

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

「インフルエンザワクチンの有効性と安全性の向上のための理論基盤構築」

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 石井 健

(独) 医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクトリーダー

平成23(2011)年 4月

目 次

I. 総括研究報告

インフルエンザワクチンの有効性と安全性の向上のための理論基盤構築

石井 健 ----- 1-13

II. 分担研究報告

課題1. ワクチン・アジュバントの有効性と安全性を定義する分子レベルでの理論基盤

課題2. 注射型と粘膜型ワクチンの有効性、安全性における相違点の理論基盤構築

課題3. ウイルス株間の防御抗原の交差反応性と防御効果についての科学的根拠とその応用

課題4. ワクチンアジュバントによる副反応と副作用の分子メカニズム解明と解決方法の模索

課題5. ワクチンの「真」の有用性をヒトの検体を用いた免疫学的方法で検討する臨床研究

石井健、長谷川秀樹、清野宏 (課題1 & 2) ----- 14-17

長谷川秀樹、迫田義博 (課題2 & 3) ----- 18-24

神谷齊、中山哲夫、迫田義博 (課題4 & 5) ----- 25-30

中山哲夫、神谷齊 (課題4 & 5) ----- 31-35

石井健 (課題4 & 5) ----- 36-38

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 39-40

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 別紙

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

「インフルエンザワクチンの有効性と安全性の向上のための理論基盤構築」

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 石井 健

研究要旨：

インフルエンザワクチンは、季節性のワクチンのみならず、近年の新型インフルエンザ（H1N1）の影響もあり、研究開発が最も盛んで接種対象者数も多い。その種類は多岐にわたっているものの、その微生物学的、細胞生物学的、免疫学的な観点から見た「作用機序」は、ワクチンの有効性や安全性の向上にとっては非常に重要であるにもかかわらず、未知の部分が非常に大きい。

そこで本研究代表者、分担者らはワクチンの基礎研究、開発研究、臨床試験などに携わる中で上記の問題を共有し、議論を重ねた結果、インフルエンザワクチンにおいて臨床的にも重要と思われるが分子から個体レベルでの科学的根拠が特に乏しい研究項目として下記の5点を同定した。

- 1) ワクチン・アジュバントの有効性と安全性を定義する分子レベルでの理論基盤構築
 - 2) 注射型と粘膜型ワクチンの有効性、安全性における相違点の理論基盤構築
 - 3) ウイルス株間の防御抗原の交差反応性と防御効果についての科学的根拠とその応用
 - 4) ワクチン・アジュバントによる副反応と副作用の分子メカニズム解明と解決方法の模索
 - 5) ワクチンの「真」の有用性をヒトの検体を用いた免疫学的方法で検討する臨床研究
- よって本研究では、上記5課題を基礎、臨床研究、臨床医などによって形成された本研究班にて迅速かつ正確に解決を目指していく。また得られた知見や情報を、公開討論やワークショップなどを科学者、一般向けに開催して議論を深めるとともにインフルエンザワクチン開発に向けた最新情報をわかりやすく理解してもらうことを図る。平成22年度の成果として下記に詳細を報告する。

石井 健（研究代表者）	医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト （兼）大阪大学免疫学フロンティア研究センター
神谷 齊（故）（研究分担者）	国立病院機構三重病院
清野 宏（研究分担者）	東京大学医科学研究所
迫田義博（研究分担者）	北海道大学大学院獣医学研究科動物疾病制御学講座
中山哲夫（研究分担者）	北里生命科学研究所
長谷川秀樹（研究分担者）	国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター第6

室

A. 研究目的

本研究は、多岐にわたるインフルエンザワクチンの種類、投与方法、アジュバントによる免疫原性誘導のメカニズムの相違点や、副反応および副作用と呼ばれる現象の作用機序を解明することにより、より安全で有効性の高いインフルエンザワクチン開発に必須な生物学的、医学的理論基盤を構築することを目的とする。

本研究代表者、分担者らはワクチンの基礎研究、開発研究、臨床試験などに携わるものとしてディスカッションを重ねた結果、特に、インフルエンザワクチンにおいて臨床的にも重要と思われるが分子、細胞、組織、個体レベルでの科学的根拠が乏しい研究項目を5項目同定した(上記)。本研究計画立案について特記すべき点は、平成21年度に行われたアラムアジュバントを含有する全粒子H5N1プレパンデミックワクチンの小児での臨床試験(神谷齊国立病院機構三重病院名誉院長を研究代表者とする「沈降型インフルエンザワクチン(H5N1株)保存血清を使った臨床研究)での高頻度の発熱症例が見られた点を中心とした結果を基盤として臨床家と基礎研究者が一堂に介して、終日(平成21年11月3日)忌憚のない議論を重ねて浮かび上がってきた。これらの問題点はインフルエンザ感染対策として、ワクチン行政の上で最も緊急かつ重要な課題でもあり、基礎研究者と臨床研究者が本研究のような班を組んで行わなければならない領域である。ただ単に「研究の為にワクチンを開発します」、ではなく「基礎研究結果や臨床試験結果による問題点を起点としてエビデンスを形成し、最終的にはワクチン行政や感染対策そして開発にその方向性の判断の理論基盤を賦与する」点が本研究課題の特色であり、独創的な点である。代表者の石井らはイ

ンフルエンザワクチンを含めた各種ワクチン、アジュバントの自然免疫受容体、シグナル伝達経路、細胞などを同定し、分子レベルで生体のワクチン作用機序を解明してきた。

分担者の神谷らは一貫して臨床家としての視点からインフルエンザワクチンの開発研究に従事し、季節性、H5N1高病原性、新型(H1N1)のワクチンの臨床試験を行ってきた。特に小児での全粒子ワクチン+アラムアジュバントの治験にて高頻度の発熱症例を経験し、この原因究明に取り組んでいる。

分担者の中山は、麻疹ウイルスの分子疫学、麻疹ワクチン弱毒の分子基盤の研究を一貫して行い、ワクチンの有効性、安全性に関する研究を臨床検体を用いて行っている。

分担者の清野は粘膜免疫の基礎的研究成果をもとに、経口・経鼻ワクチン開発に向けた先導的研究を行っている。

分担者の長谷川らは粘膜投与型ワクチンの交叉防御効果を示す研究成果を発表し、現在H5N1およびH1N1ウイルスに対する経鼻ワクチンの臨床開発を進めている。

分担者の迫田らはインフルエンザAウイルスの全種類のライブラリーを整備するとともに、当該ライブラリーを用いてインフルエンザワクチン開発に向けてのウイルスバンク構築を進めている。

