

- 12) Cassaday RD, et al. *Clin. Cancer Res.* **13**, 540-9 (2007)
- 13) Wang R, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**, 10817-22 (2001)
- 14) Epstein JE, et al. *Hum. Gene. Ther.* **13**, 1551-60 (2002)
- 15) Aboud S, et al. *Clin. vaccine immunol.* **17**, 1124-31 (2010)
- 16) Williams J, et al. *Vaccine* **18**, 1939-43 (2000)
- 17) Frech SA, et al. *Lancet* **371**, 2019-25 (2008)
- 18) Frech SA, et al. *Vaccine* **23**, 946-50 (2005)
- 19) Vogt A, et al. *J. Immunol.* **180**, 1482-9 (2008)
- 20) Combadiere B, et al. *PLoS one* **5**, e10818 (2010)
- 21) Yagi H, et al. *Can. Res.* **66**, 10136-44 (2006)
- 22) Ishii Y, et al. *J. Control. Release* **131**, 113-20 (2008)
- 23) Matsuo K, et al. *J. Control. Release* **149**, 15-20 (2011)
- 24) Matsuo K, et al. *Biol. Pharm. Bull.* **34**, 1835-40 (2011)
- 25) Matsuo K, et al. *Biol. Pharm. Bull.* **34**, 586-9 (2011)
- 26) Matsuo K, et al. *J. Pharm. Sci.* **102**, 1936-47 (2013)
- 27) Hirobe S, et al. *Vaccine* **30**, 1847-54 (2012)
- 28) Prausnitz MR. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **56**, 581-7 (2004)
- 29) Henry S, et al. *J. Pharm. Sci.* **87**, 922-5 (1998)
- 30) Van Damme P, et al. *Vaccine* **27**, 454-9 (2009)
- 31) Matriano JA, et al. *Pharm. Res.* **19**, 63-70 (2002)
- 32) Sullivan SP, et al. *Nat. Med.* **16**, 915-20 (2010)
- 33) Matsuo K, et al. *J. Control. Release* **161**, 10-7 (2012)
- 34) Matsuo K, et al. *J. Control. Release* **160**, 495-501 (2012)
- 35) Hiraishi Y, et al. *Int. J. Pharm.* **441**, 570-9 (2013)
- 36) Hirobe S, et al. *Pharm. Res.* in press

別刷り

応用が広がる DDS

人体環境から農業・家電まで

第1編 人体環境における DDS 医薬の学問的基礎と応用展開

第1章 医学・薬学を中心とした学問的基礎

第9節 次世代ワクチンの DDS

3 経皮ワクチン

大阪大学 廣部 祥子

大阪大学 岡田 直貴

大阪大学 中川 晋作

「応用が広がるDDS—人体環境から農業・家電まで—」(2013年7月8日 株式会社エヌ・ティー・エス 刊)



第9節

次世代ワクチンの DDS

3 経皮ワクチン

1. はじめに

ワクチンは感染症に対する根本的な予防法であり、多くの人々の命を感染症から守ってきた輝かしい実績を有する医療技術である。しかしながら、現行の予防接種の大半は注射型製剤であり、投与に医療従事者が必要、注射針を介した二次感染の危険性、注射剤の輸送・保管にコールドチェーンが不可欠など、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、ワクチンによる感染症対策を推進するためには、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必要とされており、さまざまなアプローチによる皮膚をターゲットとした経皮ワクチン手法の開発が進められている。

2. 免疫組織としての皮膚

皮膚は、ワクチンの投与部位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物質透過を制限する物理的バリアーとして機能している。また、皮膚は物理的バリアーとしてだけでなく、生体を守る免疫系が高度に発達した「免疫学的バリアー」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、増殖因子を産生・分泌するケラチノサイトが90%以上を占めており、異物侵入に対する自然免疫の誘導に関わっている。そして、皮膚には免疫応答の要となる抗原提示細胞(APC)として、生きた表皮にランゲルハンス細胞(LC)が、真皮には真皮樹状細胞(dDC)が常在し、免疫監視機構において非常に重要な役割を担っている。LCは液性免疫を強く誘導することが報告されており、一方でdDCはクロスプレゼンテーションにより細胞性免疫を活性化する可能性を秘めている¹⁾。このように、皮膚には深度によって異なる性質を有するAPCが存在し、これらを標的とする経皮ワクチンはさまざまな免疫応答を惹起可能な優れたワクチン手法であるといえる。LCならびにdDCは、異物を認識・捕食した後に免疫誘導の場である所属リンパ節へと遊走し、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皮膚内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。

3. 経皮ワクチンデリバリー技術の発展

上述のとおり、皮膚には物質透過のバリアー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いわれている²⁾。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、皮膚内に常在するAPC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

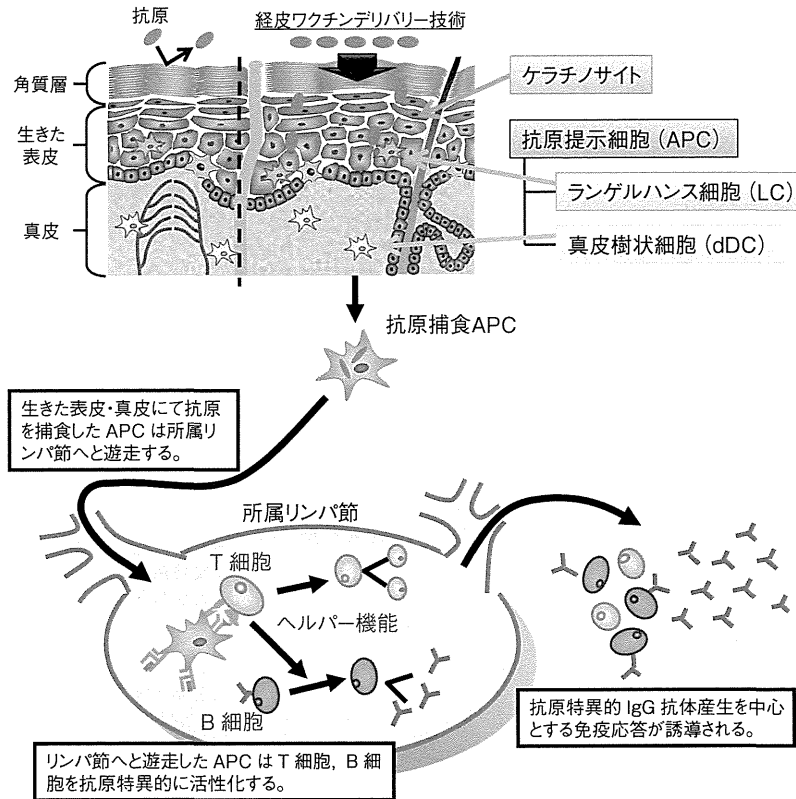


図1 経皮免疫誘導メカニズム

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LC、真皮にはdDC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。

