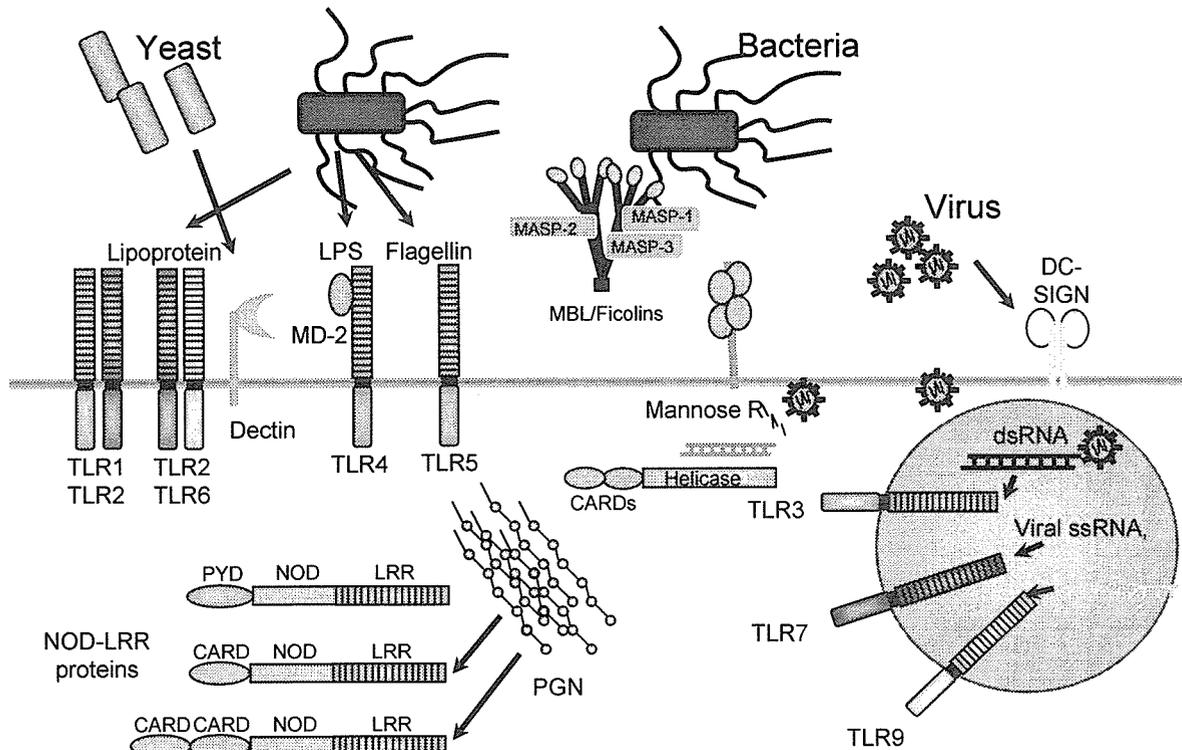


生ワクチンと不活化ワクチン

- 生ワクチンと不活化ワクチンのadjuvant作用は異なる。

不活化ワクチンは、死んだ病原体がファゴサイトーシスにより取り込まれ、ファゴゾーム内でTLRを活性化して樹状細胞を刺激するのに対して、生ワクチンは、それ以外に細胞質内の病原体認識受容体によって認識される。このことが、生ワクチンのほうがワクチン作用が強力であることを説明しているかもしれない。

Receptors for pathogen recognition



今後のワクチン開発の注意点

- 各TLR刺激剤の機能の差(活性の違いやシグナルの違いなど)、TLR発現細胞の差、異なるTLR刺激剤の組み合わせ、TLR以外の病原体認識受容体の存在。
- Delivery systemや抗原とadjuvantの結合など
- 投与ルートの問題(皮下、筋、経口、経粘膜)
- 細胞性免疫か抗体産生か

「粘膜ワクチン開発への挑戦」

東京大学医科学研究所炎症免疫学分野教授 清野宏

本日は、日本発ということで、赤と白でタイトルのスライドを作って、その心意気表現してみました。日の丸を入れたほうがいいかなと思ったのですが、それではあまりにやりすぎかと思いましたので、白と赤の背景スライドでその気持ちを表しました。粘膜ワクチンという視点から、どうやって日本初のワクチン開発に貢献できるかということで話をしてみたいと思います。時間の関係もありますので、あまり細かいデータの話はしないで、現在、我々が粘膜免疫機構を解析してきた結果、基盤にどういう戦略を考えているか、そしてそれを示唆する最近の一部のデータをご紹介しますながら話をしてみたいと思います。

先ほど、山西先生からもお話がありましたけれども、現在、いろいろなワクチンが日本を含め世界中で投与されているわけです。その現場で抱える課題をまず最初に考えてみました。そうしますと、ほとんどのワクチンというのは、現在は注射型のワクチンで投与されています。そして、その注射型のワクチンを使うことにより、先ほど審良先生からも紹介がありましたけれども、自然免疫系、獲得免疫系というものが活性化され、身体の中にきちんとした免疫応答が誘導できるという事実があるわけです。ですから、感染源が身体の中に侵入してから、我々の免疫系がそれを非自己として認識し、排除するという対応が確立していることとなります。

一方でワクチンを受ける側ということになりますと、どうしても注射型のワクチンというのは痛いということがあります。それから、ほとんどの新興・再興感染症というのは、粘膜を介して病原微生物が感染するわけですがけれども、注射型ワクチンではそこにはほとんど免疫応答が誘導できていない、無防備な状態にあることとなります。

さらに、もう少し現実的な問題を考えてみますと、現在のワクチンというのは皆さんご存じのように、冷蔵保存をしなければいけない。製造から、それを現地まで持って行って、そして現地で投与するまで保存する、つまりコールドチェーンが必須なわけです。しかしながら、このコールドチェーンにかかるコストは莫大でして、一部試算によると400億円から500億円がコールドチェーンというところにお金がかかっている。それは、1つのワクチンを開発するのに匹敵するようなお金の量ということとなります。

注射型のワクチンということを考えてときには、注射針、注射器がどうしても医療用廃棄物ということで、環境という点からも大きな問題になってまいります。さらに、その注射器、注射針を使い回すことで二次感染も考えていかなければなりません。

そうしますと、必然的に注射型のワクチンから、違った形での投与、なおかつ保存しやすいワクチンの開発が重要だということが WHO、NIH、それからビルゲイツ財団等でも強く指摘されているわけです。