上記のように代表者、各分担者の研究の情報を共有しディスカッションを重ねることが、本研究の課題である「ワクチンの作用、副作用の作用機序解明とその分子メカニズムに基づいた有効性、安全性の理論基盤構築」という目標達成に必要不可欠と考える(下記の流れ図参照)



B. 研究方法

課題1：ワクチン・アジュバントの有効性と安全性を定義する分子レベルでの理論基盤構築 (石井、清野、長谷川)

インフルエンザワクチンはいくつも種類があり、生ワクチン、全粒子ワクチン、スプリットHAワクチンなどの剤型、皮下、筋肉、経鼻、舌下などの投与方法、アジュバントの有無に至るまで多岐にわたっている。これらの有効性、安全性がどのように自然免疫によって制御されているか解明する。そこで申請者はこれら異なるワクチン形態の免疫原性とアジュバント効果のメカニズムを解明するため、1) ワクチン構成成分においていったい何がアジュバントとして働いているか、2) 生体、特に経鼻的に免疫した際のワクチンを取り込む細胞はなにか、アジュバントの自然免疫シグナルを伝える細胞が

なにかを同定し、また、3) どのようなエフェクター因子(液性因子、細胞間相互作用を含む)が関与しているか、免疫学的、分子生物学的手法を用いて解析する。さらには現在日本で唯一認可されているH1N1ワクチンであるHAスプリットワクチンの免疫原性が全粒子や生ワクチンに比較して減弱している予備データをj得ていることから、これに加えるべきアジュバントを上記1-3)のデータをもとに効率よく、効果および安全性を改善する方法を模索する。

課題2：注射型と粘膜型ワクチンの有効性、安全性における相違点の理論基盤構築 (清野、長谷川、石井)

呼吸器粘膜系に関して清野らは、マウスモデルにおいてその中心的役割を果たすNALTの組織形成メカニズムから生物学的機能を明らかにし、経鼻ワクチンの理論的基盤を構築した。し

かしヒトでは同一の組織は存在せず扁桃腺に代表されるワルダイアーリングが類似の機能を持つとされる。マウスとヒトの鼻腔、口腔のワクチン免疫機能の相違点や上気道、下気道の感染免疫、ワクチン免疫機構の解明を分子生物学的手法、細胞免疫学的手法なども用い行う。これらの解析により、インフルエンザワクチンの投与方法やアジュバントの開発のみならず、ワクチンの副反応・副作用の軽減に向けた免疫学的な理論基盤の構築を目指す。

課題3：ウイルス株間の防御抗原の交差反応性と防御効果についての科学的根拠とその応用
(長谷川、迫田)

H5N1のワクチンにおいてCladeの異なるワクチンの接種順序により交叉防御能が変わるかどうかといった問題に対し、マウスを用いた実験系で接種順序による交叉防御能の違いを皮下接種及び経鼻接種を比較する事により検討を行う。特に粘膜免疫を代表とする分泌型IgAと全身系免疫を反映する血清IgG抗体レベルでそのサブクラスも考慮して検討を進める予定である。本課題での成果は上記の課題1と2にもフィードバックされ、より効果があり安全な次世代型インフルエンザワクチン開発への貴重な情報を提供する。

課題4：ワクチン・アジュバントによる副反応と副作用の分子メカニズム解明と解決方法の模索

(神谷、中山、石井)

H5N1のワクチンにおいて成人での製造承認許可を受けて小児から思春期(6ヶ月～20歳まで)での使用についても検討を開始した(別の厚労科研? そうであれば記載したら?)。小児例では中和抗体価の上昇は良かったが、初回接種後24時間以内から3日目までにかけて

39～40℃の発熱する症例が半数以上に見られた。先の研究(厚労科研H5N1ワクチン治験 正式名入れる)で見られた発熱者の血清を使用して、その原因を探るため血中の炎症性・発熱性サイトカイン等の検討をする予定である。具体的にはH5N1のパンデミックワクチン接種前後の血清において同意書を取り直し、保存されている微研、北里のワクチン接種後の血清計100例前後の血清のEIA IgG subclass抗体を検査する。また、血清中から採取できる新しい情報としてマイクロRNAに注目してこれを網羅的に解析してワクチンの副反応、有効性に寄与するものがあるか検討する。

課題5：ワクチンの「真」の有用性をヒトの検体を用いた免疫学的方法で検討する臨床研究
(中山、神谷、(小林、熊谷)、石井)

種々のH5N1ワクチンの形態(全粒子不活化、全粒子不活化+アルミアジュバント、スプリット、その他)を作製し各年齢層のヒト末梢リンパ球を培養しワクチン抗原で刺激し産生されるサイトカインを網羅的に解析する。Th1/Th2応答、炎症性サイトカインを測定し免疫応答、発熱等の副反応と関連性が見いだせるかどうかを検討する。また、血清中から採取できる新しい情報としてマイクロRNAに注目してこれを網羅的に解析してワクチンの副反応、有効性に寄与するものがあるか検討する。

C. 研究結果

・研究代表者(石井 健)

(1)各種インフルエンザワクチンの免疫学的機序を生体レベルで証明し、ヒトでの現象との関連性を示した(Koyama S et al Science Translational Medicine 2010)。

(3) 本研究内容の「議論を深め」、「啓蒙を図る」一環として、ワクチンフォーラム 2010 を開催し、本研究班主催のアジュバントワークショップにてアジュバント開発研究の新展開や審査行政への提言を行い、また、本研究班を中心に「次世代アジュバント研究会」を発足させた。

・研究分担者(神谷齊、中山哲夫、熊谷卓司、石井健)

(1) ワクチン接種後の小児の発熱の疫学的解析を行う目的で先の研究 (BK-PIFA/KIB-PIA の健康小児を対象とした臨床試験: 代表研究者 神谷齊) で見られた発熱者の血清を使用して、その原因を探るため血中の炎症性・発熱性サイトカイン等の検討をするための臨床研究の開始準備が完了した。

(2) 上記の H 5 N 1 全粒子ウイルスおよびアラムアジュバントによる小児のみ、かつ 1 回目免疫のみでの発熱に関し、マウスでの再現実験を行うため新たにマウス体温と行動を計時的に記録する装置を開発した(特許申請準備中)。

・研究分担者(清野 宏)

(1) ナノゲル型デリバリーシステムを用いて、インジュウム標識¹¹¹In ワクチンやアジュバントのマウス鼻腔上皮細胞等への挙動を検討したところ、マウス鼻腔上皮細胞上へのワクチンの保持時間の大幅延長という点で、CT と同様の効果が認められた。

・研究分担者(長谷川秀樹)