でワクチンを送達し、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。

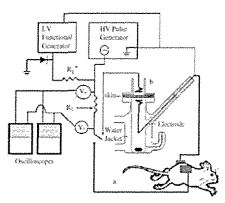
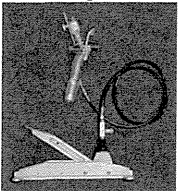
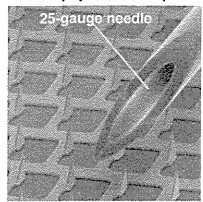
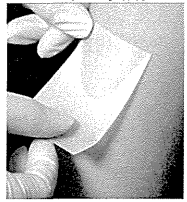
具体例としては、超音波を水溶液などの媒体を介して当てることで抗原の皮膚透過を高めるソノフォレシス法³⁾や皮膚への電圧負荷により一時的に角質層に孔をあけるエレクトロポレーション法⁴⁾、空気の圧力によって抗原を注入するジェット・インジェクター法^{5),6)}などが挙げられる(表1)。これらの手法によって確かに抗原が角質層を透過して生きた表皮にまで送達されることが実証されており、抗原特異的IgG抗体価の上昇が認められている。しかし、ソノフォレシス法やエレクトロポレーション法は、特殊な装置を必要とすることから簡便性に乏しく、コストが高いために、今のところ実用化までにはいたっていない。また、無針注射法としてジェット・インジェクターはヒトに対して使用された実績を有

するが、神経線維の損傷が多発したことや痛みが大きい投与方法であることが普及を困難としている。現在ではより簡便で安全な経皮ワクチン手法の開発が行われており、まさに皮膚に貼るだけという簡便な操作で免疫応答を誘導することができるパッチやマイクロニードルを用いた経皮ワクチン製剤の研究開発に注目が集まっている。

4. 親水性ゲルパッチを用いた経皮ワクチン

特殊な装置を必要とせず、まさに皮膚に貼るだけという簡便な操作で抗原特異的な免疫応答を誘導できる粘着性パッチおよびガーゼパッチの研究開発がIOMAI社(2008年にIntercell社により買収)および国立感染症研究所により報告されている^{7),8)}(表

表1 経皮デリバリー技術を用いた経皮ワクチンの研究開発

経皮ワクチンデリバリー技術	方法	○利点 ×欠点
<p>エレクトロポレーション</p>  <p>Ref. 4</p>	<p>正負の両電極間に負荷する電圧により、一時的に皮膚に孔を生じさせることで、抗原の角質層透過を促進する</p>	<p>○抗原送達とともに免疫担当細胞を活性化できる</p> <p>×高コスト ×安全性に問題がある ×特殊な装置が必要</p>
<p>ジェット・インジェクター</p>  <p>Ref. 6</p>	<p>特殊なデバイスを用いて、圧力によって抗原を皮膚内に注入する</p>	<p>○ワクチン投与が迅速 ○輸送・保管が容易</p> <p>×投与時に痛みを伴う ×特殊なデバイスが必要 ×高コスト</p>
<p>マイクロニードル</p>  <p>Ref. 19</p>	<p>微小な針を用いて、角質層に孔をあけ、抗原を皮膚内へと送達する</p>	<p>○痛みを伴わない ○投与が簡便 ○輸送、管理、備蓄が容易</p> <p>×針の皮膚内残存の危険性 ×製造技術の確立が必要</p>
<p>パッチ製剤</p>  <p>Ref. 13</p>	<p>抗原を含んだガーゼパッチあるいは粘着性パッチを皮膚に貼付して、抗原を送達する</p>	<p>○痛みを伴わない ○輸送、管理、備蓄が容易 ○投与が簡便</p> <p>×抗原の利用率が低い</p>

1)。しかしながら、これらの経皮ワクチン製剤は抗原を十分に浸透させるために、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する。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、簡便性に欠けており、また注射型ワクチンと同様に抗原溶液の輸送や保管にコールドチェーンを必要とするなど、開発途上国へのワクチン普及を推し進めるためにはさらなる改良を加える必要がある。

筆者らがコスメディ製薬(株)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は、皮膚の前処理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^{9)~12)}。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、吸収促進剤など既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。親水性ゲルパッチの貼付により角質層が水和することで、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。これにより現出した皮膚表面の抗原濃度勾配が単純拡散の駆動力となって抗原の皮膚内送達を促進させることが抗原分子の角質層透過機構として挙げられる。実際に、抗原含有親水性ゲルパッチをマウス耳介皮膚に貼付すると、抗原は角質層を透過して表皮組織にまで到達する(図2(b))。角質層下に送達された抗原はAPCにより捕食され、そのAPCが免疫誘導の場である所属リンパ節へと遊走し、抗原特異的免疫応答を誘導することを確認している⁹⁾。

親水性ゲルパッチを用いて破傷風・ジフテリア感染症モデルにおける経皮ワクチンシステムの有効性について検証したところ、トキシイド含有親水性ゲルパッチの貼付により各トキシイド特異的なIgG抗体が産生され、それらが各毒素に対する中和活性を有することが確認された¹⁰⁾。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ず、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。これら動物モデルにおける結果をもとに、筆者らは破傷風・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¹³⁾。破傷風・ジフテリアトキシイドを含有させた親水性ゲルパッチ

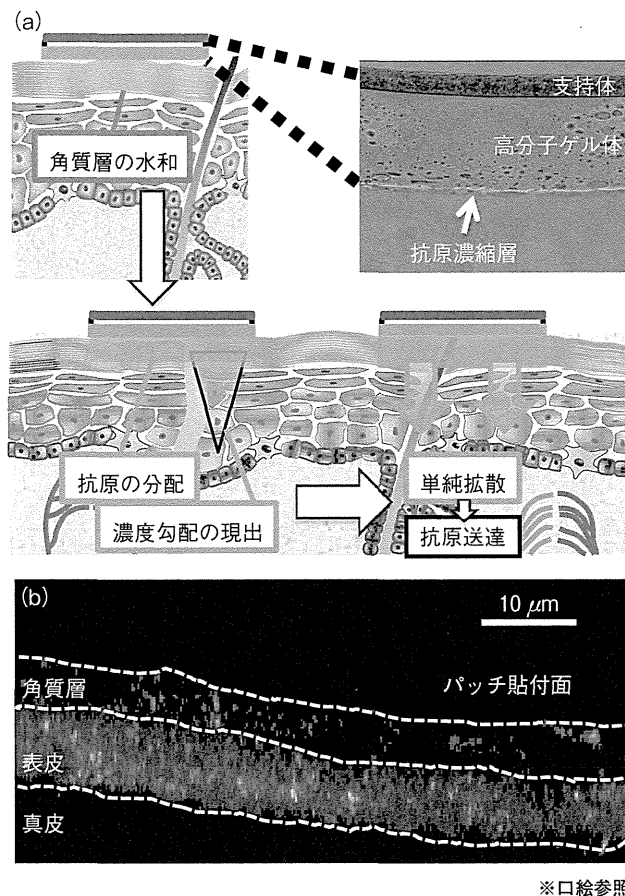


図2 親水性ゲルパッチ

- (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と親水性ゲルパッチによる抗原の角質層透過機構の模式図。
- (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、LC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。

