証する臨床研究を奈良県立医科大学 浅田秀夫先生のご協力を得て実施した⁹⁾。破傷風・ジフテリアトキソイドをそれぞれ2 mg含有した親水性ゲルパッチ製剤(5 cm×8 cm)を作製し、ヒト上腕内側皮膚に24時間貼付した(図②B)。その結果、本製剤がヒトにおいても顕著な副反応を示すことなく、各トキソイド特異的抗体価を上昇させることを明らかとした(図②C)。このよ

うに筆者らの親水性ゲルパッチは、早期実用化が期待できる非常に有用な新規経皮ワクチンデバイスであることが示された。しかしながら、今回臨床研究で用いた親水性ゲルパッチには、各トキソイドを2 mgという大用量で使用している。そのため、簡便かつ安全だけでなく安価でより有効な経皮ワクチン製剤の実用化に向けては、抗原の角質層透過効率に優れた親水性ゲルパッチ、ならびに免疫増強効果を図るための臨床応用可能な経皮アジュバントの開発をしていかなければならない。また、製剤安定性の評価、製剤製造法の樹立や品質試験法の確立など、「貼るワクチン」の製品化・実用化に向けた取り組みを推進していく必要がある。

図4 マイクロニードルを用いた貼るワクチンの有効性



- A. 破傷風トキソイドを10 μ g装填した針長800 μ mのマイクロニードルパッチをラット背部皮膚に6時間貼付した。対照群のラットには同量の破傷風トキソイドを背部皮下注射した。これらの免疫操作を2週間隔で5回繰り返し、経時的に血中の抗トキソイド抗体価をELISA法により測定した。
- B. インフルエンザHA抗原 (A/Brisbane/59/2007 (H1N1)) を0.4 μ g装填した針長800 μ mのマイクロニードルパッチをマウス背部皮膚に6時間貼付した。対照群のマウスには同量のインフルエンザHA抗原を大腿部筋肉内注射した。これらの免疫操作を4週間隔で2回実施し、経時的に血中の抗HA抗体価をELISA法により測定した。

Ⅲ. マイクロニードルを用いた「貼るワクチン」の開発

親水性ゲルパッチは水溶性抗原物質の角質層への分配とその後の単純拡散を増大することによってLCへの送達効率を上昇させるため、抗原物質が水に不溶性あるいは懸濁された粒子状形態の場合には適用が困難である。ところが、注射型ワクチン製剤として実用化されている抗原の多くは、無毒・弱毒化したウイルスや細菌、あるいはそれら病原体由来コンポーネントの凝集体といった粒子状形態であり、親水性ゲルパッチに適用可能なワクチン抗原は限定されてしまう。そこで、経皮ワクチン製剤の適応を拡大するためには、不溶性ならびに粒子状ワクチン抗原にも対応しうる新たな経皮ワクチンデバイスが必要とされる。

このような背景のもと、微小な針により角質層に孔をあけることで抗原を送達するマイクロニードル法を用いた経皮ワクチンが考案された¹⁰⁾。この方法は神経終末が存在する真皮の深部にまで針が到達しないことから痛みを伴わず、またマイクロニードル製剤を貼るだけという簡便な操作でワクチンすることができる利点がある。さらに、抗原透過のバリアとなる角質層を物理的に突破するため、様々なワクチン抗原に対応可能な新規経皮ワ