(1) 経鼻ワクチン接種において初回免疫と抗原性の異なるワクチン株で追加免疫した場合の免疫応答について検討し、抗原性の異なる不活化全粒子ワクチン接種による免疫履歴がある場合には、全粒子ワクチンの一回経鼻接種で、新規ウイルスの感染を防御する事が明らかとなった。

・研究分担者(迫田 義博)

(1) H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスの抗原変異株が、鶏にワクチンを接種している国で出現しているが、現在国内に備蓄されている H5 亜型鳥インフルエンザワクチンの発症防御効果が十分でないことを明らかにした。

D. 考察

期待される成果：

1) 関連する世界的な先端研究を推進している免疫学、ワクチン学、感染症学、小児科学専門家がマトリックス状に研究を展開するテーマを核として、他の厚労科研関連研究班や異分野の研究者とも積極的交流を図る。その結果、次世代型インフルエンザワクチン開発研究者クラスターが形成され、新たなワクチン研究のブレイクスルーと効率のよいワクチン開発が期待される。

2) 本研究で得られた知見や知識を、定例の報告だけでなく、公開討論やワークショップなどを科学者、一般向けに開催して議論を深めるとともに啓蒙を図る。その結果として国民に対し、インフルエンザワクチンによる国の感染対策を「基礎と臨床のエビデンス」に基づいた理論基盤に基づいて提供することが可能になると期待される。

今後の課題：

<課題 1：ワクチン・アジュバントの有効性と安全性を定義する分子レベルでの理論基盤構築>

生体、特に経鼻的に免疫した際のワクチンを取り込む細胞はなにか、アジュバントの自然免疫シグナルを伝える細胞がなにかを同定し、また、どのようなエフェクター因子(液性因子、細胞間相互作用を含む) が関与しているか、免疫学的、分子生物学的手法を用いて解析する。

<課題 2：注射型と粘膜型ワクチンの有効性、安全性における相違点の理論基盤構築 >

マウスとヒトの鼻腔、口腔のワクチン免疫機能の相違点や上気道、下気道の感染免疫、ワクチン免疫機構の解明を分子生物学的手法、細胞免疫学的手法なども用い行う。具体的にはインジュウム標識111Inと18F蛋白PETを併用して、最初にマウスを用いてワクチンとアジュバンドの体内動態・脳内移行を試験するほか、上記試験系を駆使して、ヒトに近いサルを用いてワクチンとアジュバンドの体内動態・脳内移行を試験する。

<課題3：ウイルス株間の防御抗原の交差反応性と防御効果についての科学的根拠とその応用>

H5N1のワクチンにおいてCladeの異なるワクチンの接種順序により交叉防御能が変わるかどうかといった問題に対し、マウスを用いた実験系で接種順序による交叉防御能の違いを皮下接種及び経鼻接種を比較する事により検討を行う。

<課題4：ワクチンアジュバンドによる副反応と副作用の分子メカニズム解明と解決方法の模索>

H5N1のワクチンの小児臨床試験で見られた発熱者の血清を使用して、その原因を探るため血中の炎症性・発熱性サイトカイン、miRNA等の解析を開始する。

<課題5：ワクチンの「真」の有用性をヒトの検体を用いた免疫学的方法で検討する臨床研究>

種々のH5N1ワクチンの形態（全粒子不活化、全粒子不活化+アルミアジュバンド、スプリット、その他）を作製し各年齢層のヒト末梢リンパ球を培養しワクチン抗原で刺激し産生されるサイトカインを網羅的に解析する。

E. 結論

一年目の報告ということで臨床研究など開始できたばかりのものもあるが、論文発表や

知財の出願のみならず、異分野の研究者、臨床医が集う班会議は申請の際に予想していた以上に盛り上がりを見せている。ワクチンフォーラム、アジュバンド研究会といった会議も共催し、また、一般の方も含めたインフルエンザワクチンの研究や臨床の最新の知見を発表、啓蒙に勤めた。本研究の期待される成果として、ワクチン臨床試験、審査、行政を含めたインフルエンザ感染対策の判断に「基礎と臨床のエビデンス」に基づいた理論基盤を提供することが可能になると期待される。平成22年度の中途にて分担研究者であり、インフルエンザワクチンの臨床研究で世界的な権威でもあられる神谷斎先生が急逝されたのが唯一の心残りであるが、神谷先生の遺志を引き継ぐべく、平成23年度はますます本研究班の発展にまい進したい。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表などの成果

研究代表者（石井 健）

受賞

1. 第35回(2010年度)「多ヶ谷勇記念ワクチン研究」イスクラ奨励賞「ワクチンアジュバンドの自然免疫認識機構の解明」

学術論文(英文・すべて査読付)

1. Kuroda E, Ishii KJ, Uematsu S, Ohata K, Coban C, Akira S, Aritake K, Urade Y, Morimoto Y. "Silica crystals and aluminum salts regulate the production of prostaglandin in macrophages via NALP3 inflammasome-independent mechanisms." *Immunity* in press 2011
2. Fujimoto K, Karuppachamy T, Takemura N, Shimohigoshi M, Machida T, Haseda

