

3) パンデミックウイルスも変異する？

季節性インフルエンザウイルスの変異は、中和抗体と結合するエピトープで起こっており、この変異をおこす圧力は人が保有する抗体である。即ち、インフルエンザウイルスなどのRNAウイルスは、ゲノム翻訳過程で点変異を起こしやすく、季節性インフルエンザウイルスに対して高い集団免疫率が獲得されると、中和抗体から逃れる中和エピトープが変異したインフルエンザウイルスが選択されてヒトの間で流行する¹⁴⁾。中和エピトープの変異が大きいほど季節性インフルエンザの流行は大規模になる。

一方、新たに出現するパンデミックウイルスは、免疫のない集団に感染するため、多くの人々が罹患し、集団免疫率が高くなるまでは、中和エピトープが変異したインフルエンザウイルスの流行は起こらない。スペイン風邪出現時の流行の波から1回の流行で25%の人が感染すると仮定すると^{2,15)}、少なくとも75%の人が感染する3年間は、中和エピトープが変異したインフルエンザウイルスの流行はないと予測される。

4) プレパンデミックワクチンで誘導された

HI抗体価は低値

ウイルス感染防御に働くのは中和抗体であり、インフルエンザを含めウイルス抗体測定の基本は、総合的な感染防御力を示す中和抗体である¹⁶⁾。しかし、中和抗体は手間と時間とかかる方法のため、インフルエンザ、日本脳炎、麻疹、風疹などのウイルスでは、感染防御と関係している抗原であるHAに対する抗体を測定するHI法が用いられている。なお、麻疹ではHI法はNT法と比べ感度が低い抗体測定方法であり¹⁷⁾、日本脳炎のHI抗体は西ナイルウイルスと交叉するが、NT抗体は西ナイルウイルスと交叉しないなど、NT抗体とHI抗体は必ずしも生物学的に一致しない場合がある。

季節性インフルエンザにおいてはニワトリ血球を用いたHI法で抗体が測定されている。しかし、現在までのところAH5N1亜型に対する標準的なHI抗体測定法はなく、また各国で測定されたHI抗体の互換性も確認されていない。諸外国のインフルエンザワクチン臨床試験結果と本邦のプレパンデミックワクチン臨床試験結果を比較し、ワクチンの質を論議するにあつ

ては、抗体の基本となるNT抗体の測定結果で先ず比較すべきであり、HI抗体の結果で比較する時は使用された血球の種類など検査法に対する注意が必要である。

5. おわりに

現在本邦が備蓄しているのはAH5N1亜型に対するプレパンデミックワクチンであり、AH5N1以外の亜型がパンデミックを起こすと効果は期待できない。しかし、アジュバンド加全粒子インフルエンザワクチンは初回免疫効果が高く、AH5N1亜型以外のインフルエンザウイルスがパンデミックを起こしたときは、パンデミックウイルス株を用いてプレパンデミックワクチンと同じ成分のパンデミックワクチンを急いで製造し、そのワクチンを接種すれば初回免疫の成立が期待される。一方、パンデミックウイルス亜型とプレパンデミックワクチンの亜型が一致したときは、今回の試験で追加免疫効果と交叉免疫性が証明されるならば、AH5N1亜型の一つのクレードに属する株に免疫のある人にプレパンデミックワクチンを追加接種することで追加免疫ができ、発症予防または重症化予防が期待される。

参考文献

- 1) 喜田 宏：地球におけるインフルエンザウイルスのゲノムプール。Current Therapy 24：1022-1026, 2006
- 2) Morens DM, Fauci AS：The 1918 influenza pandemic：Insights for the 21st century. J Infect Dis 195：1018-1028, 2007
- 3) 厚生労働省：新型インフルエンザ対策ガイドライン（フェーズ4以降）。
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou04/index.html>
- 4) Murray CJ, Lopez AD, Chin BC, Feehan D, Hill KH：Estimation of potential global pandemic influenza mortality on the basis of vital registry data from the 1918-20 pandemic：a quantitative analysis. Lancet 368：2211-18, 2006
- 5) 小田切孝人：H5N1高病原性鳥インフルエンザウイルスの最近の動向と国家備蓄ワクチン。Current Therapy 24：1041-1047, 2006

- 6) 庵原俊昭：新型インフルエンザウイルスと感染予防対策～現行インフルエンザ対策も含め～、*感染防止*17：1-8, 2007
- 7) 阪大微生物病研究会：沈降新型インフルエンザワクチン（H5N1株）添付文書
- 8) 北里研究所：沈降新型インフルエンザワクチン（H5N1株）添付文書
- 9) CDC：Prevention and control of Influenza. *MMWR* 56 RR-6：1-54, 2007
- 10) 菅谷憲夫：新型インフルエンザ対策，ワクチンの問題点。日本医事新報 4390：81-84, 2008
- 11) 押谷 仁：鳥インフルエンザ(H5N1)感染症の現況と対策。日本医事新報 4385：57-62, 2008
- 12) Bresson J, Perronne C, Launay O, Gerdil C, Saville M, Wood J, Hoschler K, Zambon MC：Safety and immunogenicity of an inactivated split-virion influenza A/Vietnam/1194/2004(H5N1) vaccine：phase I randomized trial. *Lancet* 367：1657-1664, 2006
- 13) 小倉英郎：DPT ワクチン接種後の副反応とその対策。予防接種マニュアル，改訂版。新興医学出版社，東京2005，pp.74-85
- 14) Russell CA, Jones TC, Barr IG, Cox NJ, Garten RJ, Gregory V, Gust ID, Hampson AW, Hay AJ, Hurt AC, de Jong JC, Kelso A, Klimov AI, Kageyama T, Komadina N, Lepedes AS, Lin YP, Mosterin A, Obuchi M, Odagiri T, Osterhaus AD, Rimmelzwaan GF, Shaw MW, Skepner E, Stohr K, Tashiro M, Fouchier RAM, Smith DJ：The global circulation of seasonal influenza A(H3N2) viruses. *Science* 320：340-346, 2008
- 15) Andreassen V, Viboud C, Simonsen L：Epidemiologic characterization of the 1918 influenza pandemic summer wave in Copenhagen：Implications for pandemic control strategies. *J Infect Dis* 197：270-278, 2008
- 16) 庵原俊昭：ウイルス感染症の診断。小児科診療 65：1992-1999, 2005
- 17) 庵原俊昭：麻疹・風疹・水痘・ムンプスに対する病院および地域における感染制御対策の最近の動向。医療 60：483-488, 2006

Strategy for pandemic influenza (H5N1)

ワクチンと新型インフルエンザ(H5N1)

庵原俊昭

独立行政法人国立病院機構 三重病院 院長 (小児科)

はじめに

感染対策の基本は予防と治療であり、それぞれに特異的対策と非特異的対策とがある。特異的予防対策には、ワクチン接種、 γ グロブリン投与、抗菌薬や抗ウイルス薬の予防投与などがあり、感染症の種類やホストの免疫状態に応じて、これらの特異的予防対策が使分けられている。現在のインフルエンザ対策の基本は、ワクチン接種による予防と抗インフルエンザ薬による治療であり、新型インフルエンザ対策においてもワクチン接種によ

る予防と抗インフルエンザ薬による治療が重要な役割を担っている。

本稿では新型インフルエンザパンデミックに備えたプロトタイプワクチンを中心に解説する。

ワクチンの免疫学(図1)

ワクチンには不活化ワクチンと生ワクチンがある。不活化ワクチンでは、注射部位を中心に免疫反応が起こるため、まず2-3回ワクチンを接種して免疫ナイーブ細胞を免疫記憶細胞へと成熟させると同時に少量の免疫実行