製剤 (5 cm × 8 cm) を作製し (図 3 (a)), ヒト上腕内側皮膚に 24 時間貼付した (図 3 (b))。その結果, 抗原含有ゲルパッチ製剤の貼付により皮膚局所ならびに全身性の重篤な副反応は認められず, 各トキソイドに対する抗体価はヒトにおいても有意に上昇することが明らかとなった (図 3 (c))。このように, 2 種類の抗原それぞれに対して抗原特異的抗体価の上昇が確認されたことから, 親水性ゲルパッチは混合ワクチンに適用できるデバイスであることが明らかとなり, 予防接種の負担軽減やコスト低減に貢献すると考えられる。また, 抗原含有ゲルパッチ製剤はただ貼るだけで分子量 150 kDa にもなる巨大な分子である破傷風トキソイドを皮膚内へ送達しており, 高分子である蛋白質の角質層透過を促進する画

期的な製剤であることが実証された。本邦では多くの人が, 乳幼児期の破傷風・ジフテリアトキソイドワクチンの接種により抗トキソイド抗体を有している。その抗体価は年齢を重ねるとともに低下するといわれており, 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な新規ワクチン製剤であるといえる。

しかしながら, 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, 筆者らの親水性ゲルパッチについても, 十分な抗原を皮膚内へ送達するためには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, 注射に比べて抗原の利用率が低いのが現状である。そのた

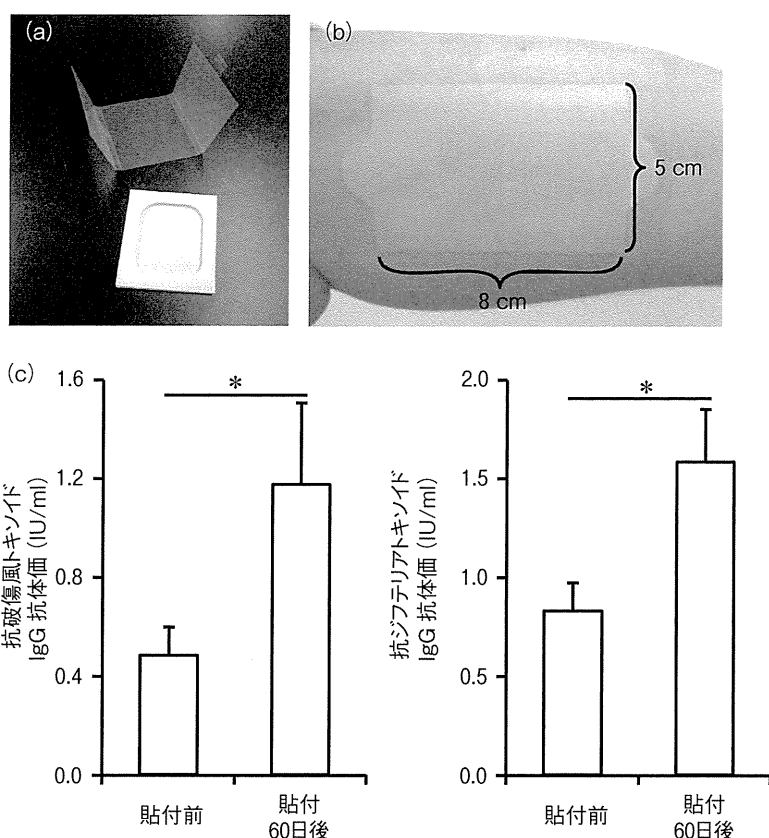


図 3 親水性ゲルパッチを用いた経皮ワクチンの臨床研究

- (a) 製品化を志向した親水性ゲルパッチの形状と包装。
 (b) 5 cm × 8 cm の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)

め、簡便かつ安全な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・実用化に向けた取組みを推進していくことが重要である。

5. 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を増大することによって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（BCG、麻疹ワクチン等）、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抗原等）といった粒子状形態であるため、親水性ゲルパッチに適応可能なワクチン抗原は限定されてしまう（表2）。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。

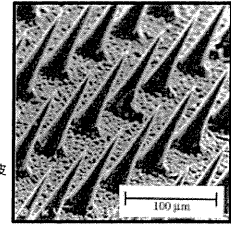
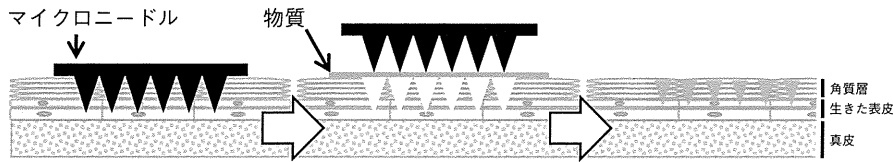
そこで筆者らは、微小な針により角質層に孔をあけることで物質を送達するマイクロニードル法を用いた経皮ワクチンの開発に着目した¹⁴⁾。この方法は神経終末が存在する真皮の深部にまで針が到達し

ないことから、痛みを伴わずにワクチン投与ができる。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、さまざま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期待されている。マイクロニードルという概念は1976年にGerstelとPlaceらによってはじめて報告されて以来¹⁵⁾、製造技術が困難であることから費用対効果の面が問題となり開発研究は停滞していた。しかしながら、1990年代になって電子工業が発展することで微細加工技術が容易になり、現在ではさまざまなマイクロニードルの開発が進められている。これまでに開発されてきたマイクロニードルは、経皮送達機構や構成材料の種類によってさまざまなタイプに分類される。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、マイクロニードルで処置した皮膚に対してワクチン抗原を塗布する（図4(a)¹⁶⁾、微小針の中空から抗原溶液を注入する（図4(b)¹⁷⁾、微小針にワクチン抗原を吸着させて経皮送達する（図4(c)^{18), 19)}、といった方法がある。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いるが、微小針が生体内で折れ残り、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、実用化するうえで大きな課題を抱えている。そこで近年では、第二世代マイクロニードルとして、ポリ乳酸（PLA）、ポリグリコール酸（PGA）、ポリ乳酸・グリコール酸（PLGA）といった生分解性バイオポリマーやヒアルロン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（図4(d)^{20), 21)}。これらは生体適合性に優れる構成素材