そういう視点を考えたときに、粘膜免疫システムを使った経口ワクチンとか、経鼻ワクチンというものが非常に魅力的になってまいります。

このコンセプトと申しますのは、注射型のワクチンでは、なかなか粘膜面に抗原に特異的な免疫応答を誘導することができません。しかしながら、呼吸器系を使います。鼻咽頭関連リンパ組織、消化器系ですと、腸管に散在する腸管関連リンパ組織、例えばパイエル板が粘膜免疫システムを使った免疫誘導の要となります。これらの組織には、先ほど審良先生から紹介がありましたけれども、いろいろな樹状細胞が存在するというので、抗原に特異的な免疫応答を最初に引き起こす場として存在しています。

そこに、的確にワクチン抗原を投与することにより、注射免疫で獲得していた全身系の免疫と、注射免疫では獲得できなかった粘膜系にも免疫応答が誘導できる。つまり、2段構えの免疫応答が誘導できるのではないかと。なおかつ、注射器、注射針が必要なくなることになってまいります。その要ということでもよく解析されているのが、腸管に散在する腸管関連リンパ組織、その代表的なものがパイエル板ということになります。

これは、実際にヒトのパイエル板ですけれども、このように隆々としたドーム状の形をしたリンパ節状の組織が我々の腸管の粘膜に散在しているということがわかってきました。そこには B 細胞、その周囲には T 細胞、そして管腔側に面している部分には、非常にたくさんの樹状細胞が存在していることもわかってまいりました。つまり、自然免疫、獲得免疫を誘導できる場であるということになります。

さらに、このパイエル板の管腔側を覆っているこのドーム状、屋根の形をしている上皮細胞層を眺めてみますと、こちらに緑色で示している M 細胞と呼ばれる、非常にユニークな抗原の取込みを専門とする細胞が存在していることがわかってまいりました。

一方で、病原微生物が侵入する場ともなるわけです。そうしますと、1つはこの M 細胞を解析する、もしくは M 細胞に特異的な分子を探索するというので、M 細胞標的型の粘膜ワクチン開発ということが視野に入ってまいります。

実際に粘膜から抗原を投与することによって、本当に免疫応答が誘導できるのかということになると、例えば、ヒトにより近いサルを使った実験で、p55gag 抗原と、例えば、粘膜アジュバントとしてよく知られておりますコレラトキシンを混合し、サルに経口ワクチンということで数回投与いたします。

そうしますと、こちらにお示ししてありますように、2回投与後あたりから血

清中に p 55gag、この場合はピンク色でお示ししてありますけれども、ワクチン抗原に対して、きちんと抗原に特異的な IgG 抗体が誘導されてきます。さらに粘膜面を眺めてみますと、例えば、肛門の洗浄液とか、膣の洗浄液に、IgA を中心として、きちんと抗原に特異的な免疫応答が誘導できる。つまり、粘膜からワクチン抗原を投与することにより、我々の生体が持っている粘膜系、全身系両方に免疫応答が誘導できるのだ、ということがわかってきたわけです。

そのような事実を基にして、ワクチン開発ということを考えてときにはどのような課題があるかということになってまいります。こちらにお示ししてあるのが、現在我々が考えている大きな粘膜ワクチンを、実際に具現化していくときに、これから我々が克服しなければならない点であろうと考えています。まず、最初の課題として、いかに効果的に粘膜面にワクチン抗原を送達するか。特に、抗原取り込みの場である M 細胞に的確に送達できるかということが 1 つの大きなポイントになります。

それから、粘膜アジュバントと呼ばれているような、粘膜免疫を介して、免疫応答を活性化させるような分子・物質の開発。そして、経口ワクチンということを考えてときには、当然消化管という消化酵素も含めて、蛋白にとっては非常に劣悪な環境にあるわけですから、そこでいかに安定性を付与するかということになります。

このようなことを克服し、我々は、粘膜アジュバント付与型の M 細胞標的粘膜ワクチンというものを目指していきたいということになってまいります。

そこで、現在我々が 1 つ取り組んでおりますのが、農学系の先生方のご協力を得ながら植物を使ったワクチンの生産と、それを使ったデリバリーということになります。皆さんご存じのように、植物を使って、医薬用の蛋白を産生させることについては、既に 10 年以上前から、いろいろな研究がなされているわけです。例えば、ワクチンの領域では、米国のカーティス・アンセンさんのグループを中心として、例えばバナナ、タバコそしてジャガイモにワクチン抗原を発現させこれをワクチンの原材料として、又ワクチンとして経口投与することが試みられてきました。

確かに、そのようなコンセプト技術は確立したのですけれども、現在の時点では、あくまでも我々の研究室でのファンタジーということで、そこからどうやって実現化に持っていくのだ、ということが大きなハードルになっているわけです。

最初のほうに話をしましたけれども、これからのワクチンということを考えてときに、常温で長期間保存できるという課題を考えると、我々は穀類が非常に魅力的ではないかと考えました。米国では、既にトウモロコシを使ったワクチンの発現系というのはかなり研究が進んでいるわけです。日本が誇るコメを

そのワクチン生産の場、そしてナチュラルな抗原デリバリーに使えないか、ということをお我々は考えたわけです。

コメに関しては、既に皆さんご存じのように、遺伝子の全長が解明されておりますし、またコメに異種抗原を発現させるという遺伝子発現システムも確立されている、このような科学的なバックグラウンドがありましたので、それを使ってワクチン開発につなげていこうということで、我々はここ数年研究を展開してまいりました。

コメ型ワクチンということをお考えたときに、先ほど常温でいかに長期間保存するかが重要だというお話をしましたがお、皆さんご存じのようにコメの場合には常温で保存しておくことができます。なおかつ、そのコメの中にある蛋白は、常温で長期保存されていても全く変性しないという事実があります。

それから、コメが持っているユニークな蛋白貯蔵体システムは、ある意味では腸管での酵素に耐性を持っているようなものもあることがわかってまいりましたので、このコメの特徴を使って、コメで作らせたワクチンを原材料として、そして経口ワクチンというようなものに持っていけないか、ということをお考えているわけです。

これが、現在我々が使用しているシステムです。農業生物資源研究所の高岩先生、そして京都府立大学田中先生らのグループとの共同研究です。コメのプロテインボディに特異的なプラスミド、グルテン B1 プロモーター、この3'の下流側にワクチン抗原の遺伝子を導入するというのがベイシックなコンセプトです。