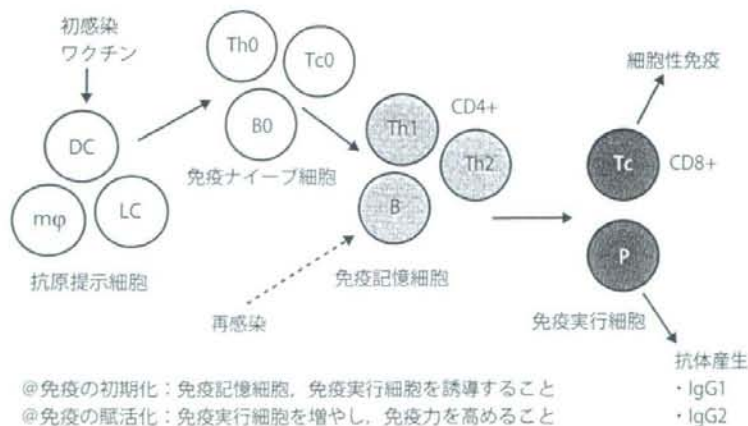


図1 獲得免疫(免疫記憶細胞と実行細胞)の誘導

細胞を誘導する過程と(免疫の初期化, priming), 半年から1年後に1回追加接種し, 免疫実行細胞の数を増加させ, さらに強い免疫を誘導する過程が必要である(免疫の追加, ブースター)。一度成熟した免疫記憶細胞は時間の経過とともに消失することはないが, 免疫実行細胞は減少するため定期的にワクチンを接種して免疫力を高める必要がある。一方, 生ワクチンでは全身の網内系を中心に免疫反応が起こり, 一度の接種で免疫記憶細胞から多量の免疫実行細胞までが誘導されるため, 1回の接種で比較的長期間免疫力が持続する。免疫の初期化および追加の効果を確認する方法が血清抗体の測定である。

予測される新型インフルエンザウイルス

現在ヒトの間で広く流行しているA亜型インフルエンザウイルス(AH1N1とAH3N2)以外の, 新たにヒト-ヒト感染する能力を持ったA亜型インフルエンザウイルスが新型インフルエンザウイルスである。新型インフルエンザウイルスは, A型インフルエンザウイ

ルスの自然宿主であるカモから家禽, ブタを介してヒトへの感染力を身につけると出現する¹⁾。現在家禽からヒトに感染しているA型インフルエンザウイルスは, AH5N1亜型, AH7N7亜型, AH9N2亜型の3種類である。東・東南アジアは, 家禽, ブタ, ヒトの接触が密な地域であり, しかもその地域で家禽からヒトへの感染が証明されているのがAH5N1亜型であること, 歴史上A香港型ウイルスは東南アジアで出現していることなどから, AH5N1亜型が新型インフルエンザウイルスの有力候補と考えられている。現在新型インフルエンザパンデミックに備え, 本邦ではAH5N1亜型ウイルスを用いて製造されたインフルエンザワクチン(プロトタイプワクチン)が備蓄されている。

新型インフルエンザプロトタイプワクチン

新型インフルエンザ発生時に備えて準備されるワクチンがプロトタイプワクチンであり, 日本ではプレパンデミックワクチンとも呼ばれている(表1)²⁾。プレパンデミックワ

表1 プロトタイプワクチンとパンデミックワクチン

	プロトタイプワクチン	パンデミックワクチン
株の由来	ニワトリから感染した 人から分離	ヒト-ヒト感染した 人から分離
亜型	AH5N1	不明
孵化鶏卵への毒性	強毒	不明
ワクチン株の毒性	弱毒化	不明
孵化鶏卵での増殖	株により異なる*	不明
ワクチン	1価	1価
製法	全粒子+アジュバント	全粒子+アジュバント

* ベトナム株の増殖性は悪いが, インドネシア株, 安徽株の増殖性は良い
注) 現在製造しているプレパンデミックワクチンは, ベトナム株(クレード1), インドネシア株(クレード2.1), 安徽株(クレード2.3), チンハイ株(クレード2.2)の製造が計画されている。

(文献2より一部改変)

クチンは、パンデミックを起こすであろうと予測されている A 型インフルエンザウイルス亜型の株を用いて製造されたワクチンであり、パンデミックワクチンは、パンデミック時にインフルエンザに罹患した人から分離された株を用いて製造されるワクチンである。パンデミックが起こらない限りパンデミックワクチンの製造は不可能である。パンデミックが始まってからパンデミックワクチンを製造し、国民に接種するまでには急いでも半年が必要である。

季節性インフルエンザワクチンとプロトタイプワクチン (表 2)

現行のインフルエンザワクチンは、孵化鶏卵で増殖したウイルスをホルマリン処理により不活化し、その後エーテル処理にて脂肪膜を取り除き、ヘムアグルチニン (HA) を精製したサブユニットワクチンである。免疫の追加効果はあるが、免疫の初期化効果が劣る欠

点がある。一方、本邦のプロトタイプワクチンは免疫の初期化効果を高めるため、ウイルス全粒子をホルマリン処理後アジュバント (ワクチンの免疫原性を高めるために抗原と同時に生体に投与される成分) として水酸化アルミゲルを加えたアジュバント加全粒子ワクチンである。なお、欧米では不活化したインフルエンザワクチンをエーテル処理したスプリットワクチンにアジュバントを加えたプロトタイプワクチンが開発されている。

プロトタイプワクチンは、AH5N1 亜型に感染した人から分離された株を、孵化鶏卵で増殖できるようリバースジェネティクスの技術を用いて弱毒化させた株を用いて製造されている。なお、AH5N1 亜型は複数のクレードがあり、AH5N1 亜型が新型インフルエンザウイルスとして登場したとしても、どのクレードの AH5N1 亜型が登場するかは、予測不可能なため、本邦ではクレード 1 に属するベトナム株、クレード 2.1 に属するインド

表 2 季節性インフルエンザワクチンと新型インフルエンザワクチン

項目	季節性インフルエンザワクチン	新型インフルエンザワクチン
ウイルス増殖方法	孵化鶏卵*	孵化鶏卵*
ワクチン抗原	エーテル処理したウイルス (スプリットワクチン) エーテル処理後 HA を精製 (サブユニットワクチン)	ウイルス全粒子 (全粒子ワクチン)
アジュバント	なし	水酸化アルミゲル
含まれる種類	3 種類 (AH1, AH3, B)	1 種類 (AH5†)
成人接種量	0.5mL	0.5mL
接種方法	皮下接種	筋肉内接種または皮下接種
免疫初期化効果	弱い	良好
ブースター効果	あり	あり
成人の接種回数	毎年 1 回	最初は 2 回 ‡

* 培養細胞で増殖させたウイルスを用いてワクチンを製造する研究が行われている

† プロトタイプワクチンには AH5N1 亜型の株が用いられている

‡ 追加接種は 1 回

ネシア株、クレード 2.3 に属する安徽株を用いて製造されたプロトタイプワクチンを 3,000 万人分備蓄している。

プロトタイプワクチンの免疫原性と副反応

クレード 1 に属するベトナム株を用いた成人への接種試験 (3 週ごとに 2 回接種, 2 回接種 3 週後に抗体測定用の血清を採取) によると, 抗原量 15 μ g を接種した群の中和抗体陽転率は 70% 以上であり, 免疫原性が高いことが示されている^{3,4)}。副反応に関しては, 皮下接種では 50% 以上の人で, 注射局所の紅斑, 疼痛, 痒痒感, 腫脹, 熱感を認めているが, 筋肉内接種では 50% 以上の人に認めた注射局所の反応は疼痛のみである。また, 接種方法に関わらず, 全身反応として約 10% の人に全身倦怠感と頭痛を認めているが, 発熱はまれである。