- Y, Aoshi T, Ishii KJ, Akira S, Uematsu S. "A new subset of CD103+CD8alpha+ DCs in the small intestine express TLR3, TLR7 and TLR9, and induce Th1 response and CTL activity" *J. Immunol.* In press 2011
3. Kawashima A, Tanigawa K, Akama T, Wu H, Sue M, Yoshihara A, Ishido Y, Kobiyama K, Takeshita F, Ishii KJ, Hirano H, Kimura H, Sakai T, Ishii N and Suzuki K. "Fragments of genomic DNA released by injured cells activate innate immunity and suppress endocrine function in thyroid." *Endocrinology*, 2011 February 8 doi:10.1210/en.2010-1132 In press
 4. Daito H, Kikuchi T, Sakakibara T, Gomi K, Damayanti T, Zaini J, Tode N, Kanehira M, Koyama S, Fujimura S, Ebina M, Ishii KJ, Akira S, Takai T, Watanabe, A, Nukiwa T. "Mycobacterial hypersensitivity pneumonitis requires TLR9-MyD88 in lung CD11b+, CD11c+ cells." *Eur Respir J.* 2011 Jan 27. PMID: 21273385. In press
 5. Jounai N, Kobiyama K, Shiina M, Ogata K, Ishii KJ, Takeshita F. "NLRP4 Negatively Regulates Autophagic Processes through an Association with Beclin1." *J Immunol.* 2011 186(3):1646-55
 6. Ezoe H, Akeda Y, Piao Z, Aoshi T, Koyama S, Tanimoto T, Ishii KJ, Oishi K. "Intranasal vaccination with pneumococcal surface protein A plus poly(I:C) protects against secondary pneumococcal pneumonia in mice." *Vaccine.* 2011 29(9):1754-61
 7. Kobiyama K, Jounai N, Ishii KJ, Horii T, Suzuki K, Ryo A, Takeshita F. "Modulation of intracellular signaling using protein-transduction technology." *Crit Rev Immunol.* 2010;30(5):395-421. (REVIEW)
 8. Yamaguchi T, Kawabata K, Kouyama E, Ishii KJ, Katayama K, Suzuki T, Kurachi S, Sakurai F, Akira S, Mizuguchi H. Induction of type I interferon by adenovirus-encoded small RNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Oct 5;107(40):17286-91
 9. Horii T, Shirai H, Jie L, Ishii KJ, Palacpac NQ, Tougan T, Hato M, Ohta N, Bobogare A, Arakaki N, Matsumoto Y, Namazue J, Ishikawa T, Ueda S, Takahashi M. "Evidences of protection against blood-stage infection of *Plasmodium falciparum* by the novel protein vaccine SE36." *Parasitol Int.* 2010 59(3):380-6.
 10. Coban C, Horii T, Akira S, Ishii KJ. "TLR9 and endogenous adjuvants of the whole blood-stage malaria vaccine." *Expert Rev Vaccines.* 2010 9(7):775-84. (REVIEW)
 11. Coban C, Yagi M, Ohata K, Igari Y, Tsukui T, Horii T, Ishii KJ, Akira S. "The Malarial Metabolite Hemozoin and Its Potential Use as a Vaccine Adjuvant." *Allergol Int.* 2010 59(2). (REVIEW)
 12. Koyama S, Aoshi T, Tanimoto T, Kumagai Y, Kobiyama K, Tougan T, Sakurai K, Coban C, Horii T, Akira S*, Ishii KJ*. Plasmacytoid dendritic cells delineate immunogenicity of influenza vaccine subtypes. *Sci Transl Med.* 2010 2(25):25ra24.
 13. Coban C, Igari Y, Yagi M, Reimer T, Koyama S, Aoshi T, Ohata K, Tsukui T, Takeshita F, Sakurai K, Ikegami T, Nakagawa A, Horii T, Nunez G, Ishii KJ*, Akira S* "Immunogenicity of whole parasite vaccines against *Plasmodium Falciparum* involves malarial hemozoin and host TLR9" *Cell Host Microbe* 2010; 7(1) p50-61
 14. Kobiyama K, Takeshita F, Jounai N,

Sakaue-Sawano A, Miyawaki A, Ishii KJ, Kawai T, Sasaki S, Hirano H, Ishii N, Okuda K, Suzuki K. "Extra-chromosomal histone H2B mediates innate antiviral immune responses induced by intracellular double-stranded DNA." *J Virol.* 2010; 84(2):822-32

15. Reimer T, Shaw MH, Franchi L, Coban C, Ishii KJ, Akira S, Horii T, Rodriguez A, Núñez G. "Experimental Cerebral Malaria Progresses Independently of the Nlrp3 Inflammasome." *Eur J Immunol.* 2010 40(3):764-9.

総説および書籍

1- Koyama S, Akira S and Ishii KJ. "Immune recognition of nucleic acids and their metabolites" Extra Nucleic Acids, edited by Kikuchi Y, Ryokova ET, *Springer*, 2010 (BOOK CHAPTER)

2- 津久井利広、Coban, Cevayir, 八木正典、大畑敬一、猪狩義勝、福井真人、堀井俊宏、審良静男、石井 健 「マラリアヘモゾインに対するTLR9での反応と免疫増強効果」**臨床免疫・アレルギー科** (2011) 55(1) : 28-34

3- 青枝大貴、審良静男、石井 健 「生体防御機構—Toll-like receptors ノックアウトマウス」**マウス・ラット疾患モデル活用ハンドブック** (秋山徹、奥山隆平、河府和義編) 2011年1月1日発行 羊土社

4- 小山正平、石井 健 「粘膜アジュバント」**臨床粘膜免疫学** (清野宏編) 2010年12月20日発行 シナジー社

5- 鉄谷耕平、石井 健 「アジュヴァント小史」**臨床とウイルス**, 38(5) : 367-378, 2010.

6- 小山正平、石井 健 「ワクチンアジュバントの必要性と安全性」**医学のあゆみ** (2010) 234(3):217-221. 2010

7- 青枝大貴、石井 健 「ワクチンを考えるうえで必要な免疫の知識」**臨床検査** Vol. 54 No. 11 2010. 10. 30 増刊号

8- 小山正平、石井 健 「ウイルス感染予防に用いられるワクチンアジュバント」**次世代ワクチンの産業応用技術** (神谷 齊監修) シーエムシー出版 2010年9月30日 p112-124

9- 東岸任弘、石井 健、堀井俊宏 「マラリアワクチンの実現に向けて」**次世代ワクチンの産業応用技術** (神谷 齊監修) シーエムシー出版 2010年9月30日 p175-186

10- 小檜山康司、石井 健 「DNAセンサーとその生理的意義」**細胞工学** Vol. 29 No. 10(2010. 9. 22) p1004-1013

11- 小檜山康司、石井 健 「自然免疫とワクチン開発」**医学のあゆみ** Vol. 234 No. 5(2010. 7. 31) p608-614

12- 小檜山康司、石井 健 「アジュバントに関する最新の話」**臨床と微生物** 2010年5月 37(3) 187-194

13- 青枝大貴 「リステリア感染脾臓における宿主-病原体ダイナミクス」**医学のあゆみ** 232巻13号 Page1271-1276(2010).