つまり、コメタンパク発現系を使ってワクチンを作るシステムを使うと、それを経口ワクチンとして応用し、粘膜系と全身系にきちんと免疫応答が誘導できることになります。なおかつ、そのワクチン製剤を常温で、保存してもその免疫原性には変化がないということになってまいります。

そうしますと、新しい形での感染症の予防、またバイオテロということをお考えたときには、ワクチン米という形で備蓄しておくだけでもかなりの抑止力になるのではないかと我々は考えているわけです。

次に、このシステムをさらに効果的にするために、どのようにしたら M 細胞にもっと積極的に、的確にワクチン抗原を送達させることができるか、ということが1つの大きなポイントになってまいります。そこで我々のグループでは、この M 細胞について、生物学的な解析を加え、できれば M 細胞に特異的な膜抗原、もしくは膜分子を同定できないか、ということをお CREST の支援を得て研究してまいりました。

特に、その膜分子でもアピカル側に、管腔側側に特異的に発現しているようなものが見つからないか。それが見つければ、新しい形での M 細胞標的型の分

子設計ができるのではないかと、ということを考えてまいりました。

この研究は、私どもの研究室のポストクの野地君らを中心に進めてきた研究の一部を紹介させていただきます。マウスの M 細胞を単離してまいりまして、それに対する特異的な抗体を作ろうではないかと、ということで研究を進めてまいりました。

そうしますと、こちらに NKM16-2-4 という抗体ですが、これはマウスのパイエル板のドームの屋根の部分形成している上皮細胞層の一部の細胞に特異的に反応することがわかりました。です。ここに、黄色く染まっている細胞が見えますが、これが我々の開発してきた NKM16-2-4 が反応している細胞ということになります。この細胞を眺めてみますと、M 細胞であることがわかってきました。

例えば、形態を見ていただくとわかると思うのですが、基底膜側にポケットを形成していて、そして、そこにリンパ球が入り込んでいる。そして、この NKM16-2-4 という抗体は、M 細胞の管腔側に非常に強く染まることわかってきました。

この特異性については、さらにこれはパイエル板組織全体を同抗体で染めているのですけれども、パイエル板のドームに放射状に散在する M 細胞を特異的に認識して、さらに私どもが2年ほど前に報告いたしました、絨毛の先端部にも M 細胞が発達してくるという事実があるわけですけれども、その M 細胞にもこの抗体は特異的に反応しています。

そういたしますと、この抗体ができたことにより、きちんこの M 細胞を周囲の上皮細胞、それから胚細胞などから、識別できるということがわかってまいりました。

次に野地君らが考え研究を進めておりますが、この M 細胞に特異的な抗体に、ワクチン抗原を結合させた、M 細胞標的型経口ワクチンの分子設計とその有効性の検討ということになります。

さらに、先ほどお話しいたしましたコメ型ワクチンに M 細胞標的型コンセプトを導入した形態も考えられます。そこで、現在我々が取り組んでおりますのは、この抗体の遺伝子配列を解析し、そして単鎖型の抗体、としてコメ蛋白質貯蔵体に発現できるようなシステムを作り上げていき、M細胞標的型コメワクチンの開発を進めております。これをコメに導入する。

そうしますと、これの分子量が大体1万 5,000 から2万ですから、それプラスワクチン抗原をコメに発現させるようなことができるシステムを確立していきたいということで現在研究を進めております。

そうしますと、最終的に私たちがイメージしているのは、**Molecular Farming** を使った新しいワクチンの生産です。それも植物ですから、閉鎖系できちんと

管理した上で、コメを使ってワクチン抗原を作る。そして、それを製剤として新しい形での経口ワクチンに結び付けていきたいと考えています。

しかしながら、それを達成するということになると、まだまだ非常にたくさん課題があります。いかに蛋白貯蔵体に、より効果的に、高発現、蓄積というシステムを確立していくか。さらに多種多様なワクチン抗原を発現できるかなど、きちんと同じようなことが言えるのか、経口ワクチンとしての普遍性をこれから確立していかなければいけない。

遺伝子導入米ということですから、これに対する理解、特にパブリックアクセプタンスというものもきちんと考えていかなければならない。そして、これを実用化するというのを考えると、レギュラトリー・サイエンスという部分が非常に重要になってくるのではないかと考えています。これを克服することになると、本日山西先生からもお話がありましたが、いかに大学、政府、産業、そして国民というものが連携してこれに向かっていくか、ということが必要ではないかと考えています。

本日はいろいろな話をいたしましたけれども、実際にこの研究に取り組んでいる私どもの共同研究者を紹介して終わりにしたいと思います。コメのワクチンということに関しては、私どもの研究室の幸、野地らが、目島、松村、中西らと一緒にやっている研究の一部を紹介させていただきました。また、共同研究者としては、筑波の農業生物資源研究所の高岩先生らのグループ、京都府立大学の田中先生らのグループ、そして産業界からは日本製紙、ロート製薬の協力を得て現在開発研究を進めております。

最後に、山西先生からのメッセージをさらに強調するという点から、我々は、もちろん大学、産業界、政府、さらに我々の考えているコメということを見ると、国民的なパブリックアクセプタンスもこれから考えていかなければいけないので、産官学プラス国民という形で連携を取り、日本発世界に貢献できるワクチンを、粘膜免疫という観点から推進していきたいと考えております。

(パワーポイント終了)

ご清聴ありがとうございました。

<質疑応答>

○堀井 清野先生、どうもありがとうございました。私は、食べるワクチンという話を聞く度に、こんな絵空事を考えるのはナンセンスではないかと思っていたのですけれども、本日の話を聞いていて、ラショナルリーゾニングが非常によくわかったような気がいたします。ありがとうございました。それでは、フロアからご質問がありましたらお願いいたします。

○質問者A 非常に面白い話で、コメを食べるというところを非常に感動して

聞いていました。非常につまらない話なのですが、コメというのは基本的に炊きますよね。そうすると、その抗原はどういうことになるのでしょうか。

○清野 まず、私たちは炊くということは考えていないのです。これはワクチンですから、炊くような形で、みんながのべつまくなし食べることになっては困るので、あくまでも新しい医薬製剤を作る媒体と考えています。

○質問者A いままでにも、例えばトマトなどでやられていますが、あれと比べると産生量はどうかのでしょうか。

○清野 産生量は、自分たちが実際に比べているわけではないのでなんとも言えないのですけれども、いわゆる論文で報告されている産生量ということで考えると、コメでの産生量は非常にいいです。

