

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15316

研究課題名（和文）子宮内免疫抑制剤曝露児に対するワクチン接種の妥当性評価

研究課題名（英文）Assessment of the efficacy of vaccination for neonates exposed to immunosuppressants in utero

研究代表者

藤田 有美 (Fujita, Arimi)

金沢大学・附属病院・特任助教

研究者番号：50876026

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、子宮内タクロリムス曝露をさせたモデルマウスの作製を行い、子宮内タクロリムス曝露児の免疫能への曝露期間による影響解明を目的とした。第一に、長期子宮内タクロリムス曝露モデルでは、母体のタクロリムス濃度と新生児のCD4/CD8比の相関を取ったところ、正の相関が得られた。一方、短期子宮内タクロリムス曝露モデルマウスを作製し、母体のタクロリムス濃度と新生児のCD4/CD8比の相関を取ったところ、負の相関が得られた。以上のことからタクロリムスの子宮内曝露期間によって新生児の免疫応答能力は異なる可能性が見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義：新薬承認申請には生殖発生毒性試験による催奇形性は必ず試験されているが、その他の新生児毒性は検討されていない。本研究では、母体タクロリムス血中濃度と新生児CD4細胞数との関係性を明らかにしており、新生児免疫毒性についてトキシコキネティクス概念を構築した点に学術的意義がある。

社会的意義：子宮内免疫抑制剤曝露による新生児の免疫力についてはエビデンスがなく、医療現場では子宮内免疫抑制剤曝露児に対するワクチン接種の是非について意見が分かれている。本研究成果は子宮内免疫抑制剤曝露時の新生児免疫応答能力を初めて報告するものであり、エビデンス構築の一步となる。

研究成果の概要（英文）：This study aims to investigate the effect of the duration of exposure on the immunocompetence of intrauterine tacrolimus-exposed infants by establishing a mouse model of intrauterine tacrolimus exposure. In the long-term intrauterine tacrolimus exposure model, the correlation between maternal blood tacrolimus concentration and the CD4/CD8 ratio of the newborns was positive. On the other hand, in the mouse model of short-term intrauterine tacrolimus exposure, the correlation between maternal tacrolimus concentration and the CD4/CD8 ratio of the newborns was negative. These results suggest that the duration of intrauterine exposure to tacrolimus may affect the immune response of newborns.

研究分野：医療薬学

キーワード：タクロリムス CD4/CD8 T細胞比 妊娠期薬物治療 新生児免疫機能

### 1. 研究開始当初の背景

従来、免疫抑制剤は動物を用いた生殖毒性試験により催奇形性が認められており、妊婦への使用は禁忌とされてきた。そのため、生涯免疫抑制剤を服用し続ける必要がある幼少期での臓器移植経験者や自己免疫疾患患者では妊娠を諦めざるを得ない状況であった。しかし、海外の臨床試験にて、免疫抑制剤服用妊婦より出生した新生児の催奇形性発症率が自然発症率と大きく相違がなかったことより(Coscia LA et al. Nat. Rev. Rheumatol 28:1174-1187 (2014))、2018年に免疫抑制剤であるタクロリムス、シクロスポリン、アザチオプリンの妊婦への使用禁忌が解除された。それにより、2018年以降に本邦ではこれら3つの免疫抑制剤を服用し妊娠を継続する妊婦は増えてきている。一方、タクロリムスを投与された妊婦の分娩時血液および臍帯血での臍帯血/母体血中タクロリムス濃度比は0.73であり、タクロリムスは比較的胎盤を透過し易いことが知られている。しかし、これまでタクロリムスの胎盤透過による胎児・新生児毒性については妊婦での使用が禁忌となっていたことから上記催奇形性以外の詳細な報告はなく、タクロリムス服用妊婦から出生した免疫機能に影響が否定できない新生児に対するワクチン接種の是非や接種回数については全く検討されていない。

### 2. 研究の目的

第一目的として、タクロリムス投与による臨床に即した子宮内タクロリムス曝露モデルマウスを作製し、子宮内でのタクロリムス曝露期間が胎児・新生児の免疫機能に与える影響について明らかにする。第二目的として、第一目的で作製したモデルマウスを用いて子宮内タクロリムス曝露を受けた児のワクチンへの応答能力を明らかにする。