クチンデリバリー技術として注目を集めている。しかし、開発中の大半のマイクロニードルは金属製あるいはシリコン製のニードルアレイを用いており、皮膚内でその針が折れて残存するという危険性があることが克服すべき最大の課題とされている。筆者らと共同研究を行っているコスメディ製薬は、生体適合性に優れた高分子を素材とした皮膚内溶解型マイクロニードルの開発に成功し、簡便性・安全性に優れた経皮ワクチンへの応用が注目を集めている (図3A)¹¹⁾¹²⁾。筆者らの皮膚内溶解型マイクロニードルはヒアルロン酸が主成分であり、穿刺された針部が皮膚内の水分によって溶解し、装填されていた抗原を角質層下へ安全に送達できることが期待された (図3B)。実際に、抗原装填皮膚内溶解型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、装填物質の形状が可溶性分子、不溶性粒子にかかわらず、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 (図3C)¹¹⁾。さらに、可溶性抗原である破傷風・トキソイドのみならず、粒子状抗原であるインフルエンザHA抗原を装填したマイクロニードルパッチにおいても動物皮膚に貼付することで抗原特異的抗体産生が誘導され、その抗体価は注射群よりもわずかではあるが高値を示すことが明らかとなった (図4)¹²⁾。ヒアルロン酸を主体とする本マイクロニードルを用いた経

皮投与では、皮内注射と比較して皮膚組織内における抗原の滞留性が高まっていることを確認しており、強力な免疫応答誘導に寄与していると考えている。これらの成果に基づき、すでに筆者らは本デバイスのヒトへの適用を検証する臨床研究を開始しており、抗原装填マイクロニードルパッチが皮下注射とほぼ同等の抗体産生を誘導することを確認している。現在さらに詳細な解析を進めている段階であるが、本経皮ワクチン製剤は実用化に適う画期的な新規ワクチン製剤であると言える。

● おわりに ●

DDS技術を基盤とした経皮ワクチンが考案・開発されている中、ゲルパッチ製剤ならびにマイクロニードルパッチ製剤を用いた経皮免疫製剤による「貼るワクチン」の研究開発に期待が寄せられ、その早期実用化が待望されている。筆者らが独自に開発した親水性ゲルパッチを用いた「貼るワクチン」は、従来までの注射に代わる新規剤型ワクチンとして、接種を簡便・安全にする非常に

有用なアプローチであり、臨床応用の一歩前の段階にある。また、多種多様な抗原に適用できる皮膚内溶解型マイクロニードルを応用した経皮ワクチン製剤に関しても、すでに臨床研究へと展開し、ヒトにおける有用性を見出している。簡便性・普及性に優れる経皮ワクチン製剤「貼るワクチン」が実用化されれば、乳幼児へ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施行、開発途上国へのワクチン普及に大きく貢献できるものと期待する。

謝辞

本稿にて紹介した研究内容は、「先駆的医薬品・医療機器研究発掘支援事業（独立行政法人医薬基盤研究所）」ならびに「厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）」からの研究助成によるものであり、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。また、破傷風・ジフテリアトキソイドおよびインフルエンザHA抗原を快く提供していただきました一般財団法人阪大微生物病研究会に深謝いたします。

参考文献

- 1) Barry BW : Nat Biotechnol 22, 165-167, 2004.
- 2) Giudice EL, Campbell JD : Adv Drug Deliv Rev 58, 68-89, 2006.
- 3) Glenn GM, Taylor DN, et al : Nat Med 6, 1403-1406, 2000.
- 4) Naito S, Maeyama J, et al : Vaccine 25, 8762-8770, 2007.
- 5) Ishii Y, Nakae T, et al : J Control Release 131, 113-120, 2008.
- 6) Matsuo K, Ishii Y, et al : J Control Release 149, 15-20, 2011.
- 7) Matsuo K, Ishii Y, et al : Biol Pharm Bull 34, 586-589, 2011.
- 8) Matsuo K, Ishii Y, et al : Biol Pharm Bull 34, 1835-1840, 2011.
- 9) Hirobe S, Matsuo K, et al : Vaccine 30, 1847-1854, 2012.
- 10) Prausnitz MR : Adv Drug Deliv Rev 56, 581-587, 2004.
- 11) Matsuo K, Yokota Y, et al : J Control Release 161, 10-17, 2012.
- 12) Matsuo K, Hirobe S, et al : J Control Release 160, 495-501, 2012.