例えば、コメ1粒当たりで10~30 μ g ぐらい蛋白が作られますので、そういう意味では非常に効率がいいと我々は考えています。

○質問者A 私自身先生の話聞いたときにいちばん思ったのは、いわゆる生のコメということを見ると、ズーノーシスというか、いまだったら鳥インフルエンザの汚染地帯で野生の鳥が食べてくれて、そこでワクチン効果がある。それで、完全に精米した形では繁殖しませんから、そういうのが非常に夢があっていいのではないかと考えています。

○清野 それは、いま河岡先生の所とも共同で、なんとかHAの抗原をコメに発現できないかということも始めています。

○山西 コメに入れるのは非常に魅力的なのですが、CTBの話はされましたけれども、通常我々がワクチンをやっているというと、例えば3次元ということは構造を保つとか、等差をきちんとつけるとか、そういうのは非常にプロテクションに重要だと思うのです。コメで作った場合には、自然的な蛋白の構造というのはどのようになるのですか。

○清野 それは、我々が実際に自分たちで作ったもののストラクチャーを見ているというのではないのですけれども、インターフェロンをコメに発現させているシステムは確立しています。その場合にはストラクチャーまでは見ていませんけれども、バイオリジカルにはインターフェロンとしてのアクティビティを持っているという報告はありますので、そこは実験的にはきちんと検証しなければいけないのです。今後はきちんとストラクチャーを保ったものが発現しているか検証していかなければ行けません。と考えています。

○小林 2点お伺いします。1つはこのムコライスの安全性ということですが。例えばああいう抗原、本日はCTBというちょっと特殊な毒素ですが、発現させたわけです。そうすると、CTBに対しても免疫応答するというのはわかっています。そうすると、ほかのコメの成分に変な免疫応答というか、普通はしてほしくないわけですが、そういう安全性に対するコンサーンズはいかがか

ということ。

もう1つは、データでドーズリスポンスカーブがありましたが、75 μ g だけがピークで、ああいうドーズの問題、要するにこれはブーストをかけたらかえって落ちてしまうとか、その点をお伺いします。

○清野 ワクチン抗原を導入したことにより、コメの成分に対する免疫応答がどうかということですが、それは我々も重要視している部分があります。後々このようなコメにアジュバントを入れ込んで、そして免疫原性を上げることも考えていかなければいけないことになりますので、その点はきちんと検証していかなければいけないと思います。

CTB 米の場合には賛否両論あるのですが、CTB にもアジュバント効果があるということですので、コメに対する免疫応答が誘導できているかというのも一応調べています。分泌型の IgA ですとか、要するに食べさせたというだけでは、コメ構成成分に対する抗体は全く誘導できていません。

しかしながら、CTB 米の粉末を直接全身投与することはできませんので、それを水溶性にして、例えばナイーブなマウスに全身系に入れてやるということをする、それは当然コメ構成成分に対して免疫応答が誘導されます。しかしながら、食べさせたということに関しては、それに対しての免疫応答は出ていないというデータは持っています。

2番目の、ドーズレンジは、いまは 75 μ g、150 μ g ぐらいでピークに達していきます。先生がお考えになっているのは、いわゆる経口免疫寛容とか、そういうものが誘導されてこないかということになると思うのですが、それは、これからまだ検討しないといけない課題です。

○宮村 コレラトキシンのケースでご説明いただきましたが、実際に適切な動物を用いて、感染防御というようなことについての定量的なお仕事はあるのですか。

○清野 本日は時間がなくて話をしていないのですが、CTB 米を使ったときにはコレラトキシンに対する血清中の抗体ですとか、分泌液中の抗体が誘導されていますので、トキシンに対する中和効果はあるかということに関しては予備試験のレベルですけれども検討しています。それに対しては、きちんと中和効果のある抗体が誘導できているという事実はあります。

先生がおっしゃったように、これからもっとリレバントなものにということ、現在我々が考えているのはバイオテロ対策用としてのワクチンです。ボツリヌス菌の HC 抗原をいまコメに発現させるというシステムを確立していますので、それを使って感染防御実験を、マウスからサルでもやっていく、ということ、実験は進めています。

○堀井 ちょっと確認しておきたいのですが、山西先生、宮村先生の質

問のポイントは、コメという含水量の非常に少ないパーティクルの中で、実際に蛋白質が水溶液中と同じような状態で存在するかどうか、というところに皆さん関心があるかと思うのです。

○清野 それに関しては、私たちがコメに注目したというのはそこもあります。ご指摘いただいてありがとうございます。コメの蛋白貯蔵体は、先ほどお示しましたけれども、プロテインボディ I と II というのがあります。プロテインボディ II は、わりと疎水性に蛋白を貯めます。プロテインボディ I のほうは、わりと非疎水性に蛋白を貯めるという事実があります。

それで、デリバリーということを考えたときには、いわゆる徐放性と遅延性という形での効果も期待できるのではないかということで、コメの抗原デリバリーとしての魅力というのを我々は考えています。

○堀井 トマトとはえらい違いだと思うのです。

○ミヨシ 北里研究所のミヨシです。ワクチンのデリバリーシステムの話で、M 細胞を標的にしていますが、腸管だと dendritic cell が手を伸ばして取り込むという型もあると思うのです。そこで限定することの利点と、もしくは欠点があれば教えていただきたいと思います。

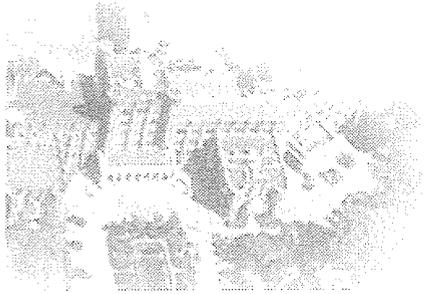
○清野 我々は M 細胞に標的することは必要と考えていますが、それだけではないと思います。ご指摘のように樹状細胞を標的とすることも考えられます。確かに樹状細胞が手を出して抗原を取り込むというレポートはあるのですが、この上皮のところを精査していきますと、その頻度は非常に少ないのです。実際に樹状細胞から手を出しているというのは、ですから、そのカスケードがいかにか有効に動いているかというのは、確かに事実としてはありますけれども、それがどのぐらい実際の免疫応答にコントリビューションしているか、というのはこれからの検証が必要だと思います。