プロトタイプワクチンの今後の方向性

今後の新型インフルエンザ対策におけるワクチンの位置づけを考える上で大事なものは, 同じ亜型のクレードが異なるワクチン株の追加接種によるブースター効果の証明と交叉免疫性の証明である。追加接種した株が初回接種した株と異なってもブースター効果が認められるならば, クレードに関わらず, 軽化鶏卵での増殖効率が高い AH5N1 ウイルス株で製造されたワクチンで免疫を初期化しておき, パンデミック時に 1 回追加接種することでより高い免疫力の誘導が期待できる。また, 交叉免疫性が証明されるならば, プレパンデミックワクチンで使用した A 亜型と同じ A 亜型インフルエンザウイルスによるパンデミック発生時に, 備蓄しているプレパンデミックワクチンを接種することで, パンデミックウイルスに対しても効果的な免疫を誘導させ

ることができ, 重症化予防と流行の抑制が期待できる。なお, 交叉免疫性とは, 一つの株の接種で誘導した免疫が, クレードの異なる他の株に対しても中和活性を示すことである。

プロトタイプワクチンの接種対象者

プレパンデミックワクチンおよびパンデミックワクチンの接種順は, 流行段階や流行したインフルエンザの病像によって異なっている (表 3)⁵⁾。本邦では欧米と同様に, 流行初期は医療従事者, 治安・ライフラインの維持者に優先的に接種することが計画されている。また, 流行最盛期の接種順については現在検討中であるが, 世界保健機関が予測している新型インフルエンザウイルスの病原性は, 若者の死亡率が高かったスペイン風邪と同程度と考えており, この考えに立つならば, 若者や成人, 子どもを優先的に接種する必要がある。

プロトタイプワクチンに対する質問

プロトタイプワクチンに関しては, 積極的に国民に接種すべきであるという意見と, 新型インフルエンザウイルスが AH5N1 亜型とは限らないので, 積極的に勧めるべきではないという意見がある。新型インフルエンザとプレパンデミックワクチンに対する質問を表 4 にまとめた⁶⁾。この質問に対するコメントを要約すると^{2,7)}, ①新型インフルエンザとして登場する亜型は不明であるが, リスクとして高いのは AH5N1 亜型であり, ②登場する新型インフルエンザウイルスの病原性も不明だが, スペイン風邪並みの病原性を有していると仮定して行動計画が立てられており, ③日本のプロトタイプワクチンは水酸化アルミゲルをアジュバントとしたアジュバント加全粒子インフルエンザワクチンで, ④このワ

表3 新型インフルエンザワクチン接種目的と接種対象者

1. 流行初期（流行地域限定）

- 1) 目的：医療を含めた社会機能の維持
- 2) 使用するワクチン：プレパンデミックワクチン
- 3) 接種対象者
 - ・医療従事者等：医療従事者、救急隊員、疫学調査員、ワクチン製造関係者
 - ・治安維持者：消防、警察、海上保安庁、矯正施設、自衛隊
 - ・ライフライン維持者：水道、電気、ガス、石油、食料販売関係
 - ・国または地方公共団体の危機管理に携わる者
 - ・情報提供に携わる者
 - ・輸送（交通機関など）に携わる者

2. 流行最盛期（流行地域拡大、パンデミック）

- 1) 目的：国民の保護（死亡を可能な限り抑制する）
 - 2) 使用するワクチン：パンデミックワクチン
 - 3) 接種対象者*：国民
- * 流行するウイルスの病原性、重症度に応じて接種順を判断する
例：将来を守る：子ども>医学的ハイリスク者>成人>高齢者

(文献5より一部改変)

表4 新型インフルエンザとプレパンデミックワクチンへの質問

- 1 出現する新型インフルエンザウイルスの亜型は？
- 2 出現する新型インフルエンザウイルスの病原性は？
- 3 新型インフルエンザ用ワクチンの組成は？
- 4 プロトタイプワクチンの免疫原性は？
- 5 AH5N1 亜型の標準的な抗体測定方法は？
・NT法かHI法か？
- 6 現行のプレパンデミックワクチンの安全性は？
・局所反応の頻度は？
・GBS*の発生頻度は？
- 7 新型インフルエンザウイルスの変異は？
- 8 諸外国のプロトタイプワクチンとの免疫原性の比較は？

NT：中和，HI：赤血球凝集抑制

* GBS（ギラン・バレー症候群）はγグロブリン大量投与、血漿交換療法で治療が可能

クチンは免疫の初期化効果が高く、⑤新型インフルエンザに対する標準的な抗体測定方法は確立されていないが、ウイルス抗体測定の基本は感染防御力を直接測定する中和抗体であり、⑥新型インフルエンザワクチン＝スワインインフルエンザウイルスワクチンではな

く、今回用いるプロトタイプワクチンはアジュバント加全粒子ワクチンであり、同じ水酸化アルミゲルをアジュバントとして用いている沈降DPTワクチンの経験からギラン・バレー症候群（GBS）を発症させる危険性は少なく、⑦新型インフルエンザウイルスが免

疫のない人の中で感染する間はウイルスの中和に関与するサイトが変異した株は流行せず、⑧標準的な抗体測定方法がないためお互いのワクチンの効果は比較できない(世界保健機関の見解)⁸⁾。である。なお、保存されていたスワインインフルエンザワクチンをマウスに接種すると、GBS 発生に関与する抗体である抗ガングリオシド抗体が検出されることが報告されている⁹⁾。

まとめ

スペイン風邪出現時に比べ、現在は医療や

ワクチン製造技術が進歩し、抗インフルエンザ薬もあるが、新型インフルエンザの出現は社会をパニックに陥れる危険性がある。特に本邦が備蓄しているプロトタイプワクチン(AH5N1)以外の亜型がパンデミックを起こしたときは、大パニックになると予測される。しかし、パンデミックウイルス株を用いて、プロトタイプワクチンと同じ組成のパンデミックワクチンを急いで製造し、接種すれば免疫の初期化が期待でき、流行のコントロールが可能と予測される。

Reference

- 1) 喜田 宏：地球におけるインフルエンザウイルスのゲノムプール。Current Therapy 24：1022-1026, 2006
- 2) 庵原俊昭：新型インフルエンザウイルスと感染予防対策～現行インフルエンザ対策も含め～。感染防止 17：1-8, 2007
- 3) 阪大微生物病研究会：沈降新型インフルエンザワクチン(H5N1 株)添付文書
- 4) 北里研究所：沈降新型インフルエンザワクチン(H5N1 株)添付文書
- 5) 厚生労働省：新型インフルエンザ対策ガイドライン(フェーズ4以降)。http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou04/index.html
- 6) 菅谷憲夫：新型インフルエンザ対策、ワクチンの問題点。日本医事新報 4390：81-84, 2008
- 7) 庵原俊昭：プレパンデミックインフルエンザワクチンの臨床試験計画：臨床とウイルス(印刷中)
- 8) http://www.who.int/vaccine_research/diseases/influenza/flu_trials_tables/en/print.html
- 9) Nachamkin I, Shadomy SV, Moran AP et al: Anti-ganglioside antibody induction by swine (A/NJ/1976/H1N1) and other influenza vaccines: Insights into vaccine-associated Guillain-Barre syndrome. J infect Dis 198: 226-233, 2008