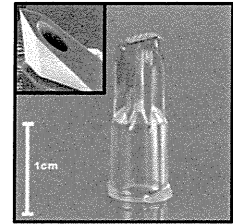
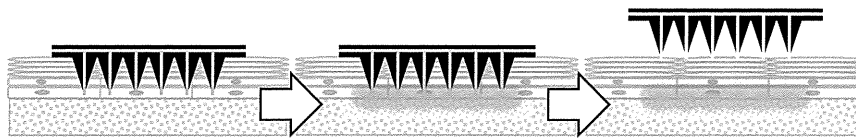
表2 臨床で使用されているワクチン

分類	生ワクチン	不活化ワクチン	
成分	無毒化あるいは弱毒化した病原体	化学処理などにより死んだ病原体 不活化した毒素（トキソイド） 病原体の抗原部分（コンポーネント）	
抗原形態	粒子状抗原		水溶性タンパク質抗原
例	BCG 麻疹ワクチン 風疹ワクチン おたふく風邪ワクチン 水痘ワクチン 黄熱病ワクチン	インフルエンザワクチン コレラワクチン 狂犬病ワクチン 日本脳炎ワクチン A型肝炎ウイルスワクチン B型肝炎ウイルスワクチン	百日咳ワクチン ジフテリアワクチン 破傷風ワクチン

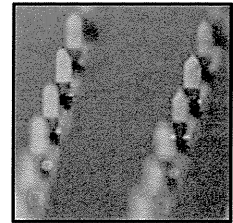
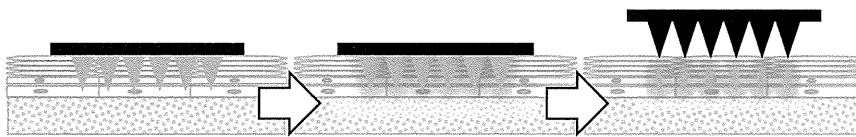
(a) マイクロニードルの貼付により生じた穿刺孔を介して抗原を皮膚内へと送達する



(b) 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



(c) 抗原をコーティングしたマイクロニードルを貼付し、抗原を皮膚内へと拡散させる



(d) 抗原をコーティングあるいは装填したマイクロニードルを貼付し、微小針の溶解とともに皮膚内へと抗原を送達する

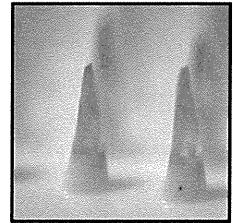
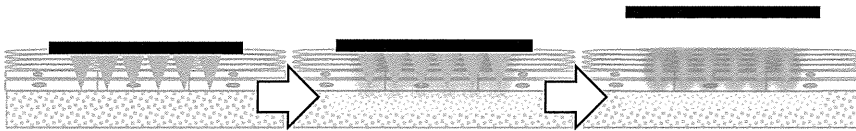


図4 マイクロニードルデバイスの種類

- (a) シリコン製マイクロニードル¹⁶⁾。
- (b) シリコン製中空マイクロニードル (NanoPass)¹⁷⁾。
- (c) ステンレス製コーティング用マイクロニードル¹⁸⁾。
- (d) ポピドン主体溶解型マイクロニードル²⁰⁾。

を使用し、微小針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ことができるという特徴を有する。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・実用化が待望されている。

筆者らはコスメディ製薬(株)との共同研究により、

独自の皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた経皮ワクチン製剤の開発に成功している(図5(a))。この第二世代マイクロニードル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、針長が200 μmのマイクロニードルは、すでに化粧品として上市・販売されていることから、医薬品のデバイスとしてもヒトへの適用が期待できる。本マイクロニードル

の微小針は皮膚内へと挿入された後、水分を吸収することによって溶解し、装填した抗原を角質層下へと容易に送達するように設計されている。実際に、針長 $800\ \mu\text{m}$ の皮膚内溶解型マイクロニードルをラット背部皮膚に貼付すると、針は皮膚内で溶解しており (図 5 (b)), 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が確認された (図 5 (c))²¹⁾。また、微小針の形状や長さは自由に制御することができ、針部の長さ依存して抗原を送達する部位が異なることを確認しており、皮膚内への物質送達においてその深度までも制御可能であることが示唆された。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