日本発のワクチン開発をめざして

ワクチンイノベーション！

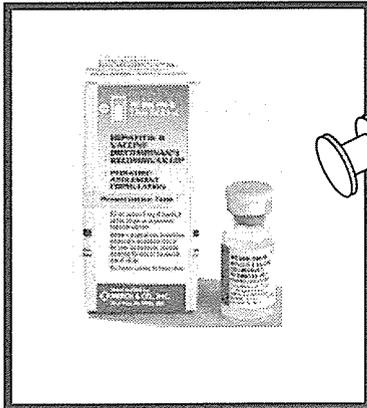
粘膜ワクチン開発への挑戦

日本から世界へ！



東京大学医科学研究所
感染・免疫部門
炎症免疫学分野
清野 宏

～既存のワクチン：特徴と現状分析～



注射型ワクチン

全身免疫誘導(体内での防御効果)



投与時疼痛

病原微生物侵入門戸である
粘膜面での防御効果なし

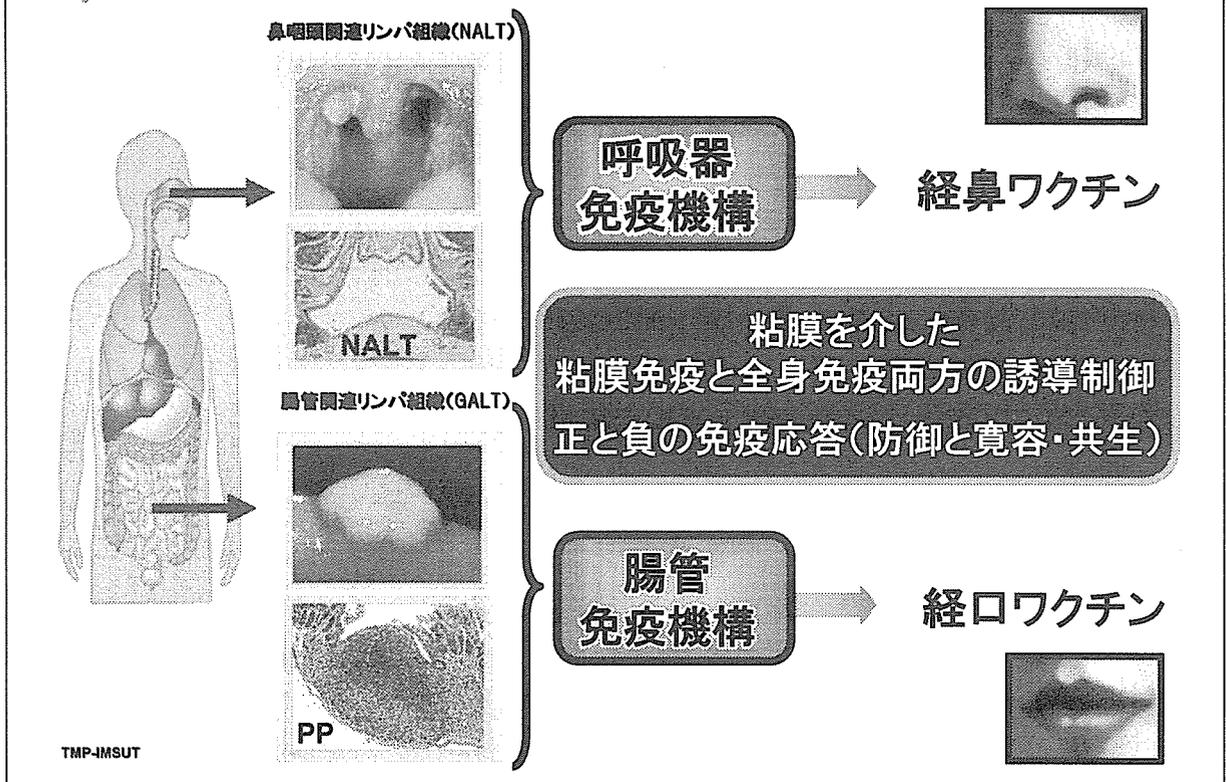
冷蔵保存の必要性

環境：注射器・針廃棄

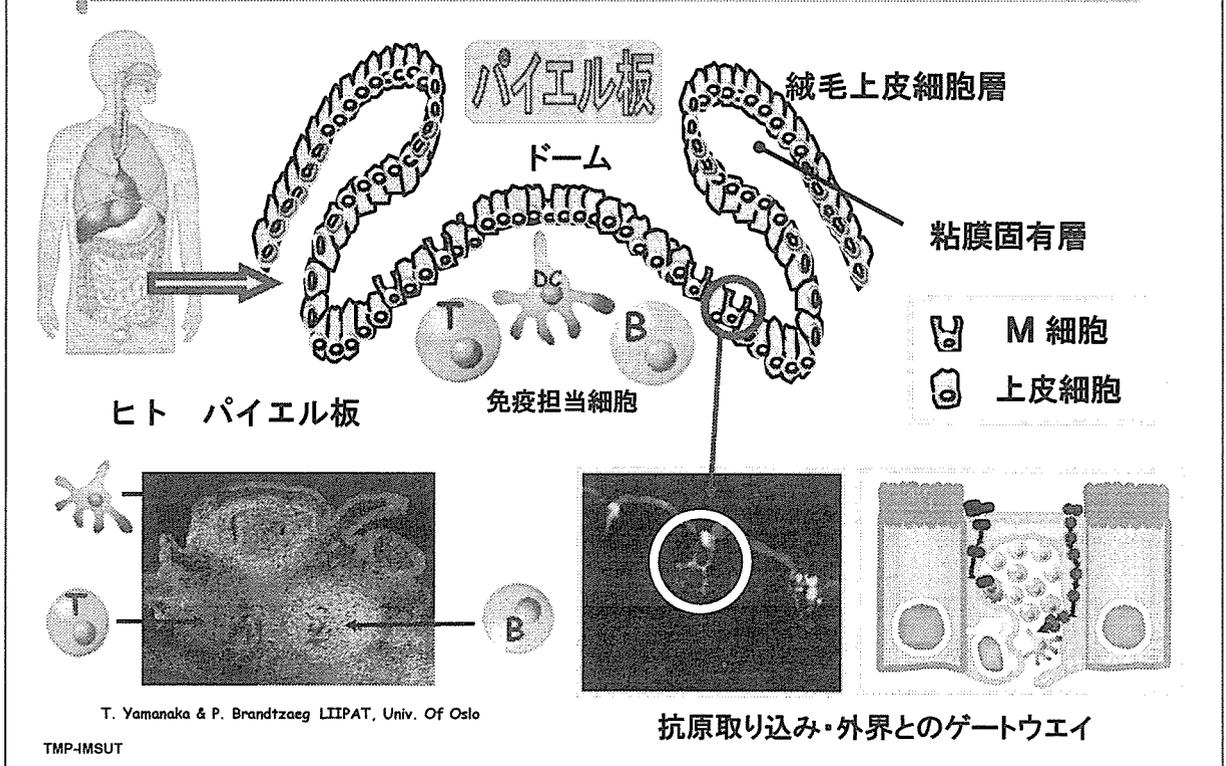
新しいコンセプトでのワクチン開発が必要では？

粘膜免疫を基盤としたワクチンイノベーション！

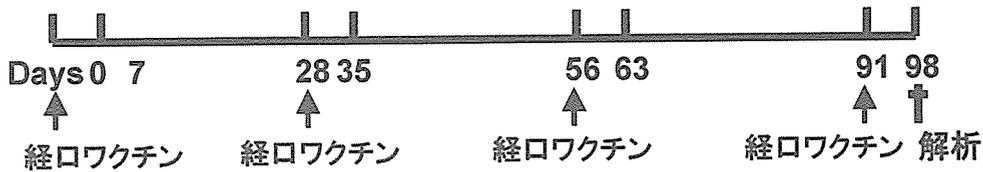
免疫学の新潮流: 粘膜免疫パラダイム確立とそれを基盤としたワクチン開発へ



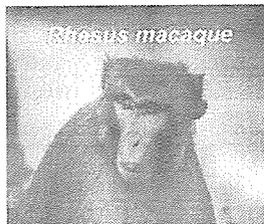
粘膜免疫の要: 腸管関連リンパ組織



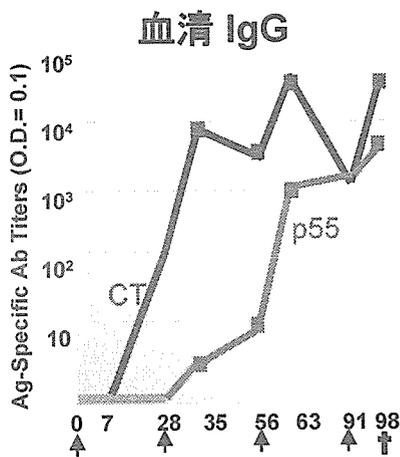
アカゲサルを使った経口免疫の有効性の検討



#26208



p55 gag (1mg)
+
CT(50 μg)



粘膜 IgA

P55-特異的抗体価
(O.D. 415 nm of >0.1)

Antigen	肛門洗浄液		膣洗浄液	
	IgG	IgA	IgG	IgA
p55	7	10	12	4
CT	8	15	12	9

TMP-IMSUT

粘膜ワクチンの有効性とその実現化への課題

経口ワクチン

課題

- 経粘膜デリバリー法
- 粘膜アジュバント
- 消化安定性付与

分泌型IgA

血清IgG

Th1 / Th2

CTL