14- 東岸 任弘, 石井 健, 堀井 俊宏 「マラリアワクチンの臨床開発」**Drug Delivery System** Vol. 25 (2010) , No. 1 pp. 37-45

15- 小山正平、貫和敏博、石井 健 「インフルエンザウイルスワクチンの考え方と自然免疫」**分子呼吸器病** 2010年 Vol 14(1) p42-45

※学会発表

【国内学会：招待講演】

1. 石井健 「自然免疫による核酸認識機構とその生理的意義」遺伝子・デリバリー研

究会 第 10 回シンポジウム (北海道大学
学術交流会館) 2010 年 6 月 2 日

2. 石井健「ワクチンのメカニズムとアジュ
バント開発研究の新展開」DDS 学会学
術集会 (大阪国際交流センター) 2010 年
6 月 17 日

3. 石井健「自然免疫とワクチン、アジュ
バント開発研究の新展開」日本薬学会 フ
ォーラム 2010 衛生薬学・環境トキシコロ
ジー (星薬科大学) 2010 年 9 月 10 日

4. 石井健「インフルエンザワクチン: 有
効なインフルエンザワクチンを求めて」第
37 回日本小児臨床薬理学会 シンポジウ
ム (東京国際フォーラム) 2010 年 11 月
2 日

5. 石井健「アジュバント総論および新ア
ジュバントの開発」第 11 回医薬品等ウ
イルス安全性シンポジウム (北里大学薬学
部コンベンションホール) 2010 年 11 月
26 日

6. 石井健 「Innate Immune
Mechanisms of Vaccines」(英語) 日本
免疫学会シンポジウム 「自然免疫と予防
戦略」(一橋記念講堂) 2010 年 12 月 3
日 (CB 医療介護ニュースより取材を受け
る)

7. 石井健「Extracellular nucleic acids
: 細胞外核酸の新たな息吹: 環境科学、
医科学での機能研究の新展開」(英語) 第
33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本
生化学会大会 合同大会 (BMB2010) 神
戸国際会議場 2010 年 12 月 9 日

8. 石井健「DNA ワクチンと核酸アジュ
バント開発研究の新展開」第 4 回分子複合
医薬研究会 (産業技術総合研究所・関西セ
ンター (池田市)) 2011 年 1 月 19 日

9. 石井健「自然免疫とワクチン、アジュ

バント開発研究の新展開」第 8 回 生物学
的製剤治療研究会 (横浜) 2011 年 1 月 27
日

10. 石井健「自然免疫とワクチン、アジュ
バント開発研究の新展開」第 35 回皮膚科
免疫セミナー (品川) 2011 年 3 月 5 日

11. 石井健「ワクチン-アジュバントの免
疫学的作用機序」日本薬学会シンポジウム
第 131 年会 (静岡) ワクチンアジュバント
- その有効性と安全性について - 薬学的
視点から考える 2011 年 3 月 30 日

【国内学会その他セミナーなど: 招待講 演】

1. 石井健「自然免疫システムにおける病
原体認識に関わる分子群の構造解析」平成
22 年度産学懇談会 (日本製薬工業協会)
2010 年 7 月 7 日

2. 石井健「自然免疫とワクチン、アジュ
バント開発研究の新展開」彩都バイオサイ
エンスセミナー (彩都バイオヒルズセンタ
ー) 2010 年 7 月 22 日

3. 石井健「アジュバント開発研究とその
審査行政の現状と未来」ワクチンフォー
ラム 2010~日本発のワクチン開発をめざし
て~ (新宿明治安田生命ホール) 2010 年
9 月 14 日

4. 石井健「アジュバント開発研究と審査
行政の現状: アジュバントガイドラインに
ついて」ヒューマンサイエンス振興財団ワ
クチンワーキンググループ勉強会 (東京)
2010 年 9 月 28 日

5. 石井健「自然免疫システムにおける病
原体認識に関わる分子群の構造解析」ター
ゲットタンパク成果発表会 (東京大学医学
部) 2010 年 10 月 18 日

6. 石井健「アジュバント開発研究の新展

開」第13回ヒューマンサイエンス総合研究ワークショップ(国際会議場 国立がんセンター内) 2010年11月24日

7. 石井健「急がば回れ:メカニズム重視のアジュバント開発研究への転換」平成22年度 第三回 血液・安全性研究部セミナー「ワクチンアジュバントーその開発から品質管理まで」(国立感染症研究所) 2010年12月17日

8. 石井健「ワクチン、アジュバント開発研究の新展開」講演会 ゼリア新薬工業本社(東京日本橋) 2011年1月25年

9. 石井健「急がば廻れ:安全性重視のワクチンアジュバント開発研究」スーパー特区フォーラム(大阪、千里ライフサイエンス) 2011年1月26日

10. 石井健「ワクチン開発における前臨床試験の進め方」【ワクチン】の動向をふまえた開発・事業戦略セミナー(東京・五反田) 2011年2月25日

11. 石井健「ワクチンを科学する: ~自然免疫からのアプローチ~」一般(中高生)向け発表会:『科学の進歩が医療を変える!~研究者が語る 科学の楽しさ~』 2011年3月21日 神戸

【国内学会:一般講演】

1. 江副 浩和, 明田 幸宏, 朴 貞玉, 青枝 大貴, 小山 正平, 谷本 武史, 石井 健, 大石 和徳 「インフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎球菌性肺炎マウスモデルの構築と PspA 肺炎球菌ワクチンの効果」第83回日本細菌学会総会 2010年(パシフィコ横浜)(優秀ポスター賞)
2. 東岸 任弘, 石井 健, 堀井 俊宏 「新規アジュバント添加による次世代 SE36 マラリアワクチンの開発と実用化:旅行者

用ワクチンへのアプローチ」第14回日本ワクチン学会学術集会(九段会館) 2010年12月11日(日経新聞報道)

【国際学会:招待講演】

1. ISHII KJ "Plasmacytoid dendritic cells in influenza vaccine response" 4th European Congress of Virology (Villa Erba Congress Centre, Como, Italy) April 8, 2010

2. ISHII KJ "Innate Immune Mechanisms of Vaccines" The Fall Congress of The Pharmaceutical Society of Korea (Cheongju, Korea) Oct 20, 2010

3. ISHII KJ "Innate Immune Mechanisms of Vaccines" The CSI-IFReC Joint Symposium on Immunology (Hangzhou, China) Nov. 3rd 2010

4. ISHII KJ "Innate control of vaccine immunogenicity by nucleic acid adjuvants" Cold Spring Harbor Meeting China: FRONTIERS OF IMMUNOLOGY IN HEALTH&DISEASES (Suzhou, China) Nov 7, 2010

5. ISHII KJ "Innate Immune Mechanisms of Vaccines" Institut Pasteur of Shanghai. (Shanghai, CHINA) Nov 10, 2010

6. ISHII KJ "Innate Immune Mechanisms of Vaccines" The 2010 Fall Conference of The Korean Association of Immunologists (Seoul, KOREA) Nov 18, 2010

7. ISHII KJ "Innate Immune Mechanisms of Vaccines" Joint

Symposium of CRCID&PCBMI Vaccine & Inflammation (Seoul, KOREA) Nov 20, 2010

8. ISHII KJ "Nucleic Acids and their Metabolites as Vaccine Adjuvant" 3rd annual meeting for Oligonucleotide and Peptide® Technology and Product Development (Asia TIDES) (Tokyo, Japan) March 3rd 2011