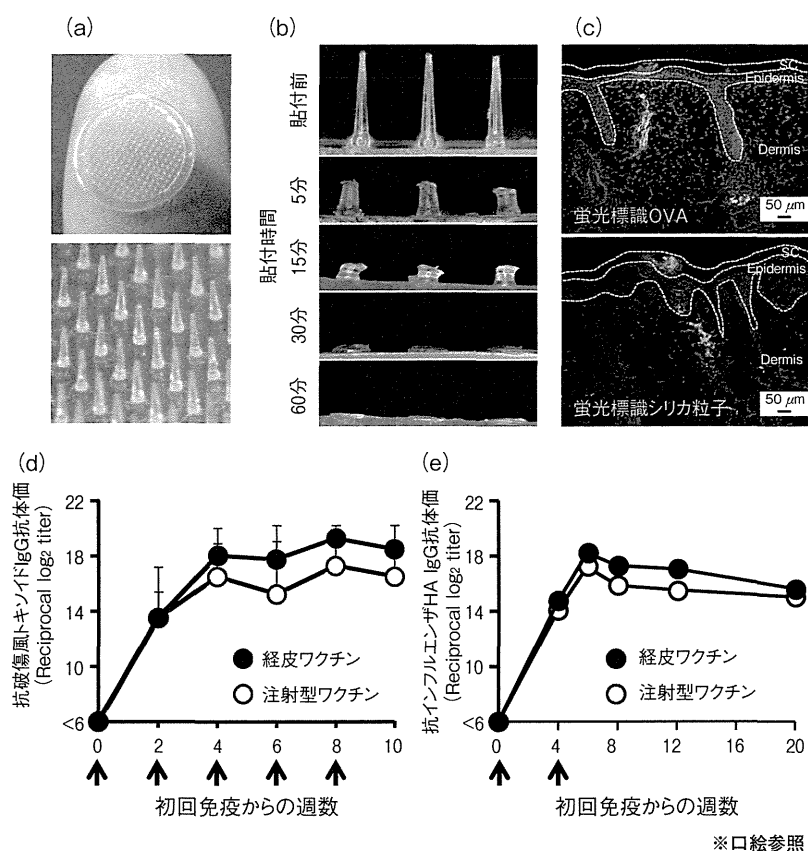


図 5 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた経皮ワクチン

- (a) 皮膚内溶解型マイクロニードル。面積は $0.8\ \text{cm}^2$ 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微小な針を 200 本有する。
- (b) 針長 $800\ \mu\text{m}$ 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, 15, 30 あるいは 60 分間貼付し、剥離後のマイクロニードルパッチを実体顕微鏡により観察した。
- (c) 針長 $800\ \mu\text{m}$ 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。
- (d) 破傷風トキソイドを $10\ \mu\text{g}$ 装填した針長 $800\ \mu\text{m}$ 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。これらのワクチン投与を 2 週間隔で 5 回繰り返し (図中の \uparrow)、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 \log_2 titer として表した。
- (e) インフルエンザ HA 抗原 (A/Brisbane/59/2007 (H1N1)) を $0.2\ \mu\text{g}$ 装填した針長 $800\ \mu\text{m}$ 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。これらのワクチン投与を 4 週間隔で 2 回実施し (図中の \uparrow)、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 \log_2 titer として表した。

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背部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に高値を示すことが明らかとなった(図5(d), (e))²²⁾。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。現在欧米のみならず、本邦においても副甲状腺ホルモンによる骨粗鬆症治療に対して新規剤形であるマイクロニードルを用いた医薬品の治験が開始されつつあり、新規経皮デバイスの臨床応用は近い将来実現すると考えられる。抗原装填マイクロニードルパッチの臨床研究に関して、今後さらなる詳細な解析を進めていき、画期的な新規ワクチン製剤の実用化を目指す。

6. 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、皮膚に貼るだけでワクチン施行が可能なパッチ製剤ならびにマイクロニードル製剤を用いた経皮ワクチンの研究開発に期待が寄せられている。筆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。これらの研究成果は世界初の経皮ワクチンの実現を大きく前進させるものであり、「貼るワクチン」の実用化に向けた安全性・有効性評価ガイドラインの作成に有益な情報を与えるものと言える。簡便性・普及性に優れる経皮ワクチン製剤が実用化されれば、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)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) 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、(一財)阪大微生物病研究会に深謝いたします。

【引用・参考文献】

- 1) J. Valladeau, S. Saeland : *Semin. Immunol.*, **17**, 273 (2005).
- 2) B. W. Barry : *Nat. Biotechnol.*, **22**, 165 (2004).
- 3) A. Dahlan, et al. : *Int. J. Pharm.*, **368**, 123 (2009).
- 4) Y. L. Zhao, et al. : *Vaccine*, **24**, 1282 (2006).
- 5) L. A. Jackson, et al. : *Vaccine*, **19**, 4703 (2001).
- 6) K. Kelly, et al. : *Vaccine*, **26**, 1344 (2008).
- 7) G. M. Glenn, et al. : *Nat. Med.*, **6**, 1403 (2000).
- 8) S. Naito, et al. : *Vaccine*, **25**, 8762 (2007).
- 9) Y. Ishii, et al. : *J. Control. Release*, **131**, 113 (2008).
- 10) K. Matsuo, et al. : *J. Control. Release*, **149**, 15 (2011).
- 11) K. Matsuo, et al. : *Biol. Pharm. Bull.*, **34**, 586 (2011).
- 12) K. Matsuo, et al. : *Biol. Pharm. Bull.*, **34**, 1835 (2011).
- 13) S. Hirobe, et al. : *Vaccine*, **30**, 1847 (2012).
- 14) M. R. Prausnitz. : *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **56**, 581 (2004).
- 15) M. S. Gerstel, V. A. Place : *US Patent*, No. 3,964,482 (1976).
- 16) S. Henry, et al. : *J. Pharm. Sci.*, **87**, 922 (1998).
- 17) P. Van Damme, et al. : *Vaccine*, **27**, 454 (2009).
- 18) H. S. Gill, M. R. Prausnitz : *Pharm. Res.*, **24**, 1369 (2007).
- 19) J. A. Matriano, et al. : *Pharm. Res.*, **19**, 63 (2002).
- 20) S. P. Sullivan, et al. : *Nat. Med.*, **16**, 915 (2010).
- 21) K. Matsuo, et al. : *J. Control. Release*, **161**, 10 (2012).
- 22) K. Matsuo, et al. : *J. Control. Release*, **160**, 495 (2012).

〈廣部 祥子／岡田 直貴／中川 晋作〉

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製剤の開発

廣部祥子*¹, 岡田直貴*², 中川晋作*³

2.1 はじめに

感染症は細菌やウイルスなどの病原体によりもたらされる病気の総称であり、公衆衛生の改善や抗菌薬・抗ウイルス薬、そしてワクチンの開発が感染症の人類への影響を低減してきた。しかしながら、依然として感染症は世界における死亡原因の第一位を占めており、2009年のインフルエンザパンデミック騒動が記憶に新しいように、交通網の発達した現代においては国際的な視野での感染症対策が喫緊の課題となっている。このような社会的背景のもと、ワクチンは感染症に対する根本的予防における唯一の手段であることから、近年のワクチン研究領域においては各種感染症に対するワクチンの開発・改良のみならず、ワクチンを大量かつ迅速に製造・供給できる技術の開発や大規模接種を可能とするワクチン接種デバイスの開発、といった様々な取り組みが進められている。なかでも、簡便、安全、安価な新規ワクチン接種デバイスの開発は、全世界へとワクチンを普及させるために重要な研究課題として注目を集めている。これまでに実用化されたワクチンの大半は注射製剤として開発されており、接種に医療従事者を必要とする技術的な問題や、製造・輸送・保管における一貫した低温管理（cold chain）を必要とする費用的な問題が、開発途上国へのワクチン普及の大きな障壁となっている。また、注射投与は痛みを伴うとともに、注射針を介した二次感染の危険性や医療廃棄物の処理などの安全面での問題も有する。したがって、簡便性・普及性に一層優れた新規ワクチン手法の早期実用化が待望されており、筆者らはその一つとして単に皮膚に貼るだけで免疫応答を誘導可能な経皮ワクチン製剤「貼るワクチン」の開発を推進している。本稿では、経皮ワクチンデリバリー技術¹⁾として近年注目されているマイクロニードル法について概説するとともに、筆者らの皮膚内溶解型マイクロニードルを応用した「貼るワクチン」に関する研究成果を紹介する。

