

論 文 内 容 要 旨

報 告 番 号	甲 薬 第 237 号	氏 名	高田 春風
学位論文題目	リポソーム膜上の PEG および核酸に対する免疫反応に関する研究		
<p>リン脂質二分子膜からなる薬物送達キャリアであるリポソームは、血中滞留性の向上などを目的に、膜上に非免疫原性の人工高分子である Polyethylene glycol (PEG) が修飾されている。一方、所属研究室では、粒子上の PEG が免疫原性を獲得し、抗 PEG 抗体を誘導することを世界で初めて報告した。PEG 修飾製剤と抗 PEG 抗体は免疫複合体を形成し、補体系の活性化を伴って急速に血中から消失することから、抗 PEG 抗体は PEG 修飾製剤によるアナフィラキシーや効果の減弱を誘導する可能性が指摘されている。PEG 修飾の有用性は静脈内投与に限らず検討されており、COVID-19 mRNA ワクチン（筋肉内投与製剤）では保存安定性の改善のために PEG が修飾された。しかしながら、静脈内投与以外の経路での抗 PEG 抗体誘導に関する知見は乏しい。また、カチオン性脂質を含むリポソーム上には核酸を搭載でき、非ウイルスベクターとして活用される。私は、膜上の核酸が PEG と同様に免疫原性を獲得する可能性を考えた。抗 DNA 抗体は多くの全身性エリテマトーデス (SLE) 患者で陽性となる自己抗体である。SLE 病態では、抗 DNA 抗体は自己の DNA と免疫複合体を形成し、腎臓などの様々な組織へ沈着し炎症を惹起する。すなわち、核酸搭載リポソームが抗 DNA 抗体を誘導、あるいは抗 DNA 抗体と免疫複合体を形成し SLE を発症・増悪させる可能性が考えられた。以上の背景から、リポソーム製剤の投与経路および搭載分子に着目し、その安全性について評価することを目的に、主として PEG 修飾リポソームの投与経路が抗 PEG 抗体の誘導にどのような影響を与えるか、DNA 搭載 PEG 修飾リポソームが SLE を発症・増悪させるか検討した。加えて、リポソーム上に更に免疫寛容誘導因子を搭載することで抗 DNA 抗体の誘導を抑制可能か検討した。</p> <p>PEG 修飾リポソームを健常マウスの静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下にそれぞれ投与したところ、各経路で anti-PEG IgM が誘導された。その機序を検討したところ、いずれの経路においても、血中に漏出した一部の PEG 修飾リポソームが脾臓あるいは腹腔へ分布し、T 細胞非依存的に anti-PEG IgM を誘導したことが示唆された。また、健常マウスに pDNA 搭載 PEG 修飾カチオン性リポソーム (pDNA/PCL) を静脈内投与したところ、anti-DNA IgM が誘導された。一方で、幸いなことに、SLE の発症や増悪に寄与する IgG クラスの抗体誘導は確認されなかった。しかし、SLE モデルマウスでは、pDNA/PCL は血中の anti-DNA IgG と免疫複合体を形成し、腎臓へ蓄積し、炎症時に確認される腎糸球体の拡大を誘導することを確認した。すなわち、pDNA/PCL の静脈内投与は SLE を発症させる可能性は低い、増悪させる可能性を示した。DNA/PCL にさらに免疫寛容誘導因子であるガングリオシドを搭載したリポソームを健常マウスに投与したところ、仮説に反して、anti-PEG IgM の誘導は抑制された一方で、anti-DNA IgM の誘導は抑制されなかった。原因究明として、PEG 特異的 B 細胞と DNA 特異的 B 細胞膜上のガングリオシド受容体 (CD22) の発現量を確認したところ、DNA 特異的 B 細胞では有意に CD22 の発現が低いことを明らかとした。</p> <p>本研究では、静脈内投与以外の投与経路でも、投与部位から血中へ移行した一部の PEG 修飾リポソームが、anti-PEG IgM を誘導すること、核酸を搭載したリポソームは SLE を発症させる可能性は低い一方で、増悪には寄与する可能性を示唆した。本検討の成果は、PEG 修飾製剤の安全性試験において考慮すべき事項を定める際に大いに貢献するものと期待している。</p>			