【国際学会：一般講演】

1. ISHII KJ "Innate immune signaling pathways essential for DNA and viral vaccines" KEYSTONE SYMPOSIA : Immunological Mechanisms of Vaccination" (Seattle, USA) Workshop Oct 29, 2010 (Oral presentation and session chair)
2. Coban C., Yagi M., Igari Y., Ohata K., Reimer T., Takeshita F., Tsukui T., Horii T., Nunez G., Ishii K. J. and Akira S. "Immunogenicity of whole-parasite vaccines against Plasmodium falciparum involves malarial hemozoin and host TLR9" 14th International Congress of Immunology. August 22-27, 2010, Kobe, Japan. (Oral presentaion)
3. Koyama S., Aoshi T., Tanimoto T., Kumagai Y., Kobiyama K., Tougan T., Sakurai K., Coban C., Horii T., Akira S., Ishii K.J. "Plasmacytoid dendritic cells delineate immunogenicity of influenza vaccine subtypes." 14th International Congress of Immunology (ICI2010), (Kobe, Japan) Aug. 23, 2010 (Poster)
4. Kobiyama K., Takeshita F, Jounai N, Suzuki K, and Ishii KJ. "Extra-chromosomal histone H2B mediates innate antiviral immune

responses induced by intracellular double-stranded DNA." 14th International Congress of Immunology. August 22-27, 2010, Kobe, Japan. (Poster)

5. Ezoe H., Akeda Y., Aoshi T., Koyama S., Tanimoto T., Piao Z., Ishii K. J. and Oishi K. "Immunoprotective effects of pneumococcal surface protein A(PspA) on secondary pneumococcal pneumonia after influenza virus infection" 14th International Congress of Immunology. August 22-27, 2010, Kobe, Japan. (Poster)

国際特許出願

1. Immunologic adjuvant composition and use thereof. Inventor: Akira Shizuo, Takeuchi Osamu, Matsushita Kazuhumi, Ishii Ken. Applicant: Osaka University. WO/2010/098429 : PCT/JP2010/053051
2. Novel Malaria vaccine. Inventor: Horii Toshihiro, Ishii Ken, Tougan Takahiro. Applicant Osaka University. WO/2010/126151 PCT/JP2010/057719

一般紙・業界紙・一般向け雑誌等への掲載、テレビ・新聞報道など

1. インフルエンザワクチンの作用機序解明に関する論文発表 (Koyama S et al Science Translational Medicine 2010 2(25):25ra24.) に関し、各報道機関から

- 1) MSNニュース、Business week、USA Today など (海外) 「Clues Found to How Different Flu Vaccines Work」 4月1日
- 2) NHKニュース (平成22年4月1日)

- 3) 日本経済新聞「インフルワクチン、感染歴で効力差」4月1日
- 4) 共同通信「ワクチン働く仕組み解明：インフルエンザで」4月1日
- 5) 朝日新聞「感染歴なくともワクチン効果：インフル免疫補助剤開発」4月6日
- 6) 産経新聞「インフルエンザワクチン働く仕組み解明」4月1日
- 7) 時事通信「インフルワクチン免疫力向上：ウイルスRNA関与」4月1日
- 8) 日経BTJ「基盤研、東北大、北九州大、阪大など、各種インフルエンザワクチンの作用機序を詳細に調べ、特殊な樹状細胞が重要な鍵を握ると発表」4月5日
などで報道された。

2. 特集：免疫って何？にて「インフルエンザ」に関するインタビュー記事。雑誌名：免疫サポート（別冊がんサポート）エビデンス社 2010年 Vol.1 p20-21（他の協力者：岸本忠三先生、谷口克先生（理研）、山本一彦先生（東大）など）

3. 特集：働き！免疫にて「ワクチン接種をする理由」に関するインタビュー記事。雑誌名：免疫サポート（別冊がんサポート）エビデンス社 Vol.3 p18-21

4. 学会レポート「3rd Vaccine Global Congress」文責 石井健 感染・炎症・免疫 第40巻 第2号 p97-101 2010年 7月10日発行（医薬の門社）

5. 2010年12月3日日本免疫学会（東京）のシンポジウム発表後に医療関連の記者（キャリアブレインニュース）からインタビューを受け、「どんな確率でもワクチン

副作用ないよう研究続ける」という題で動画ニュース配信された。

6. 阪大微研（堀井教授）、阪大微研会、ジーンデザインと共同で開発しているマラリアワクチン、および核酸アジュバントに関して 日本経済新聞「マラリア予防ワクチン」という見出しで12月28日で報道された。

7. 医薬基盤研究所を中心に、内外の製薬企業20社を含むアジュバント研究者による「次世代アジュバント研究会」を立ち上げ、新規アジュバント開発研究のみならず、安全性研究にも重点をおいたコンソーシアムの確立を目指すこととなった。日本経済新聞（10月15日）、薬事日報、日刊薬業、日経BTJ（10月18日）に報道された。（報道提供による発表）

分担研究者（中山哲夫）

- 1) Okada K, Komiya T, Yamamoto A, Takahashi M, Kamachi K, Nakano T, Nagai T, Okabe N, Kamiya H, Nakayama T. Safe and effective booster immunization using DTaP in teenagers. *Vaccine* 28: 7626-7633, 2010
- 2) Sakata M, Nakayama T. Protease and helicase domains are related to the temperature sensitivity of wild-type rubella viruses. *Vaccine* 29: 1107-1113, 2011
- 3) Sawada A, Komase K, Nakayama T. AIK-C measles vaccine expressing fusion protein of respiratory syncytial virus induces protective antibodies in cotton rats. *Vaccine* 29: 1481-1490, 2011

研究分担者 (清野 宏)

1. Nochi T, Yuki Y, Takahashi H, Sawada S, Mejima M, Kohda T, Harada N, Kong IG, Sato A, Kataoka N, Tokuhara D, Kurokawa S, Takahashi Y, Tsukada H, Kozaki S, Akiyoshi K, **Kiyono H**. Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines. *Nat Mater*. 2010 9:572-8.
2. Tokuhara D, Yuki Y, Nochi T, Kodama T, Mejima M, Kurokawa S, Takahashi Y, Nanno M, Nakanishi U, Takaiwa F, Honda T, **Kiyono H**. Secretory IgA-mediated protection against *V. cholerae* and heat-labile enterotoxin-producing enterotoxigenic *Escherichia coli* by rice-based vaccine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 107:8794-9.
3. Kayamuro H, Yoshioka Y, Abe Y, Arita S, Katayama K, Nomura T, Yoshikawa T, Kubota-Koketsu R, Ikuta K, Okamoto S, Mori Y, Kunisawa J, **Kiyono H**, Itoh N, Nagano K, Kamada H, Tsutsumi Y, Tsunoda SI Interleukin-1 family cytokines as mucosal vaccine adjuvants for induction of protective immunity against influenza virus. *J Virol*. 2010 84(24):12703-12.
4. Obata T, Goto Y, Kunisawa J, Sato S, Sakamoto M, Setoyama H, Matsuki T, Nonaka K, Shibata N, Gohda M, Kagiya Y, Nochi T, Yuki Y, Fukuyama Y, Mukai A, Shinzaki S, Fujihashi K, Sasakawa C, Iijima H, Goto M, Umesaki Y, Benno Y, **Kiyono H**. Indigenous opportunistic bacteria inhabit mammalian gut-associated lymphoid tissues and share a mucosal antibody-mediated symbiosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 20;107:7419-24.