2.2 ワクチンの標的組織としての皮膚

皮膚は外側から、角質層、生きた表皮、真皮の3層に分けられる（図1）。角質層は、幾重にも重なった角質細胞によって構成されており、物理的バリアーとして外界からの異物侵入を防いでいる。そして、生きた表皮ならびに真皮にはそれぞれランゲルハンス細胞、真皮樹状細胞と呼ばれる抗原提示細胞（APC）が存在し、皮膚を介した細菌やウイルスなどの攻撃から生体を守る司令塔として機能している²⁾。また、生きた表皮の90%以上を占めているケラチノサイトは、サイトカインの産生・分泌を行うことで皮膚における免疫応答に関与する³⁾。経皮ワクチンは、これらの免疫担当細胞により形成される皮膚の免疫学的バリアーを利用する新規ワクチン手法である。

* 1 Sachiko Hirobe 大阪大学 大学院薬学研究科 薬剤学分野 助教

* 2 Naoki Okada 大阪大学 大学院薬学研究科 薬剤学分野 准教授

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

つまり、皮膚内のAPCへとワクチン抗原を送達することができれば、ワクチン抗原を捕食したAPCが所属リンパ節へと遊走し、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強力な免疫応答を惹起できると考えられる。

しかしながら、経皮ワクチンの開発において障害となるのが、前述した角質層の存在である。角質層はケラチンや繊維状タンパク質、さらにはセラミドや中性脂質から成り立っており、水溶性物質や分子量が500以上の物質の透過を制限している⁴⁾。現在実用化されているワクチンは、①弱毒化した生きたウイルスや細菌を用いる生ワクチン（BCG、麻疹ワクチンなど）、②病原性をなくした病原体全体あるいは病原性に関わる免疫原を用いる不活化ワクチン（日本脳炎ワクチン、インフルエンザHAワクチンなど）、③細菌が出す毒素の毒性をなくしたトキシド（ジフテリアトキシドなど）、などの高分子蛋白質や粒子状のコンポーネント、細菌やウイルス自体である。したがって、ワクチン抗原を単に皮膚表面に塗布するだけでは、皮膚内へと送達することができず、免疫応答を誘導することは困難である。

角質層下、主に真皮へと抗原を送達する古くからの手法が皮内注射である。インフルエンザワクチンにおいて、皮内注射は従来の筋肉内注射と比較して有効性が高いことが報告されている^{5,6)}。しかしながら、皮内注射は厚さ数mmの皮膚内に溶液を注入するといった熟練された技術を必要とする手法であることから、簡便に皮内投与できるデバイスの開発が求められていた。最近、皮内マイクロインジェクションデバイスとして開発されたSoluviaTM（Becton Dickinson）⁷⁾を用いた三価季節性インフルエンザワクチン製剤、Intanza[®]/IDflu[®]（Sanofi Pasteur SA）が上市され、皮膚を標的としたワクチンの有用性が示されつつある⁸⁾。しかし、Intanza[®]/IDflu[®]は抗原溶液が充填されたプレフィルドシリンジと使い捨てのマイクロインジェクションデバイスを連結して使用するものであり、従来の注射型ワクチン製剤と同様に抗原溶液の冷蔵管理が必要とされるとともに、医療廃棄物の発生が懸念される。また、長さ1.5 mmの針を用いるために、投与の際に痛みが生じるという欠点があり、経皮的に抗原を角質層下へ送達する新たなデバイスの開発が望まれている。

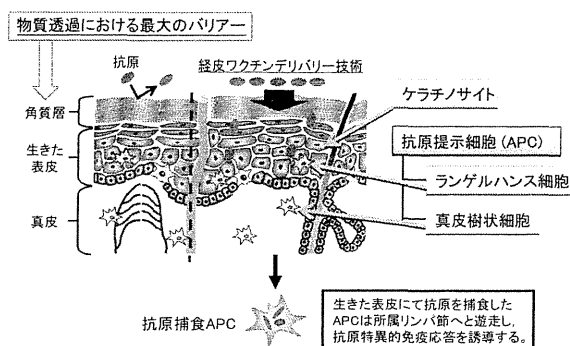


図1 経皮免疫誘導メカニズム

経皮デリバリー技術を用いることで角質層下に存在するAPCへとワクチン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、免疫応答を活性化する。

2.3 マイクロニードル法

マイクロニードル法は、微小な針により角質層に孔をあけることで物質を皮膚内へと送達する手法である。マイクロニードルは長さ1 mm以下の微小針であり、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、また貼るだけという簡便な操作でワクチンを接種できる。マイクロニードルという概念は1976年にGerstelとPlaceらによってはじめて報告されて以来⁹⁾、製造技術が困難であることから費用対効果の面が問題となり、開発研究は停滞していた。しかしながら、1990年代になって微細加工技術が発展したことで、現在ではさまざまなマイクロニードルの開発が進められている。

2.3.1 ソリッドマイクロニードル

ソリッドマイクロニードルはシリコンや金属などで作製された剣山のような微小針であり、これを貼付することで生じた穿刺孔を介してワクチン抗原を皮膚内へ送達することができる(図2A)¹⁰⁾。ワクチン抗原を塗布する前にマイクロニードルを貼付するだけで、無処置の皮膚と比較して高い抗体産生を誘導できることが確認されている¹¹⁾。また、皮膚にワクチン抗原を塗布した後にマイクロニードルを用いて皮膚表面を軽く引っ掻くことで、痛みなく免疫応答を惹起できる手法も報告されている¹²⁾。これらのマイクロニードル前処置あるいは後処置による経皮ワクチンは簡便な手法であるが、ワクチンの投与量やデバイスの貼付時間などの設定が難しいという課題がある。

2.3.2 中空マイクロニードル

先程のソリッドマイクロニードルを用いた経皮ワクチン手法では、ワクチンの皮膚内へのデリバリーはマイクロニードルによる穿刺孔を介した受動拡散に依存するため、投与ワクチン量を調整することは困難である。中空マイクロニードルは、注射針と同様にニードルの中心に空洞がある微小な針であり、シリンジやポンプを用いることで、その空洞を通して皮膚内の特定部位に一定量のワクチンを注入できる(図2B)。ヒトにおいて、インフルエンザワクチンを中空マイクロニードルにより経皮投与することで、従来型の筋肉内注射による投与よりも少ないワ