5. パンデミック用プロトタイプワクチン (プレパンデミックワクチン) とパン デミックワクチンの現状

国立病院機構三重病院 小児科 いはらとしあき
庵原俊昭



KEY WORDS

新型インフルエンザ
季節性インフルエンザ
沈降新型インフルエンザワクチン
プロトタイプワクチン
パンデミックワクチン



Toshiaki Ihara

要 旨

インフルエンザパンデミックに備え、本邦では沈降新型インフルエンザワクチンが開発された。新型インフルエンザワクチンは免疫初期化の効率を高めるために、水酸化アルミゲルをアジュバントとして用いたアジュバント加全粒子ワクチンである。免疫原性は70%以上と良好であるが、皮下接種すると注射部位の副反応率が高いため、筋肉内接種が勧められている。このワクチンの臨床使用にあたっては、慎重論と積極論があり意見の一致をみていない。しかし、理論上水酸化アルミゲルをアジュバントとして用いたワクチンによるギラン・バレー症候群発症リスクの増加はなく、パンデミックにおいて多くのヒトが免疫を持つまでは中和エピトープが変異したウイルスは出現せず、追加接種により誘導された抗体は長期間効果が持続すると予測される。国民の安心を考えたワクチン対策も考慮すべきである。

はじめに

現在ヒトの間で流行しているインフルエンザウイルス以外の、効率よくヒトからヒトへ

感染する能力を身につけたA型インフルエンザウイルス亜型が新型インフルエンザウイルスである。歴史上新型インフルエンザは10～40年周期で出現しており、1968年にA香港型

表1 季節性インフルエンザと新型インフルエンザの特徴

項目		季節性インフルエンザ	新型インフルエンザ
疫学	流行規模	< 5%	大流行 (~50%)
	感染による病像	多くは再感染	初感染
	死亡率	0.05%	1~2%
ウイルス	亜型	AH1N1, AH3N2	AH5N1?
	変異	しやすい(抗体による選択)	しない*
	NA阻害剤	有効†	不明
ワクチン	感染予防レベル	NT \geq 40倍, HI \geq 40倍	不明
	免疫誘導	追加(boost)	初期化(prime)
	接種後の抗体価	高い	低い
	抗体持続期間‡	見かけは1年間	追加後は長期間
	組成	スプリット	全粒子/スプリット
	アジュバント	なし	あり¶

*多くの人が抗体を持つまでは変異ウイルスは流行しない

†日本のAH1N1亜型に対するタミフル®の耐性率は1.6%

‡抗体の有効期間には、ワクチン後の抗体レベル、ウイルスの変異が関係している

¶日本のプロトタイプワクチンは水酸化アルミゲルを使用、その他MF59, AS03を使用。

(AH3N2亜型)が新型インフルエンザとして出現してから今年で40年経過している¹⁾。この間の1977年にAソ連型(AH1N1亜型)の出現を認めたが、この亜型は1918年に出現したスペイン風邪(AH1N1亜型)の再燃であり、新型インフルエンザの概念とは少し異なっている。

1977年以降、A香港亜型とAソ連亜型が混在してヒトの間で流行しているが、近年家禽からヒトに感染するA型インフルエンザウイルス亜型(AH5N1, AH7N7, AH9N2)を認めるようになり、新型インフルエンザウイルス出現によるパンデミックの危険性が指摘されている。本稿では、パンデミック対策の重要な柱である新型インフルエンザに対するワクチン(新型インフルエンザワクチン)の現状について解説する。

1. 出現する新型インフルエンザ亜型

いずれのA型インフルエンザウイルス亜型が新型インフルエンザとなるかは不明である。歴史上アジアカゼ(AH2N2)、香港

カゼなどの新型インフルエンザウイルスが、東南アジアから出現したことから、現在東南アジアでニワトリからヒトへの感染が認められているAH5N1亜型が、新型インフルエンザとして有力視されている²⁾。さらに、AH5N1亜型にはいくつかのクレードがあり、世界中で広く鳥類から分離されるクレード2.2から出現する危険性が指摘されているが、この点も不明である。しかし、多くの国は、近いうちに新型インフルエンザのパンデミックが起こるとして対策を練っている。

なお、季節性インフルエンザとパンデミックインフルエンザは疫学的、ウイルス学的、ワクチン学的に別物であり(表1)、季節性インフルエンザに対する概念がパンデミックインフルエンザには当てはまらず、パンデミックインフルエンザの特徴にあった対策を立てる必要がある。ちなみにパンデミックウイルスの想定される基本再生産数は1.8であることから³⁾、集団免疫率は44%であり、流行初年度の流行規模は44~50%程度である。

表2 プレパンデミックワクチンとパンデミックワクチン

	プレパンデミックワクチン	パンデミックワクチン
株の由来	ニワトリから感染した 人から分離	ヒト-ヒト感染した 人から分離
亜型	AH5N1	不明
孵化鶏卵への毒性	強毒	不明
ワクチン株の毒性	弱毒化	不明
孵化鶏卵での増殖	株により異なる*	不明
ワクチン	1価	1価
製法	全粒子+アジュバント	全粒子+アジュバント

*ベトナム株の増殖性は悪いが、インドネシア株、安徽株の増殖性は良い

注) 現在製造しているプレパンデミックワクチンは、ベトナム株 (クレード1)、インドネシア株 (クレード2.1)、安徽株 (クレード2.3)、チンハイ株 (クレード2.2) の製造が計画されている。

II. プロトタイプワクチン (プレパンデミックワクチン) とパンデミックワクチン

パンデミックを起こす新型インフルエンザウイルスの亜型が不明なため、パンデミックワクチンの製造は不可能である。しかし、新型インフルエンザパンデミックに備え、季節性インフルエンザワクチンよりも免疫原性が優れたワクチンの開発が進んでいる⁴⁾。世界保健機関 (WHO) は、インフルエンザパンデミックに備え開発されているワクチンをプロトタイプワクチン (日本の通称: プレパンデミックワクチン) と呼んでいる。なお、パンデミック時にパンデミックを起こした株を用いて、プロトタイプワクチンの組成で生産されるワクチンがパンデミックワクチンである (表2)。多くの国では、パンデミックが有力視されているAH5N1亜型のうち、クレード1に属するベトナム株を遺伝子操作により弱毒化し、孵化鶏卵での増殖を可能とした株を用いてプロトタイプワクチンの開発を行っている。本邦ではベトナム株に加え、インドネシア株 (クレード2.1)、安徽株 (クレード2.3) を用いたプロトタイプワクチンが3,000万人分備蓄されている。

III. 期待する新型インフルエンザワクチンの免疫原性と安全性

一般が期待するワクチンは、免疫原性が優れ、反応性が少ない (安全性が高い) ワクチンである。パンデミック対策に用いられるプロトタイプワクチンは不活化ワクチンである。不活化ワクチンでは、まず2~3回接種することで免疫を初期化し、その後1回追加接種することにより免疫を賦活し、長期間の免疫持続が可能となる (初期化と追加: priming and boosting)。追加接種により賦活された抗体価のほうが、初回接種により誘導された抗体価よりも高値である。

季節性インフルエンザワクチンは、インフルエンザウイルスをエーテル処理して作成したスプリットワクチンであり、アジュバントを含んでいない (表1)。免疫の初期化効果は不十分であるが、免疫賦活効果は有している。接種対象者の多くは自然感染により免疫が誘導された人であり、安全性が優れたスプリットワクチンが用いられている。一方、パンデミックになってから接種されるワクチン (パンデミックワクチン) は、免疫を初期化し、しかも高いレベルの抗体価を誘導することで、パンデミック時の発症予防または重症

表3 沈降新型インフルエンザワクチンの副反応(%)

種類	皮下接種	筋肉内接種
副反応全体	92.4	75.3
注射部位反応		
紅斑	82.4	14.0
疼痛	69.4	71.3
そう痒感	61.2	8.0
腫脹	53.5	12.7
熱感	45.9	11.3
全身症状		
倦怠感	12.9	12.7
頭痛	2.0*	3.3

*第I相試験

化子防が期待されている。免疫の初期化効率を高めるために、世界各国のプロトタイプワクチンは、ウイルス全粒子を用い、アジュバントを添加した組成で開発が進められている。日本で開発されたパンデミック対策用の沈降新型インフルエンザワクチン（プロトタイプワクチン）は、ウイルス抗原として全粒子を用い、アジュバントとして水酸化アルミゲルを添加している（アジュバント加全粒子ワクチン）。