研究分担者 (長谷川 秀樹)

1. Ichinohe T, Ainai A, Ami Y, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Suzuki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Strayer D, Carter W, Chiba J, Tamura S, Sata T, Kurata T, **Hasegawa H** Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus *Journal of Medical Virology*, 2010 Oct;82(10):1754-61

研究分担者 (迫田 義博)

1. Okamatsu M, Tanaka T, Yamamoto N, **Sakoda Y**, Sasaki T, Tsuda Y, Isoda N, Kokumai N, Takada A, Umemura T, Kida H. Antigenic, genetic, and pathogenic characterization of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses isolated from dead whooper swans (*Cygnus cygnus*) found in northern Japan in 2008. *Virus Genes*, 41. 351-357. 2010
2. **Sakoda Y**, Sugar S, Batchluun D, Erdene-Ochir TO, Okamatsu M, Isoda N, Soda K, Takakuwa H, Tsuda Y, Yamamoto N, Kishida N, Matsuno K, Nakayama E, Kajihara M, Yokoyama A, Takada A, Sodnomdarjaa R, Kida H. Characterization of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus strains isolated from migratory waterfowl in Mongolia on the way back from the southern Asia to their northern territory. *Virology*, 406. 88-94. 2010

厚生労働科学研究費補助金

「インフルエンザワクチンの有効性と安全性の向上のための 理論基盤構築」

課題1：ワクチン・アジュバントの有効性と安全性を定義する分子レベルでの理論基盤構築

課題2：注射型と粘膜型ワクチンの有効性、安全性における相違点の理論基盤構築

研究分担者：石井健、清野宏、長谷川秀樹

研究要旨：インフルエンザワクチンの免疫学的作用機序に関する詳細な検討を行い、マウスおよびヒトの実験系を用いて、スプリットワクチン、全粒子ワクチン、生ワクチンの違いを自然免疫の観点から検討し、その責任細胞、受容体、エフェクター分子を同定した。

粘膜ワクチン特に、経鼻投与でのワクチン・アジュバントの有効性、安全性を検証するためにまず本年度は次の実験を推進した。ワクチンとしてテタヌストキソイド (TT) や組換えポツリヌス毒素ワクチン (Hc) を使い、アジュバント併用型としてコレラトキシン (CT) を用いた場合と最近我々が開発したナノゲル型デリバリーシステムを用いて、インジュウム標識 111In ワクチンやアジュバントのマウス鼻腔上皮細胞等への挙動を検討した。

また、3つのグループで独自に粘膜ワクチン、およびアジュバント、デリバリーシステムの開発研究を進めた。

A. 研究目的

＜インフルエンザワクチンの種類による作用機序の相違＞

インフルエンザワクチンはその形態によって弱毒化生ワクチン、不活化全粒子ワクチン、不活化スプリットワクチンの3種類に分類することができる。弱毒化生ワクチンは米国のみで認可されており、日本では不活化スプリットワクチンのみが使用されています。全粒子ワクチンは1970年代まで日本でも使用されていたが、発熱などの副反応が問題視され、副反応の少ないとされるスプリットワクチンに移行した。ただ、スプリットワクチンの有効性は低いことも指摘されており、最近のH5N1鳥インフルエンザウイルスに対応したプレパンデミックワクチンの開発は、有効性を高めるために全粒子ワクチンにさらにアジュバントが加えられた。

昨今の新型インフルエンザウイルスの流行やそのワクチン行政の動向からもインフルエンザワクチンの適切な開発、使用方法の判断材料としての科学的エビデンスが不足していることが指摘されている。しかしながら、インフルエンザワクチンの作用機序に関する詳細な検討、とくにアジュバント成分の分子レベルでのメカニズム解明はなされていなかった。

本研究では、上述の異なる作成方法(剤形)で、成分も作用も異なる3種類のインフルエンザワクチンがどのようにして認識されて自然免疫システムを活性化し、ワクチンの効果を誘導しているのか、マウスや人の実験系を用いて詳細に解析した。

＜粘膜ワクチン特に、経鼻投与でのワクチン・アジュバントの有効性、安全性＞

粘膜ワクチン特に、経鼻投与でのワクチン・アジュバントの有効性、安全性を検証するため

にまず本年度は次の実験を推進した。ワクチンとしてテタヌストキソイド (TT) や組換えボツリヌス毒素ワクチン (Hc) を使い、アジュバント併用型としてコレラトキシン (CT) を用いた場合と最近我々が開発したナノゲル型デリバリーシステムを用いて、インジュウム標識 111In ワクチンやアジュバンドのマウス鼻腔上皮細胞等への挙動を検討した。

B. C. 研究方法および結果

＜インフルエンザワクチンの種類による作用機序の相違＞

これまでインフルエンザウイルスの認識に関わる様々な自然免疫応答が研究され、免疫細胞の表面や中には、Toll-like receptor (TLR) 7 (トル様受容体 7), Retinoic acid inducible gene-1 (RIG-I), ある種の Nod-like receptor (NLR) の 3 つの受容体 (いわゆるセンサー) がインフルエンザウイルスの成分を特異的に認識できることが知られていた。

今回は我々は、それらの受容体の作用をそれぞれ欠損したマウスを用いて、上記 3 種類のワクチンを投与してそのワクチン効果 (すなわちインフルエンザワクチン抗原に対する免疫反応が起きているか、抗体の量を測ったり、細胞の活性化を測って判断する) を比較した。

その結果、生ワクチン、(不活化) 全粒子ワクチンには TLR7 を特異的に活性化する内因性のアジュバント成分があることがわかったが、その一方で、日本で季節性、新型インフルエンザのワクチンとして使用されているスプリットワクチンでは自然免疫の活性化がほとんど見られず、ワクチン効果も低いことが判明した。さらにマウスにおいてはスプリットワクチンのみの投与ではインフルエンザウイルスの感染防御能は誘導されなかった。一方で、人ではほとんどの人がインフルエンザに感染歴