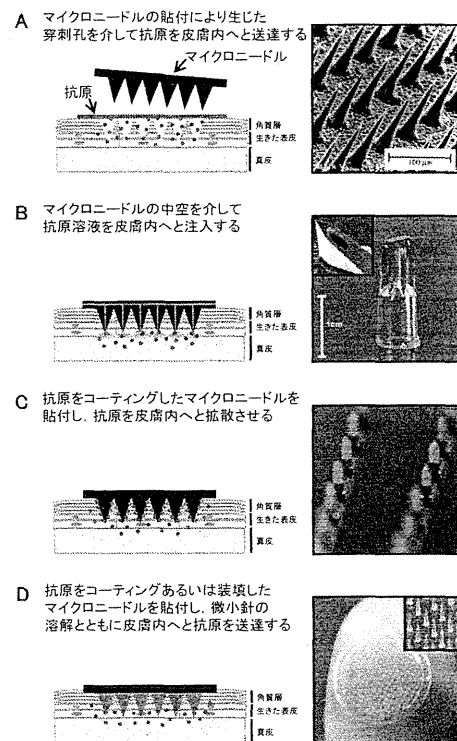


図2 マイクロニードルデバイスを用いた経皮ワクチン手法

A) シリコン製ソリッドマイクロニードル¹⁰⁾, B) シリコン製中空マイクロニードル¹³⁾, C) ステンレス製コーティングマイクロニードル¹⁴⁾, D) ヒアルロン酸を素材とした溶解型マイクロニードル (MH)¹⁷⁾

クチン抗原量で同等の有効性を発揮することが報告されている¹³⁾。しかしながら、本デバイスの実用化に向けては、注入したワクチンが皮膚内から漏れ出さないように、投与部位の深さや投与速度を最適化する必要がある。

2.3.3 コーティングマイクロニードル

ソリッドマイクロニードルや中空マイクロニードルを用いた手法では、ワクチン抗原を含む溶液を用いるために、現在の注射型ワクチン製剤と同様に一貫した冷蔵管理を必要とする。開発途上国におけるワクチン普及を推進するためには、この課題を克服しなければならない。そこで開発されたのが、ソリッドマイクロニードルの表面にワクチンをコーティングし、その微小針を皮膚に穿刺することでワクチン抗原を皮膚内へ拡散させる手法である(図2C)¹⁴⁾。本手法では、マイクロニードルの表面上にワクチンが乾燥状態で吸着しているため、溶液状態における保管よりもワクチンの安定性が高いと考えられており、生きた細菌やウイルスを使用する生ワクチンへの応用も図られている¹⁵⁾。現在、マイクロニードルの素材やコーティング溶液の組成を最適化することで、ワクチン抗原をより多く、より安定に保持できるコーティングマイクロニードル製剤の開発が進められている。

2.3.4 溶解型マイクロニードル

先述した3種類のマイクロニードルは第一世代マイクロニードルと呼ばれており、シリコンや金属(ステンレス、チタン)を材料として作製されている。第一世代マイクロニードルは剛性に優れる、成形しやすい、といった利点を有している一方で、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¹⁶⁻¹⁸⁾。第二世代マイクロニードルは、生体適合性に優れる素材を使用し、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ワクチンを皮膚内へと送達するといった特徴を有する(図2D)。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。

2.4 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた経皮ワクチンの開発

筆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(MicroHyal[®]; MH)を用いた経皮ワクチンの開発を進めている^{17,19,20)}。MH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3A)。MHをラット背部皮膚に貼付すると、30分以上の貼付によって針は完全に溶解し、またMHは可溶性高分子であるニワトリ卵白アルブミン(OVA)だけでなく、直径300nmのシリカ粒子をもAPCが存在する生きた表皮ならびに真皮へと送達できる(図3B, C)。そこで、可溶性蛋白質であるジフテリアトキソイド(DT)を用いた経皮ワクチンの有効性を検討したところ、装填されたDT量(10, 1, 0.1 μg)に依存した抗原特異的抗体価の上昇が確認

非経口投与製剤の開発と応用

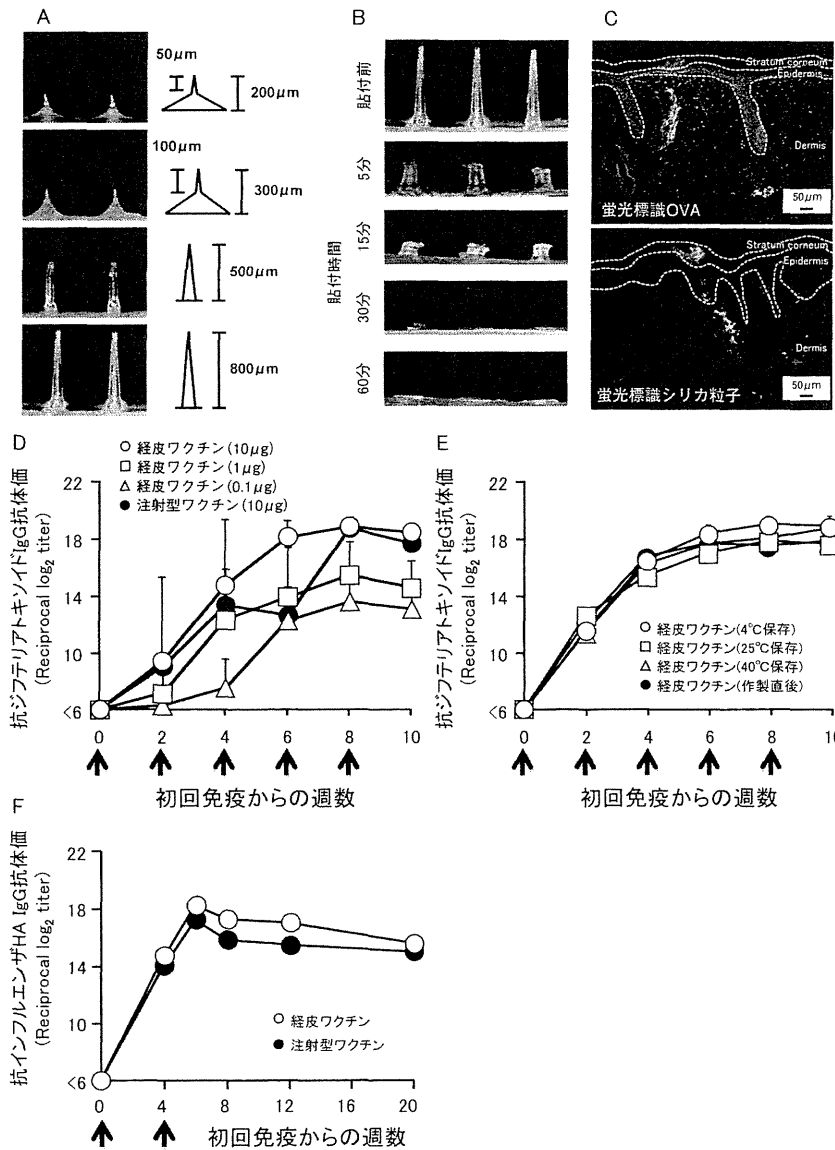


図3 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた経皮ワクチン

- A) 針の形状はコーン型(上段二つ)と円錐型(下段二つ)があり、針の長さは200~800 μ mまで自在に作製可能である。面積は0.8 cm^2 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。
- B) 針長800 μ mのMHをラット背部皮膚に5分、15分、30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。
- C) 針長800 μ mのMH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。
- D) DTを10 μ g, 1 μ g, 0.1 μ g装填した針長800 μ mのMHをラット背部皮膚に6時間貼付した。対照群のラ
- (次頁に続く→)