水酸化アルミゲルをアジュバントとして用いているワクチンには、沈降ジフテリア百日咳破傷風（DPT）混合ワクチン、沈降DTワクチン等がある。いずれも世界で広く使用されているワクチンである。沈降DPTワクチンでは、注射部位での局所反応の頻度は高いが、発熱率は低く、神経合併症の頻度は1,000万接種に2.1と極めて低率である⁵⁾。

IV. 日本のプロトタイプワクチンの開発状況

AH5N1亜型ベトナム株を用いて製造された沈降新型インフルエンザワクチンにより第I相試験、第II/III相試験が行われた。接種方法は3週ごとに2回接種（接種試験：半数が筋肉内接種、半数が皮下接種、接種量：

表4 中和法による新型インフルエンザワクチンの免疫原性の検討*

	A社	B社
第I相試験		
皮下接種	78.9	75.0
筋肉内接種	95.0	100.0
第II相試験		
皮下接種	70.9†	n.d.
筋肉内接種	n.d.	80.5

n.d.: not done

*接種後のNT抗体価4倍以上上昇率

†NT抗体価40倍以上で接種後4倍以上の上昇率

半数が5 μ g接種、半数が15 μ g接種)し、接種による安全性の確認と、免疫原性試験が行われた。

接種量にかかわらず、注射部位の副反応の頻度は筋肉内接種よりも皮下接種のほうが高く(表3)、5 μ g接種群および15 μ g接種群を併せた50%以上の頻度で出現する副反応としては、皮下接種では注射部位の紅斑、疼痛、そう痒感、腫脹、熱感などがあり、筋肉内接種では接種部位の疼痛のみであった。また全身反応としては、いずれの接種方法でも約12%に倦怠感、約3%に頭痛を認めたが、発熱は認められなかった⁶⁾⁷⁾。局所反応の面から沈降新型インフルエンザワクチンは筋肉内接種が勧められている。

ワクチン接種による抗体有意上昇の定義は、①抗体陰性者の抗体陽転化、②抗体の有意上昇、の両者を合わせたものである。AH5N1亜型に対する標準的な赤血球凝集抑制(HI)抗体測定法が確立しておらず、ウイルス抗体のゴールドスタンダードは中和(NT)法であることから、第II/第III相試験ではNT法により血清抗体価が測定された(表4)。15 μ g接種群における第II/第III相試験の抗体有意上昇率は、筋肉内接種では80.5%、皮下接種では70.9%であった⁶⁾⁷⁾。

なお、標準的な HI 抗体測定法が確立していないため、WHO はお互いのワクチン接種成績を比較するのは不適切と提言している⁹⁾。

交叉免疫性 (cross immunity) とは、ある株を用いて作成されたワクチンの接種により誘導された抗体が、同じ亜型の他のクレードの株にも反応することである。2008年の臨床研究では、インドネシア株および安徽株接種者の抗体が交叉免疫性を示すか調べることになっている。もし、クレードにかかわらず AH5N1 亜型に含まれるワクチン株で接種した抗体が、交叉免疫性を示すならば、孵化鶏卵での増殖がいい株を用いて製造されたワクチンを備蓄しておき、同じ亜型の流行時に接種すれば、パンデミック株のクレードが異なってもワクチンの効果が期待される。また、パンデミックワクチン製造までのつなぎ役として備蓄ワクチンの使用が可能である。

インフルエンザなどの局所性ウイルス感染症では、感染防御のためには高い抗体価の誘導が必要である。2008年度の臨床研究で、ブースター効果およびブースターにより誘導された抗体の交叉免疫性が示されるならば、プロトタイプワクチンを希望者にあらかじめ接種しておき、プロトタイプワクチンに使用した亜型と同じ亜型がパンデミックを起こしたとき、免疫が初期化されている人には、プロトタイプワクチンを1回追加接種し、抗体価を高めることにより、感染予防または重症化予防が期待される。

V. プロトタイプワクチンとギラン・バレー症候群 (GBS)

ギラン・バレー症候群 (GBS) は、突然起こる上向性の左右対称性の運動神経麻痺で、発症に感染後の免疫反応が関与している。特にカンピロバクター感染との関連が示されており、カンピロバクターに対する抗体

がガングリオシドと交叉反応し発症する。GBS 患者では各種の抗ガングリオシド抗体が検出される。現在 GBS の治療にはγグロブリン療法や血漿交換療法が行われ、良好な予後が得られている。

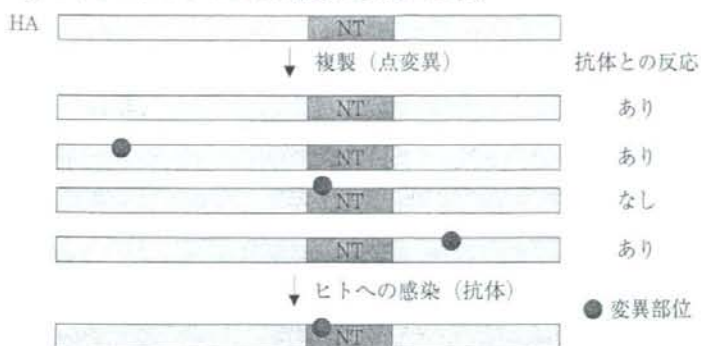
インフルエンザワクチンと GBS との関連性が疫学的に証明されているのは、1976年に用いられた A/NJ/1976 ワクチン (H1N1) のみであり、頻度は100万人に約8人であった⁸⁾。このワクチンは、アジュバントを含まないスプリットワクチンで、スワインインフルエンザの流行が危惧されたときに用いられた。このワクチンをマウスに接種すると抗ガングリオシド抗体が検出されるが、他の季節性インフルエンザワクチンでも同様の結果が示されており、スワインインフルエンザワクチンと GBS との病態的な関連性はいまだ不明のままである⁹⁾。米国の季節性インフルエンザワクチンの GBS 発症率は100万人に1人であり、インフルエンザの重篤度を考えると許容できる範囲とされている¹⁰⁾。一方、日本では季節性インフルエンザワクチンと GBS 発症との疫学的関連性はみられていない。

プロトタイプワクチンが GBS を発症させるかについては、①現行のインフルエンザワクチンと GBS 発症を関連づける根拠がなく、②水酸化アルミゲルをアジュバントとして用いている沈降 DPT ワクチンの神経合併症は極めて少ないことなどから、否定的である。

VI. 新型インフルエンザウイルスの変異とプロトタイプワクチンの効果

インフルエンザウイルスは RNA ウイルスのため、複製過程において点変異したウイルスが出現する。しかし、カモの間では HA 蛋白の中和サイトの変異した株の流行を認めないが、ヒトの間では中和サイトが変異した

【インフルエンザウイルスの複製と変異株の選択】



* 中和エピトープが変異した抗体と反応しない株が選択されて流行

図 抗体による季節性インフルエンザ HA 変異株の選択

表5 新型インフルエンザワクチン接種目的と接種対象者

1. 流行初期（流行地域限定）

- 1) 目的：医療を含めた社会機能の維持
- 2) 使用するワクチン：プレパンデミックワクチン
- 3) 接種対象者
 - ・医療従事者等：医療従事者、救急隊員、疫学調査員、ワクチン製造関係者
 - ・治安維持者：消防、警察、海上保安庁、矯正施設、自衛隊
 - ・ライフライン維持者：水道、電気、ガス、石油、食料販売関係
 - ・国または地方公共団体の危機管理に携わる者
 - ・情報提供に携わる者
 - ・輸送（交通機関など）に携わる者