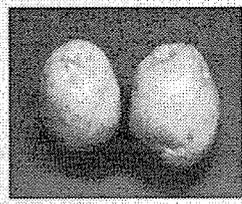
感染防御免疫の確立

粘膜アジュバント付与
M細胞標的ワクチンの開発

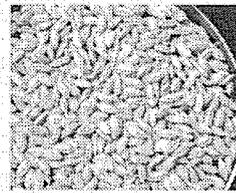
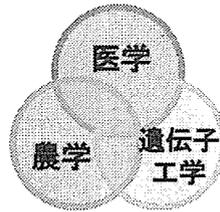
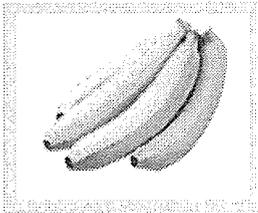
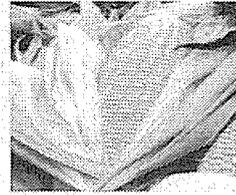
TMP-IMSUT



食物を使った「食べるワクチン」の開発が進んでいます



異分野の融合が
新コンセプトと技術を
生み出します！



なぜコメなのか？

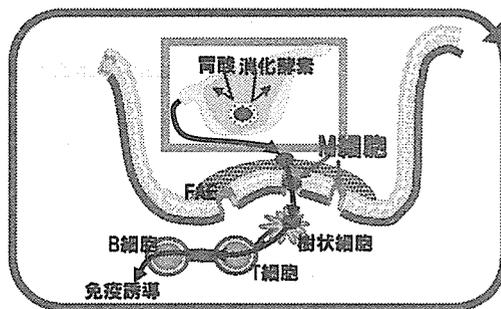
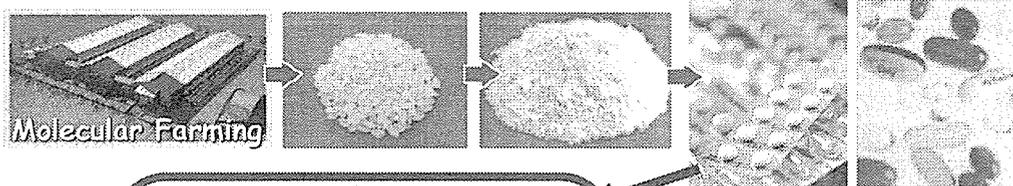
- ユニークで効果的なタンパク貯蔵機構 (PB-1/PB-2)
- 常温保存性と安定性
- 遺伝子全長配列の解明
- 異種抗原遺伝子発現システムの確立

TMP-IMSUT

組換えイネを用いる米型経口ワクチンの研究開発

米型ワクチン MucoRice を開発する意義

- ・保存安定性の克服： 米のタンパク貯蔵体に蓄積した蛋白質は長期間活性を失わない
- ・投与経路の克服： 米のタンパク貯蔵体に蓄積した蛋白質は胃酸及びペプシンに対して抵抗性を有する（酸による失活やペプシン消化を受けにくい）
⇒経口投与で病原性微生物に対する免疫を獲得できる可能性



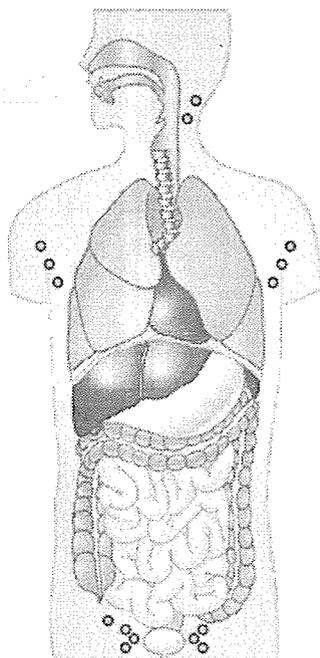
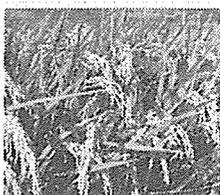
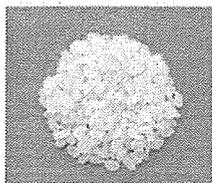
植物が本来持っている機能を
薬剤デリバリーシステムとして
有効活用した粘膜ワクチン