参考ホームページ

・大阪大学大学院薬学研究科薬剤学分野
<http://www.phs.osaka-u.ac.jp/homepage/b011/index.html>

● 廣部祥子

2012年 大阪大学薬学部薬学科卒業
同大学院薬学研究科博士課程中退
同大学院薬学研究科薬剤学分野助教

アルツハイマー型認知症に対する経皮ワクチン療法

松尾一彦^{*1}, 岡田直貴^{*2}, 中川晋作^{*3}

* 1 大阪大学 薬学研究科 薬剤学分野 特任研究員

* 2 大阪大学 薬学研究科 薬剤学分野 准教授

* 3 大阪大学 薬学研究科 薬剤学分野 教授

『ドラッグデリバリーシステムの新展開Ⅱ』

2012年3月発行

株式会社シーエムシー出版

2 アルツハイマー型認知症に対する経皮ワクチン療法

松尾一彦*1, 岡田直貴*2, 中川晋作*3

2.1 はじめに

認知症は老年人口の約10%が罹患すると言われており、その原因の60%を占めるのがアルツハイマー型認知症 (Alzheimer's disease; AD) である。ADは記憶障害を中心に、種々の認知機能が徐々に冒される神経変性疾患であり、患者のQOLを著しく低下させるとともに、介護する家族の負担も大きい。老年人口が総人口の20%を超える超高齢化社会を迎えた我が国においては、ADをはじめとする種々の神経変性疾患に対する治療法の確立が急務となる。現在実用化されているADに対する治療薬としては、ドネペジル塩酸塩 (アリセプト; エーザイ), リバスタチグミン (リバスタッチパッチ; 小野薬品/イクセロンパッチ; ノバルティスファーマ), ガランタミン臭化水素酸塩 (レミニール), メマンチン (メモリー; 第一三共) があるが、これらはADの進行を抑制あるいは遅延させるものではなく、AD様症状を緩和するいわば対症療法に過ぎない。近年、ADの分子メカニズムの解明研究が進展し、それに即した新規治療戦略が考案されつつある。本総説では、「アミロイドカスケード仮説」について概説するとともに、それに基づく新たなAD治療法と筆者らの取り組みについて紹介する。

2.2 アミロイドカスケード仮説

ADの分子病態メカニズムの解明が進展し、脳内アミロイド β ($A\beta$) の蓄積・凝集が神経細胞機能障害ひいては認知機能障害の発端であるとする「アミロイドカスケード仮説」が広く支持されている (図1)¹⁾。 $A\beta$ は神経細胞の1回膜貫通蛋白質であるアミロイド前駆蛋白質から酵素 (β -secretase と γ -secretase) により切り出され、40アミノ酸からなる $A\beta_{1-40}$ と42アミノ酸からなる $A\beta_{1-42}$ とに分けられる。加齢あるいは遺伝的要因から、これらはオリゴマーを形成し、さらに凝集することで不溶性 $A\beta$ となり脳内に沈着する (老人斑の形成)。特に、 $A\beta$ オリゴマーが強い細胞傷害性を発揮することが報告されており²⁾、そのメカニズムとしては、①ユビキチン依存性蛋白質分解の抑制³⁾、②シナプス機能障害⁴⁾、③過リン酸化タウ蛋白質の増加⁵⁾、④細胞内カルシウム濃度の増加⁶⁾、⑤ミトコンドリア傷害⁷⁾、などが挙げられる。すなわち、 $A\beta$ の凝集・蓄積がタウ蛋白質の異常ひいては神経細胞死などの二次的病変を連鎖的に誘発し、最終的に認知機能障害を引き起こすと考えられている。

2.3 $A\beta$ を標的としたADに対する治療戦略

アミロイドカスケード仮説に基づいた治療戦略の確立がADの進行を抑制しうる治療薬の開

*1 Kazuhiko Matsuo 大阪大学 薬学研究科 薬剤学分野 特任研究員

*2 Naoki Okada 大阪大学 薬学研究科 薬剤学分野 准教授

*3 Shinsaku Nakagawa 大阪大学 薬学研究科 薬剤学分野 教授