### 3. 研究の方法

本研究では、子宮内タクロリムス曝露新生児モデル動物作製の可否基準を(A)母体血中タクロリムス濃度が定常状態であること、(B)胎児血中にタクロリムスが定量可能な濃度で存在すること、(C)母体のT細胞数が減少していることとし、子宮内タクロリムス曝露新生児モデルマウスの作製を行った。実験群は、母体の目標血中濃度が臨床で観察される濃度である2.5、5ng/mLとなるように2群用いた。なお、2.5 ng/mLとなる群を低投与量群、5ng/mLとなる群を高投与量群とする。タクロリムス子宮内長期曝露モデルマウス作製方法は、7週齢非妊娠雌性マウスにAlzet浸透圧ポンプを用いてタクロリムスを各群に投与し、Alzet浸透圧ポンプを背部皮下に埋め込んだ8週齢雌性マウスと8週齢未処置雄性マウスを交配にかけた。プラグ確認日を妊娠0.5日とした。子宮内短期曝露モデルマウス作製方法は、妊娠16.5日目メスマウスに目標血中濃度が2.5、5ng/mLとなるようにAlzet浸透圧ポンプを用いてタクロリムスを投与した。なお、長期、短期曝露モデル共にコントロールとしてPBSをAlzet浸透圧ポンプに充填して投与した。各群、妊娠19日目より得られた母体血及び胎児血中のタクロリムス濃度をLC-MS/MSを用いて測定し、さらに、妊娠18日目の母体血より白血球画分を分離し、CD4及びCD8陽性T細胞の割合をフローサイトメトリーにて解析した。また、生後3日目の新生児血より白血球画分を分離し、CD4及びCD8陽性T細胞の割合をフローサイトメトリーにて解析した。

### 4. 研究成果

長期子宮内タクロリムス曝露モデルでは両投与量群にて、母体血中タクロリムス濃度が臨床濃度域で定常に達しており、かつ母体のCD4陽性T細胞数がコントロール群に比べて有意に減少した(図1)。これらの結果より、臨床を反映したモデルマウスは作製できたと考える。これらのモデルマウスを用いて新生児のT細胞を解析したところ、低投与量群ではCD4/CD8 T細胞比が高く、高投与量群ではCD4/CD8 T細胞比が低くなり、母体への投与量によって新生児のCD4/CD8 T細胞比が異なる挙動を示した(図2)。さらに、母体のタクロリムス濃度と新生児のCD4/CD8比の相関を取ったところ、正の相関が得られた(図3)。

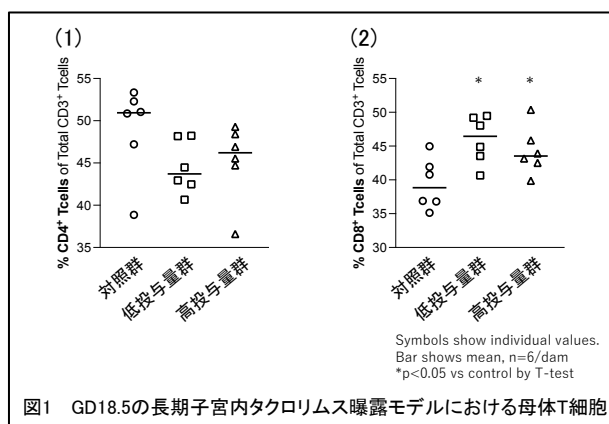
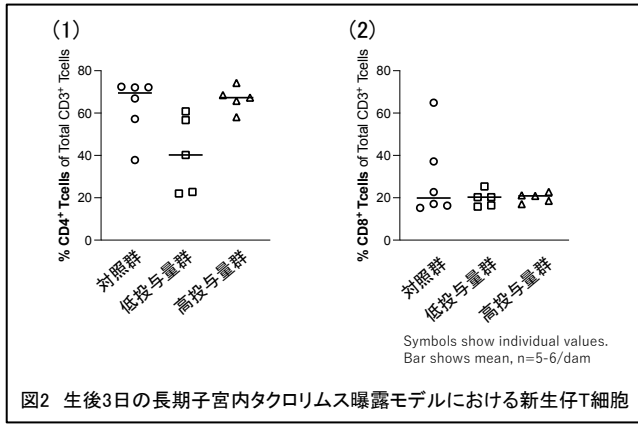


図1 GD18.5の長期子宮内タクロリムス曝露モデルにおける母体T細胞

これまでに、子宮内タクロリムス曝露期間による新生児免疫機能への影響については明らかとなっていない。そこで、得られた結果が長期的な曝露によるものであるかを明らかにするため、続いて妊娠16.5日目メスマウスに臨床容量となるように高投与量と低投与量の2つのタクロリムス投与量を投与した短期子宮内タクロリムス曝露モデルマウスの作製を行った。