熱に安定・注射不要！
経口投与できる！
かつ安価に大量生産できる！

TMP-IMSUT

コメ型ワクチン MucoRiceの粘膜ワクチンとしての利点

経口ワクチン



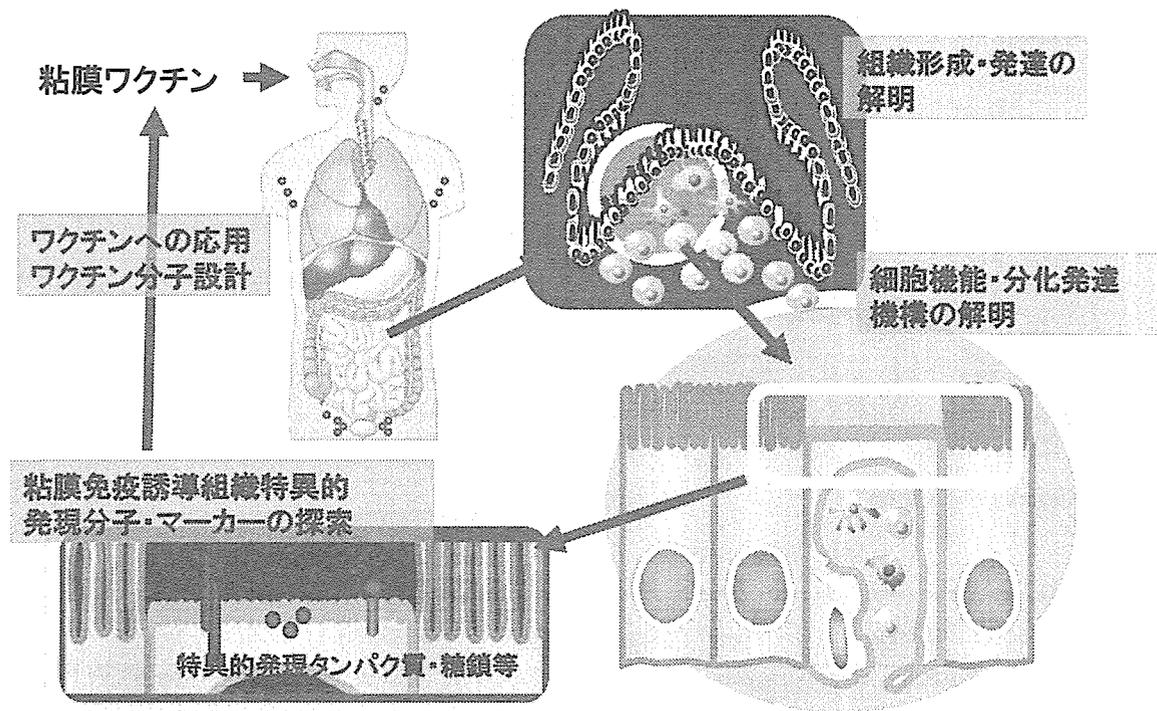
抗原特異的
免疫誘導効果
分泌型IgA
血清IgG

常温安定性
常温長期保存性
免疫原性維持

感染症の予防そしてバイオテロの抑止力へ！

TMP-IMSUT

粘膜免疫誘導組織標的型粘膜ワクチン開発に向けて： 組織・細胞・分子レベルでの基礎的解明から具現化へ



TMP-IMSUT

Molecular Farmingによる米型ワクチンMucoRice育成にむけて

・プロテインボディに高発現・高蓄積させる技術の確立

・経口ワクチンとしての普遍性の確立

・ワクチン製剤としての遺伝子導入米に対する理解

・蛋白質発現米を実用化につなげるレギュラトリー・サイエンスの確立



産業界、行政、大学、国民の連携体制による推進

TMP-IMSUT

Tokyo Mucosal Patches
(TMP)

粘膜ワクチン開発を
めざしています！

TMP メンバー

東大医科学研究所(IMSUT)



Tomonori Nochi

Yoshikazu Yuki

Ushio Nakanishi

Mio Mejima

Akiko Matsumura

Hidenori Takagi

Lijun Yang

Fumio Takaiwa (NIAS)

Takehiko Masumura

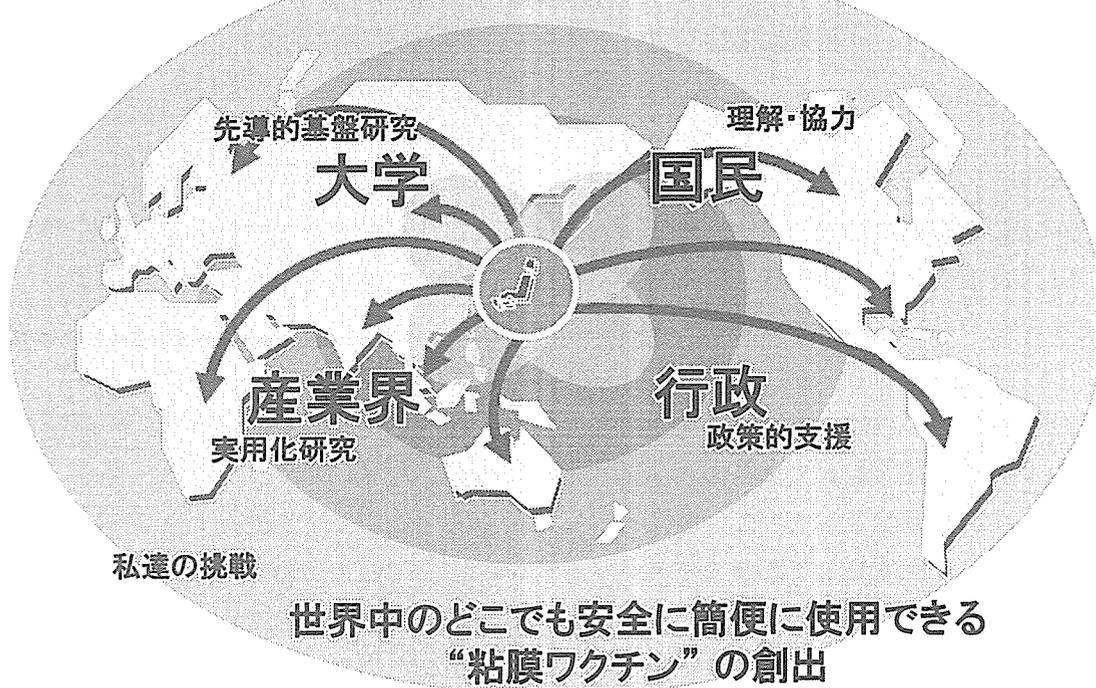
Shigeto Morita

Kunisuke Tanaka (KPU)