2. 流行最盛期（流行地域拡大、パンデミック）

- 1) 目的：国民の保護（死亡を可能な限り抑制する）
- 2) 使用するワクチン：パンデミックワクチン
- 3) 接種対象者*：国民

*：流行するウイルスの病原性、重症度に応じて接種順を判断する
例：将来を守る：子ども＞医学的ハイリスク者＞成人＞高齢者

インフルエンザウイルスが流行する。この原因として、カモでは抗体を持たない免疫学的にバージンなホストに感染するのに対し、ヒトでは抗体を保有するホストに感染し、抗体により中和されない変異株が選択されるためである（図）。以上の結果から、新型インフルエンザウイルスは免疫を持たない集団にパンデミックを起こすため、多くの人々が抗体を持つまでは、変異株の流行は起こらないと予測される。

季節性インフルエンザワクチン接種により

誘導された抗体の持続期間は短期間（半年）と考えられている¹¹⁾。これは、ワクチン株と流行株の変異があるときに認められる現象であり、日本脳炎ワクチンや DPT ワクチンのブースター接種により誘導された抗体は長期間（約10年間）持続する。パンデミック時には多くの人々が抗体を持つまで中和エピトープが変異した株は流行しないので、ブースターにより誘導された抗体は、中和抗原が大きく変異した株が流行するまでは有効である。

プロトタイプワクチンおよびパンデミックワクチンの接種順は、流行段階や流行したインフルエンザの病像により異なっている(表5)¹²⁾。本邦では欧米と同様に、流行初期(フェーズ4)は医療従事者、治安・ライフラインの維持者に優先的に接種することが計画されている。流行最盛期(フェーズ6)の接種順については現在検討中であるが、世界保健機関は、新型インフルエンザウイルスの病原性は若者の死亡率が高かったスペイン風邪と同程度と考えており、この考えに立つならば、若者や成人、子どもを優先的に接種する必要がある。

パンデミックが始まるまでに多くの国民にプロトタイプワクチンを接種するかについては意見が分かれている。パンデミックを起こす亜型がAH5N1亜型であると確定できないことが大きな要素である。1つの考え方として、初回免疫の抗体価よりも追加接種後の抗体価の方が高いことから、国民の安心のために、プロトタイプワクチンを接種希望者に接種しておき、同じ亜型がパンデミックで出現したときに、1回追加接種するオプションは捨て去るべきでない。このオプションをとるときは、異なった亜型によるパンデミックが起こったときは、パンデミックワクチンを2回接種する必要があることを伝えておくべきである。なお、追加接種により有効な免疫力を獲得する期間は追加接種後1週間であり、初期化により有効な免疫力を獲得する期間は、2回目接種後3週後である。

パンデミックを起こすA型インフルエンザ亜型は不明であるが、パンデミックに備えた準備が進んでいる。日本で開発された沈降新型インフルエンザワクチンもその一貫である。このワクチンの臨床研究を進めながら、パンデミック対策におけるワクチンの位置づけを明確にしていく必要がある。

文 献

- 1) Morens DM, Fauci AS: The 1918 influenza pandemic: Insights for the 21st century. *J Infect Dis* 195: 1018~1028, 2007
- 2) 小田切孝人: H5N1高病原性鳥インフルエンザウイルスの最近の動向と国家備蓄ワクチン. *Current Therapy* 24: 1041~1047, 2006
- 3) 厚生労働省: 新型インフルエンザ対策ガイドライン(フェーズ4以降). <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou04/index.html>
- 4) http://www.who.int/vaccine_research/diseases/influenza/flu_trials_tables/en/print.html
- 5) 小倉英郎: DPT ワクチン接種後の副反応とその対策. 予防接種マニュアル, 改訂版. 新興医学出版社, 東京, pp74~85, 2005
- 6) 阪大微生物病研究会: 沈降新型インフルエンザワクチン(H5N1株)添付文書
- 7) 北里研究所: 沈降新型インフルエンザワクチン(H5N1株)添付文書
- 8) Shonberger LB, Bregman DJ, Sullivan-Bolyai JZ et al: Guillain-Barre syndrome following vaccination in the national influenza immunization program, United States, 1976-1977. *Am J Epidemiol* 110: 105~123, 1979
- 9) Nachamkin I, Shadomy SV, Moran AP et al: Anti-ganglioside antibody induction by swine (A/NJ/1976/H1N1) and other influenza vaccines: Insights into vaccine-associated Guillain-Barre syndrome. *J infect Dis* 198: 226~233, 2008
- 10) CDC: Prevention and control of Influenza. *MMWR* 56 RR-6: 1~54, 2007
- 11) 菅谷憲夫: 新型インフルエンザ対策, ワクチンの問題点. *日本医事新報* 4390: 81~84, 2008
- 12) 庵原俊昭: 新型インフルエンザウイルスと感染予防対策~現行インフルエンザ対策も含め~, *感染防止* 17: 1~8, 2007

わが国におけるプロトタイプワクチン臨床研究の概要

庵原俊昭*

キーワード 新型インフルエンザ プロトタイプワクチン パンデミック 免疫原性

はじめに

歴史上、インフルエンザウイルスA型は10～40年ごとに新しい亜型が出現し、世界中で大流行を起こしている¹⁾。現在流行しているA/H1N1(ソ連型)とA/H3N2(香港型)以外の効率よくヒト-ヒト感染する亜型が新型インフルエンザウイルスである。現在までのところ、新型インフルエンザウイルスの出現を阻止することは困難であり、いつかは出現すると考えられている。

新型インフルエンザ対策の基本は、できるだけ流行規模を小さくするとともに罹患者数、死亡者数を減少させ、社会機能を維持することである。流行規模を小さくする手段として、社会的対策、ワクチンの開発使用、抗インフルエンザ薬の開発使用などがある。本稿では新型インフルエンザ対策としてのワクチンの臨床開発、臨床研究について解説する。

I. ワクチン開発の基本的な流れ

ワクチン開発にあたっては、医薬品と同じステップで臨床試験が行われる。医薬品は患者に投与することにより有効性の評価ができるが、ワクチンの有効性は感染症の流行時にしか判定できないため、代わる指標として免疫原性が評価されており、免疫原性としては測定が簡便な

血中抗体が用いられている。なお、ワクチンも医薬品と同様に300人規模で免疫原性および安全性が評価された後、製造が承認され、製造承認後は3,000人規模の市販後調査が義務付けられ、その後もワクチンと関連がある重篤な有害事象を報告する義務を負っている。

II. ワクチンにより誘導される免疫

免疫に関係する細胞には免疫記憶細胞と免疫実行細胞とがある。免疫記憶細胞は免疫実行細胞を成熟、増加させる働きがあり、免疫実行細胞が抗体産生や感染細胞の細胞障害に働いている。一度誘導された免疫記憶細胞の機能はなくなりますが、免疫実行細胞は刺激がなくなれば次第に数は減少する。

免疫未熟細胞を免疫記憶細胞に成熟させ、免疫実行細胞を誘導することを免疫初期化(priming)といい、免疫実行細胞の数を増加させ抗体を高めることが免疫賦活(booster)である。不活化ワクチンでは最初に2～3回接種して免疫を初期化し、約1年後に1回追加接種して免疫を賦活する。効果的に賦活された免疫は約10年間持続する。一方、生ワクチンでは1回の接種で免疫初期化から免疫賦活まで一気に進展する。