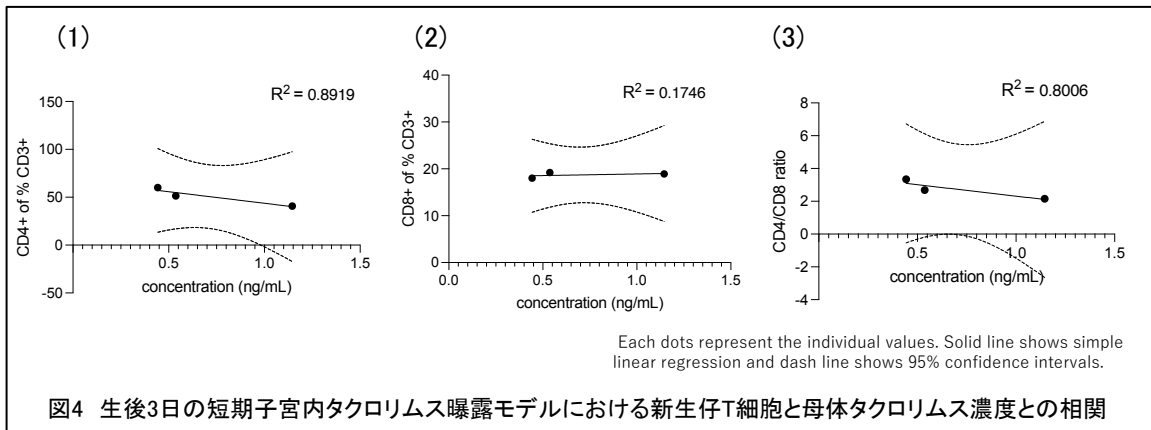
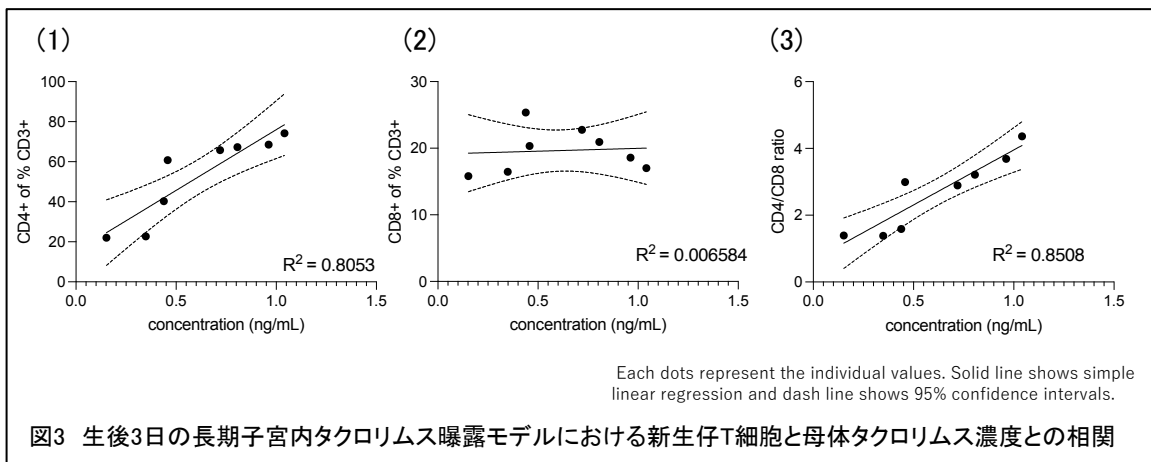
短期子宮内タクロリムス曝露モデルマウスにおいても長期子宮内タクロリムス曝露モデル同様、



数は新生児においてタクロリムス非投与時と同程度あるいはそれ以上となった。以上より、短期的な投与ではなく妊娠前から長期的に臨床容量のタクロリムスを母体に投与した場合、新生児のワクチンへの応答能力は十分である可能性が高い。本研究成果は子宮内免疫抑制剤曝露児のタクロリムス曝露期間による新生児免疫応答能力を初めて明らかにしており、子宮内免疫抑制剤曝露児のワクチン接種適正化の一助となる。

母体血中タクロリムス濃度が臨床濃度域で定常に達しており、かつ母体のCD4陽性T細胞数がコントロール群に比べて有意に減少した。しかし、母体のタクロリムス濃度と新生児のCD4/CD8比の相関を取ったところ、負の相関が得られた(図4)。

以上のことからタクロリムスの子宮内曝露期間によって新生児の免疫応答能力は異なる可能性が見出された。本助成期間内に新生児のワクチンへの応答能解析までには至らなかった。しかし、長期子宮内タクロリムス曝露モデル、ワクチン接種時の免疫応答を司るCD4細胞



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fujita Arimi, Noguchi Saki, Hamada Rika, Shimada Tsutomu, Katakura Satomi, Maruyama Tetsuo, Sai Yoshimichi, Nishimura Tomohiro, Tomi Masatoshi	4. 巻 2
2. 論文標題 Quantitative Comparison of Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2) Expression and Function Between Maternal Blood-Brain Barrier and Placental Barrier in Mice at Different Gestational Ages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Drug Delivery	6. 最初と最後の頁 online
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fddev.2022.932576	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Arimi Fujita, Rika Hamada, Saki Noguchi, Tsutomu Shimada, Yoshimichi Sai, Tomohio Nishimura, Masatoshi Tomi
2. 発表標題 Comparison of the impact of BCRP on the restriction of the drug distribution between the placental barrier and blood^brain barrier in rodents
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梶野 真由、藤田 有美、嶋田 努、崔 吉道
2. 発表標題 ラットモデルを用いたリトドリンによる新生児低血糖発現メカニズムのメタボロミクス解析
3. 学会等名 第16回次世代を担う若手のための医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤田 有美、濱田 リカ、井上 慧子、野口 幸希、嶋田 努、崔 吉道、西村 友宏、登美 育俊
2. 発表標題 マウス胎盤関門と血液脳関門の組織薬物分布抑制におけるMDR1寄与比較
3. 学会等名 日本薬剤学会第37年会 2022/5/27（Web開催）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------