Nippon Paper Group Inc

Rohto Pharmaceutical Co.,Ltd

日本から世界に向けて貢献する 次世代ワクチン開発に向けてのスキーム



TMP-IMSUT

【講演】

「経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発」

国立感染症研究所感染病理部第二室室長 長谷川秀樹

堀井先生、どうもありがとうございます。ただいまご紹介にあずかりました国立感染症研究所感染病理部の長谷川です。本日は、我々が現在行っております経鼻粘膜投与型のインフルエンザワクチンの現状、いままで得られてきました結果を中心に話をさせていただきます。

(パワーポイント開始)

まず、本研究の目的ですが、感染予防を目的としたインフルエンザワクチンの開発があげられます。現在使われております皮下接種型のインフルエンザワクチンは、発症予防及び重篤化予防を目的としていて、感染そのものを予防することを目的としたワクチンではありません。今回開発しております粘膜ワクチンは、この感染防御を目指しております。また、その粘膜免疫の誘導により、その利点であります交叉防御能を有して、ワクチン株と流行株の間に変異があっても有効であることを目指した交叉防御能のあるワクチンであります。また、それは今後来るかもしれない新型インフルエンザに対応したワクチンの開発でもあります。

インフルエンザウイルスは、皆さんご存じのようにタイプが A、B、C とあり、内部にはネガティブなストランドのウイルスの RNA、シングルストランドの RNA を持っております。表面の抗原、ヘマグルチニン HA1 から 16、ノイラミダーゼ NA が 1 から 9 までこの組合せにより、表面の抗原型が決まります。それによって、ワクチンの型が異なり、これがぴったり合わないとか効かないというのが現在のワクチンです。

より効果的なワクチン開発を考える場合に、自然感染で起こる免疫応答を考え、それを再現してやるような形のワクチン開発が必要になってきます。自然感染時に起こる免疫応答としては、粘膜でのインターフェロンの誘導、また粘膜への分泌型 IgA の誘導、血中の中和抗体の誘導、また T 細胞、CTL の誘導があります。

特に、今回目指しております粘膜投与型のワクチンは、この粘膜への分泌型の IgA の抗体の誘導を目指しております。分泌型の IgA は、その polyIG receptor を介し、粘膜の表面に分泌されます。この二量体の構造で分泌され、分泌された後にウイルスと結合します。ですから、IgG と比べて、その感染前の段階で作用するという特徴があります。

こちらに、分泌型の IgA が交叉防御に与える影響を示しましたが、これは、以前に我々の研究室で旭先生と田村先生が行った仕事です。先ほど示しました polyIG receptor のノックアウトマウスと、ワイルドタイプのマウスで、粘膜中への IgA の分泌量の減少を確認し、さらにそれがワクチンの交叉防御能を落としていることを示しております。

経鼻粘膜ワクチンは、不活化ワクチンの単独では免疫応答を誘導しません。そこで、ワ

クチンには粘膜応答を増強させる物質が必要になってきます。そこで、粘膜で利用できるアジュバントが必要になってきます。我々は、審良先生のお話にありました、自然免疫を活用したアジュバントを考えております。いままで、粘膜ワクチンのアジュバントといたしましては、コレラトキシン、CTB ですとか、あとは大腸菌易熱性毒素が実験的に使われてまいりました。

この CT/LT は非常に強い強いアジュバントでして、ワクチン特異的な全身の IgG 応答、また粘膜上の IgA も誘導してまいります。ところが、大腸菌易熱性毒素を用いた、実際にヒトでの治験において、スイスで治験が行われ、その一部に顔面神経麻痺が生じました。そのために、これら毒素系のアジュバントというものを使うメーカーがなくなってしまいました。

もう1つの経鼻ワクチンとして、米国で認可されております低温馴化型の生ワクチンがあります。ところが、アメリカで認可されておりますのは、健常な5歳から49歳までの人に限るということで、インフルエンザによって最も死亡率の高い小児と老人の部分がカバーされていないこととなります。

そこで、我々はより安全で、生ワクチンと同等の効果を有するワクチンのために、アジュバントの開発を行っております。経鼻ワクチンの利点としては、分泌型の IgA 抗体を投与した鼻粘膜だけではなくて、全身の粘膜へ誘導することができる、交叉防御能がある、また簡便で痛くない。等があげられます。

こちらの低温馴化株の生ワクチンのほうには、アジュバントなしで抗体誘導は得られるものの、ハイリスクの適用が認められていない。これに適用を広げて同様の効果を目指す不活化ワクチンのためには、アジュバントが不可欠だということになります。

近年、我々の研究室では、いくつかのアジュバントを試して、インフルエンザのワクチンに応用してまいりました。大きく分けると、1つは微粒子系のもの、これはマイクロパーティクルですけれども、クチンを使ったもの、あとホッキ貝から得られた微粒子を使ったもの、これらはどちらかという、ワクチンのキャリアとして働くものです。もう1つは、免疫系を直接刺激するもの、1つは補体であります C3d と結合した HA を作ってこれを用いました。あと、免疫系を刺激するものとしては、Toll-like receptor の3のリガンドであります PolyIC、あとは NKT 細胞のリガンドであります α -galactosylceramide (α -GalCer)を用いた研究を行っております。今日は、それらのうちの合成二本鎖 RNA を用いた仕事について紹介させていただきます。

二本鎖 RNA は、本来生体の中では存在しません。ウイルスが増殖するときに、二本鎖の RNA が作られるために、二本鎖 RNA は基本的に外から病原体が入ったシグナルになります。その認識には、1つはエンドゾームの中の Toll-like receptor 3 によって認識される機構と、細胞質の RNA ヘリカーゼなどによって認識される機構があります。

今回は、まず Poly (I : C) と HA ワクチンを用いて、マウスを用いて実験を行いました。量としては、PolyIC を 0.1 から 10 μ g、コントロールとしてコレラトキシン B サブユニット