III. プロトタイプワクチン

新型インフルエンザウイルスが登場しない限り新型インフルエンザワクチンは製造できない。しかし、新しい剤形のワクチンを開発するに

*いはら・としあき：国立病院機構三重病院院長。昭和49年三重県立大学医学部卒業。主研究領域／ウイルス学、感染免疫学、ワクチン学、小児科学。

表1 季節性インフルエンザワクチンとプロトタイプワクチン

項目	季節性インフルエンザワクチン	プロトタイプワクチン
ウイルス増殖方法 ワクチン抗原	孵化鶏卵* エーテル処理したウイルス (スプリットワクチン) エーテル処理後 HA を精製 (サブユニットワクチン)	孵化鶏卵* ウイルス全粒子 (全粒子ワクチン)
アジュバント 含まれる種類	なし 3種類 (AH1, AH3, B)	水酸化アルミニウム 1種類 (AH5)**
成人接種量	0.5ml	0.5ml
接種方法	皮下接種	筋肉内接種または皮下接種
免疫の初期化	弱い	良好
追加免疫効果	あり	あり
成人の接種回数	毎年1回	最初は2回***

HA：ヘマグルチニン

*培養細胞で増殖させたインフルエンザウイルスを用いて製造する研究が行われている

**プロトタイプワクチンの開発には AH5N1 亜型の株が用いられた

***追加接種は1回

(庵原俊昭：臨とウイルス 2008；36：276-281より引用、一部改変)

は数年間かかるため、パンデミック前から新型インフルエンザ対策に使用するワクチンを準備しておく必要がある。このパンデミックに備えて準備しておくワクチンがプロトタイプワクチンであり、パンデミック前に準備しているためプレパンデミックワクチンとも呼ばれている。WHOは、パンデミック時に同じ剤形でパンデミックウイルスを用いて製造するワクチンという意味で、プロトタイプワクチンを用いている。

IV. プロトタイプワクチンの開発戦略

現在使用されているインフルエンザワクチンは季節性インフルエンザワクチンと呼ばれ、ウイルス粒子をエーテルまたは界面活性剤で処理したスプリットワクチンである(表1)²⁾。スプリットワクチンは免疫初期化が弱く、交差免疫の範囲も狭いという欠点がある。また、インフルエンザは局所性ウイルス感染症であり、感染防御には比較的高い抗体価〔HI(hemagglutination inhibition；赤血球凝集抑制) ≥ 40 倍, NT(neutralization；中和反応) ≥ 40 倍〕が求められている。

新型インフルエンザは免疫のないヒトに流行するため、パンデミック時に求められるワクチンは、初回接種で免疫初期化と高い抗体の誘導ができ、広い交差免疫性をもつワクチンである。そこで、インフルエンザではウイルス全粒子を用いたほうがスプリットよりも免疫初期化が強く交差免疫性も広いこと、免疫原性を高めるためにアジュバントの添加が必要なこと、本邦で使用が許可されているアジュバントは水酸化アルミニウムであることなどを考慮し、水酸化アルミニウムをアジュバントとした全粒子ワクチン(アジュバント加全粒子ワクチン)が作製された³⁾。なお、プロトタイプワクチンの開発に用いられた亜型は新型になるリスクが高く、病原性が強い H5N1 亜型である。

V. プロトタイプワクチンの免疫原性と副反応

季節性インフルエンザでは一般に HI 法で血中抗体が測定されているが、H5N1 亜型では標準的な HI 法がなく、わが国では HI 法の開発が後れたため、プロトタイプワクチンの免疫原性

表2 プロトタイプワクチンの副反応率(%)

種類	皮下接種	筋肉内接種
副反応全体	92.4	75.3
注射部位反応		
紅斑	82.4	14.0
疼痛	69.4	71.3
掻痒感	61.2	8.0
腫脹	53.5	12.7
熱感	45.9	11.3
全身症状		
倦怠感	12.9	12.7
頭痛	2.0*	3.3

*第I相試験の結果
(庵原俊昭: 腫とウイルス 2008; 36:276-281 より引用, 一部改変)

の評価として血中NT抗体が測定された。第I相試験, 第II/III相試験における抗体陽性率は, 皮下接種では70.9~78.9%であったのに対し, 筋肉内接種では80.5~100%と, 筋肉内接種のほうが高値であった²⁾。なお, 一部の血清では接種前からNT抗体が検出されていたが, 明確な類縁亜型との接触歴がないため, ヘマグルチニン(HA)に対する抗体のみを測定するHI法とは異なり, NT法では, HA, ノイラミニダーゼ(NA)などすべての構造蛋白に対する抗体を総合的に測るためと考えられている。

開発時のプロトタイプワクチンの副反応を表2²⁾に示した。局所の紅斑, 掻痒感, 腫脹, 熱感などの副反応は, 皮下接種のほうが筋肉内接種よりも高頻度に認められたが, 全身症状の頻度は同程度であり, 発熱は認めなかった。抗体反応や局所反応からプロトタイプワクチンは筋肉内接種が勧められている。

VI. 2008年プロトタイプワクチンの臨床研究

プロトタイプワクチン開発にあたっては, リバースジェネティクスによりHAを弱毒化後, A/Puerto Rico/8/34 (PR-8株, H1N1)とリアソータントしたベトナム株(クレード1)を用い

たが, この株は孵化鶏卵での増殖が悪いため, 同様の技術で, 孵化鶏卵での増殖がいいインドネシア株(クレード2.1), 安徽株(クレード2.3)を用いて新たなプロトタイプワクチンが製造された。2008年の臨床研究では, ①ベトナム株接種を受けた200人を対象にインドネシア株または安徽株1回接種による追加免疫効果および交差免疫性を調べる研究, ②200人を対象にインドネシア株または安徽株2回接種による免疫初期化, 交差免疫性, 免疫持続性を調べる研究, ③6,000人を対象にインドネシア株または安徽株を2回接種し安全性を調べる研究の3種類の研究が実施されている。

開発時の抗体反応から, わが国のプロトタイプワクチンは免疫初期化が示されているが, 追加接種により免疫賦活を認めるならば, プロトタイプワクチンによる免疫初期化を裏付ける結果となる。また, 初回接種と追加接種の株が異なっても同じ亜型の接種により追加免疫を認め, 交差免疫が認められるならば, クレードにかかわらず孵化鶏卵での増殖が良い株で製造されたワクチンでフェーズ3の時期に初回接種をしておくと, 同じ亜型のウイルスがパンデミックを起こしたとき, 1回の追加接種で高い免疫を短期間で誘導することができ, 発症予防や軽症化が期待できる。なお, 最近, 株が異なっても同じ亜型ならば追加免疫と交差免疫が認められることが報告され, 米国ではフェーズ3にワクチンを接種する戦略が提唱されている^{4,5)}。

インドネシア株または安徽株による免疫初期化がベトナム株と同様に認められ, また安全性も同じならば, わが国が開発したプロトタイプワクチンは有効な剤形であり, パンデミック株を用いて同じ剤形で製造すれば, 効果的な免疫誘導と安全性が期待できる。また, 初回接種によって交差免疫性が認められるならば, 備蓄している亜型と同じ亜型がパンデミックを起こしたときは, 備蓄しているワクチンの初回免疫で, 感染による重症化予防が期待できる。なお,

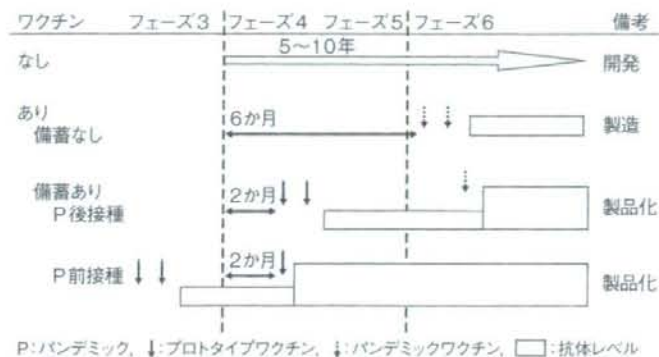


図1 プロトタイプワクチンの使い方

6,000人規模の安全性研究とは、市販後調査に基づく研究規模であり、インフルエンザワクチンで問題となる神経合併症を確認するためには、さらに大規模な接種が必要である。