された(図3D)。また、4℃、25℃、40℃の各温度条件下において1年間保管したDT(10 μ g)装填MHの抗体産生能を評価すると、いずれの保管温度においても抗体産生能は作製直後と変わらなかった(図3E)。DT(1 μ g)装填MH貼付群において確認された明らかな抗体価の低下(図3D)が、25℃や40℃において1年間保管したDT(10 μ g)装填MH貼付群では認められなかったことから、MHに装填されたDTは非冷蔵条件下での長期保管においても免疫応答の誘導に十分な抗原性を維持していたと考えられ、MHが冷蔵管理を必要としない経皮ワクチン製剤のデバイスとして有用であることが示された。さらに、粒子状抗原であるインフルエンザHA抗原を装填したMHにおいても抗原特異的抗体価の上昇が認められ、その抗体価は最終免疫16週間後(初回免疫から20週間後)においても高く維持されていた(図3F)。このことから、MHを用いた経皮ワクチン製剤によって、インフルエンザHA抗原に対する長期的な免疫を誘導できることが明らかとなった。これらの成果に基づき、すでに筆者らはMHのヒトにおける安全性ならびに有効性を検証する臨床研究を開始しており、抗原装填MH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。今後は、経皮ワクチンの実用化に向けて、安全性・有効性に関わる理論的根拠を実証するために、経皮免疫機構の解明を強力に推進する必要がある。また、その理論に基づいた経皮ワクチンデバイスの改良や経皮ワクチン用アジュバントの探索を実施することで、より安全性・有効性に優れた経皮ワクチンの開発を目指す。

2.5 おわりに

DDS分野において発展してきた経皮薬物デリバリー技術のワクチンデリバリーへの応用が進む中、皮膚に貼るだけという簡便な操作でワクチンを接種できる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。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について準備が進んでおり、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。マイクロニードル

ットには10 μ gのDT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DT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。

E) DTを10 μ g装填した針長800 μ mのMHを作製直後、ならびに4℃、25℃、40℃の各温度条件下で1年間保管後、ラット背部皮膚に6時間貼付した。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DT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 μ g装填した針長800 μ mのMH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(図中の↑)、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。

非経口投与製剤の開発と応用

を用いた経皮ワクチン製剤が従来までの注射に代わる簡便性・普及性に優れる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、感染症流行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) 神山文男先生、権英淑先生、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、(財)阪大微生物病研究会に深謝いたします。

文 献

- 1) S. Hirobe *et al.*, *Expert Opin. Drug Deliv.*, **10**, 485 (2013)
- 2) J. Valladeau *et al.*, *Semin. Immunol.*, **17**, 273 (2005)
- 3) K. Sugita *et al.*, *Clin. Exp. Immunol.*, **147**, 176 (2007)
- 4) B. W. Barry *Nat. Biotechnol.*, **22**, 165 (2004)
- 5) R. B. Belshe *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **351**, 2286 (2004)
- 6) R. T. Kenney *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **351**, 2295 (2004)
- 7) P. E. Laurent *et al.*, *Vaccine*, **25**, 8833 (2007)
- 8) R. Prymula *et al.*, *Adv. Ther.*, **29**, 41 (2012)
- 9) M. S. Gerstel *et al.*, US Patent No. 3, 964, 482 (1976)
- 10) S. Henry *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **87**, 922 (1998)
- 11) Z. Ding *et al.*, *J. Control. Release*, **136**, 71 (2009)
- 12) J. A. Mikszta *et al.*, *Nat. Med.*, **8**, 415 (2002)
- 13) P. Van Damme *et al.*, *Vaccine*, **27**, 454 (2009)
- 14) H. S. Gill *et al.*, *Pharm. Res.*, **24**, 1369 (2007)
- 15) Y. Hiraishi *et al.*, *Vaccine*, **29**, 2626 (2011)
- 16) S. P. Sullivan *et al.*, *Nat. Med.*, **16**, 915 (2010)
- 17) K. Matsuo *et al.*, *J. Control. Release*, **161**, 10 (2012)
- 18) S. Naito *et al.*, *Vaccine*, **30**, 1191 (2012)
- 19) K. Matsuo *et al.*, *J. Control. Release*, **160**, 495 (2012)
- 20) Y. Hiraishi *et al.*, *Int. J. Pharm.*, **441**, 570 (2013)

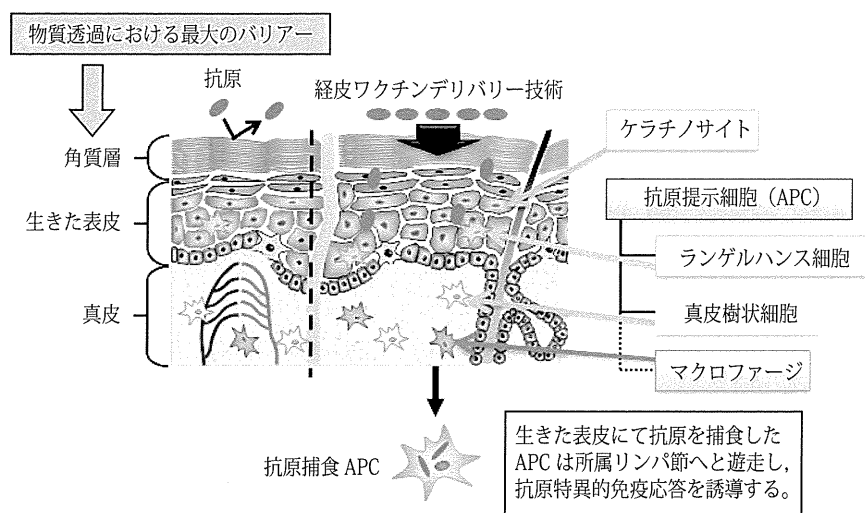
<2> 経皮ワクチン製剤の DDS 技術の動向と実用化の可能性

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ン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⁶⁾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。