VII. プロトタイプワクチンの使い方(図1)

パンデミックが起こってからパンデミック株を用いてワクチンを製造するには最低でも6か月が必要であり、備蓄しているワクチンを製品化するには1~2か月が必要である⁶⁾。また、ワクチンの初回接種により免疫が誘導されるには少なくとも6週間は必要であるが、追加接種による効果は接種後1週で認められ、しかもその抗体価は初回接種による抗体価よりも高値である。

WHOがフェーズ4を宣言後、新型インフルエンザウイルスが国内に入ってくるまでの期間が長ければ、備蓄しているプロトタイプワクチンを接種して流行規模を小さくすることは期待できるが、侵入までの期間が短ければプロトタイプワクチン接種も間に合わない危険性がある。今回の研究で、米国での研究と同様に追加免疫および交差免疫性が認められるならば、希望者に前もってプロトタイプワクチンを接種しておき、パンデミック時に追加接種するのは効果的な感染予防対策である。なお、この対策を実施

するうえでの問題点は、新型インフルエンザウイルスがH5N1亜型と断言できないことである。

おわりに

2008年度に行われている臨床研究で目的どおりの成果が得られるならば、フェーズ3を行うプロトタイプワクチン接種は効果的な新型インフルエンザ対策の1つとなること、また、わが国が開発したプロトタイプワクチンは、株を変えても効果的な免疫誘導が可能であることを示している。

..... 文 献

- 1) Morens DM, Fauci AS: The 1918 influenza pandemic: insights for the 21st century. *J Infect Dis* 2007; 195: 1018-1028.
- 2) 庵原俊昭: プレパンデミックインフルエンザワクチンの臨床試験計画. *臨とウイルス* 2008; 36: 276-281.
- 3) 多田善一: 鳥インフルエンザワクチンの開発について. *臨とウイルス* 2007; 35: 426-438.
- 4) Goji NA, Nolan C, Hill H, et al: Immune responses of healthy subjects to a single dose of intramuscular inactivated influenza A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) vaccine after priming with an antigenic variant. *J Infect Dis* 2008; 198: 635-641.
- 5) Poland GA, Sambhara S: Vaccines against influenza A (H5N1): evidence of progress. *J Infect Dis* 2008; 198: 629-631.
- 6) 城野洋一郎: H5N1 ワクチンの開発および備蓄状況. *インフルエンザ* 2008; 9: 143-149.

Cytoplasmic Domain of Influenza B Virus BM2 Protein Plays Critical Roles in Production of Infectious Virus[†]

Masaki Imai,¹ Kazunori Kawasaki,² and Takato Odagiri^{1*}

Laboratory of Influenza Viruses, Department of Virology 3, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 208-0011, Japan,¹ and Research Institute for Cell Engineering, Kansai Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Osaka 563-8577, Japan²

Received 10 August 2007/Accepted 30 October 2007

Influenza B virus BM2 is a type III integral membrane protein that displays H⁺ ion channel activity. Analysis of BM2 knockout mutants has suggested that this protein is a necessary component for the capture of M1-viral ribonucleoprotein (vRNP) complex at the plasma membrane and for incorporation of vRNP complex into the virion during the assembly process. BM2 comprises 109 amino acid residues and possesses a longer cytoplasmic domain than the other 3 integral membrane proteins (hemagglutinin, neuraminidase, and NB). To explore whether the cytoplasmic domain of BM2 is important for infectious virus production, a series of BM2 deletion mutants lacking three to nine amino acid residues at the carboxyl terminus, BM2Δ107-109, BM2Δ104-109, and BM2Δ101-109, was generated by reverse genetics. Intracellular transport and incorporation into virions were indistinguishable between truncated BM2 proteins and wild-type BM2. The BM2Δ107-109 mutant produced levels of infectious virus similar to those of wild-type virus and displayed a spherical shape. However, the BM2Δ104-109 and BM2Δ101-109 mutants produced viruses containing dramatically reduced vRNP complex, as with BM2 knockout mutants, and formed enlarged, irregularly shaped virions. Moreover, gradient separation of membranes indicated that membrane association of M1 from mutants was greatly affected by carboxyl-terminal truncations of BM2. Studies of alanine substitution mutants further suggested that amino acid sequences in the 98–109 region are variable while those in the 86–97 region are a prerequisite for innate BM2 function. These results indicate that the cytoplasmic domain of the BM2 protein is required for firm association of the M1 protein with lipid membranes, vRNP complex incorporation into virions, and virion morphology.

Influenza A and B viruses are enveloped viruses that assemble at the plasma membrane of infected cells and release by budding. The core consists of a helical ribonucleocapsid (RNP) that contains the eight RNA segments encapsidated with nucleoprotein (NP) and polymerase proteins. The envelope accommodates three to four different transmembrane proteins: hemagglutinin (HA) glycoprotein; neuraminidase (NA) glycoprotein; and either M2 in influenza A virus or BM2 in influenza B virus. Influenza B virus contains an additional transmembrane protein, NB. The M1 matrix protein forms a layer underneath the viral envelope and also surrounds the viral RNP (vRNP) complex. M1 is thought to play a pivotal role in virus assembly, interacting with the vRNP complex and the cytoplasmic domain (endodomain/tail) of glycoproteins, as well as with membranes of infected cells (30).

The cytoplasmic domains of the HA and NA glycoproteins have also been shown to play regulatory roles in virus assembly. In the influenza A virus, HA and NA significantly enhance the membrane association of M1 (6, 10) and recruit M1 to lipid rafts (1, 53). Deletion of the cytoplasmic domains of the HA and NA glycoproteins has drastic effects on virus morphology (1, 17, 27) and genome packaging in virions (52). Furthermore,

a recent study demonstrated that the cytoplasmic domains of HA and NA are required for efficient incorporation of M1 into virus-like particles (4). These observations have suggested that the specificity of the assembly process is governed by interactions between cytoplasmic domains of glycoproteins and the M1 protein. The importance of the cytoplasmic domain of viral glycoproteins in virus assembly and budding has already been confirmed for other enveloped negative-strand RNA viruses (7, 26, 33, 40, 41, 46).

The BM2 protein of influenza B virus is a phosphoprotein that is synthesized in the late phase of infection and is incorporated into the virion as a relatively minor component (32). This protein, like M2 in influenza A virus, functions as a proton channel that is essential for dissociation of vRNP from M1 during the uncoating process and for preservation of the native conformation of HA during transport to the cell surface (28). Reverse-genetics studies have shown that BM2 knockout virus lacking the ability to synthesize the BM2 protein does not grow substantially in cell culture, indicating that the BM2 protein is necessary for the viral replication cycle (12, 14). In addition, BM2-knockout virus shows dramatically reduced incorporation of vRNP and M1 into virions (14). These findings further suggest that BM2 plays crucial roles in the virion assembly process in addition to the uncoating process.

BM2 is a tetrameric type III transmembrane protein with a C_{in}N_{out} orientation and comprises a 23-amino-acid transmembrane domain and an 86-amino-acid cytoplasmic domain (35, 47). The transmembrane domain of BM2 can act as an ion channel for protons (28). Mutant virus with a BM2 protein

* Corresponding author. Mailing address: Laboratory of Influenza Viruses, Department of Virology 3, National Institute of Infectious Diseases, Gakuen 4-7-1 Musashi-Murayama, Tokyo 208-0011, Japan. Phone: 81-42-561-0771. Fax: 81-42-561-0812. E-mail: todagiri@nih.go.jp.

[†] Published ahead of print on 7 November 2007.