があるためスプリットワクチンではすでにある免疫を再活性化して効果を発揮していることも人の血液を使った実験で判明した。

ところが同じ不活化ワクチンでも、全粒子ワクチンでは中に含まれているウイルスの核酸 (RNA) が TLR7 をよく活性化して、それがアジュバント効果を発揮することでワクチンの効果もスプリットワクチンより高いことが判明した。さらにその効果は、マウスでも、人でも血液や組織にまれにあることが知られている形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid DC; pDC) が TLR7 や TLR9 をたくさん持っていて、こうウイルス作用を持つことで知られる I 型インターフェロンという分子を産生することによってワクチンの効果が誘導されていることが判明した。人の血液を使った実験でも同様に形質細胞様樹状細胞がインフルエンザワクチンに反応して I 型インターフェロンを産生させることも判明した。

そこで最後にこれらの成果を応用して、実際にスプリットワクチンに同じように pDC を活性化できる TLR9 のリガンド (新規開発中の DNA アジュバント) を加えることで全粒子ワクチンと同じレベルまでワクチンの効果が増強されることが明らかになった。

＜粘膜ワクチン特に、経鼻投与でのワクチン・アジュバンドの有効性、安全性＞

(1) アジュバントである CT はマウス鼻腔上皮細胞、NALT に 48 時間以上にわたって保持された。

(2) CT 添加 TT ワクチンは CT 無添加の TT ワクチンに比較して、マウス鼻腔上皮細胞に 48 時間以上に保持されたが、NALT には 6 時間以降は保持されなかった。

(3) ナノゲル型 Hc ワクチンは単体 Hc に比較して、マウス鼻腔上皮細胞に 48 時間以上

に保持されたが、NALTには6時間以降減衰し、単体Hcと差はなかった。

D、E. 考察と結論

＜インフルエンザワクチンの種類による作用機序の相違＞

以上の結果から、実験で用いたマウスの様にこれまでにインフルエンザウイルスにかかったことの無いような乳幼児などに対しては、少なくともpDCの活性化やそれに伴うI型インターフェロンの産生がみられる全粒子ワクチンやアジュバントを入れたワクチンが現在使用されているスプリットワクチンより有効である可能性が高いといえる。ただし、現在使われているスプリットワクチンは効果がないわけではなく、すでに何らかの状況で暴露された成人では自然免疫の活性化を伴わないワクチンでも十分な効果発現を認める可能性が高いことも明らかとなった。また、自然免疫を活性化するアジュバントを使えばさらに有効なワクチンを開発できるということも確認された。

今後このような分子から生体のレベルにおいてワクチンの作用機序を正確に解明していくことは副作用の少なく安全で、かつ有効性が高い次世代のワクチン開発や、ワクチン行政の判断基準において非常に重要であるといえる。＜粘膜ワクチン特に、経鼻投与でのワクチン・アジュバンドの有効性、安全性＞

ナノゲル化することによりワクチンはCTアジュバント同等の免疫誘導効果を発揮することが知られているが、その効果はマウス鼻腔上皮細胞上へのワクチンの保持時間の大幅延長という点で、CTと同様の効果が認められた。

F. 健康危険情報

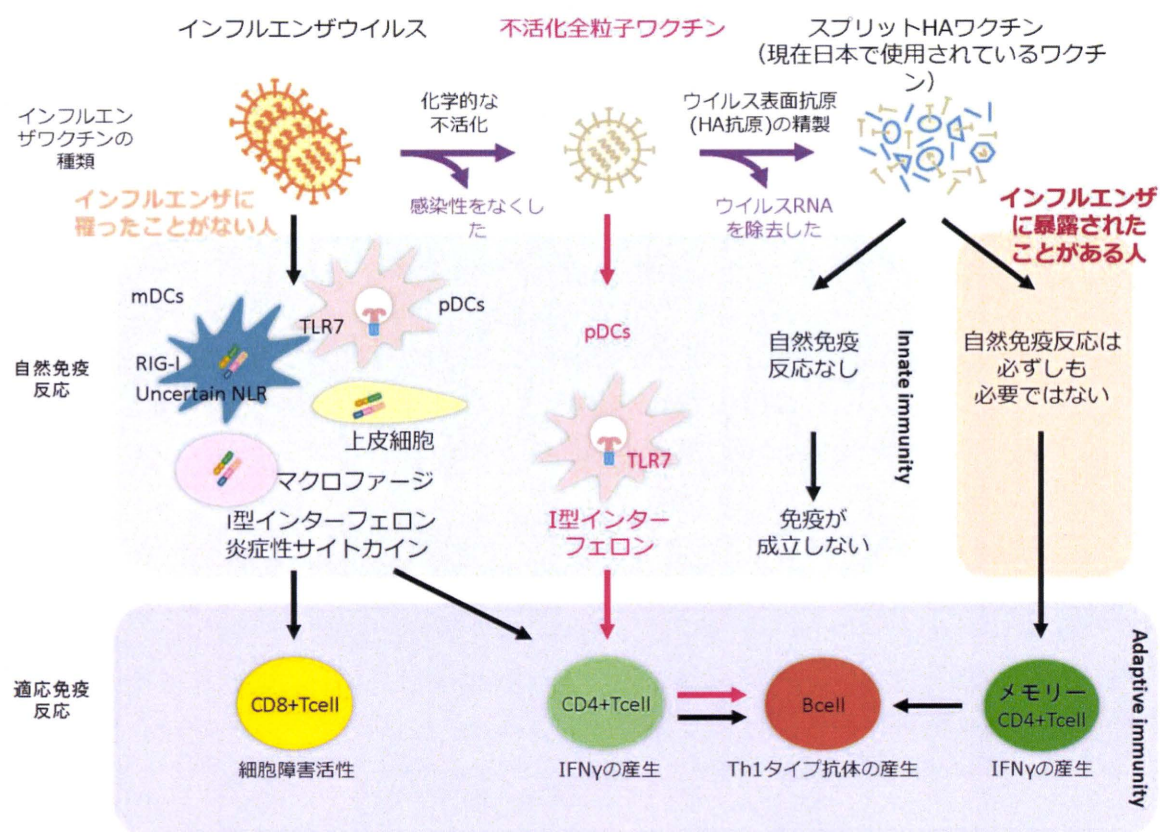
とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Koyama S, Aoshi T, Tanimoto T, Kumagai Y, Kobiyama K, Tougan T, Sakurai K, Coban C, Horii T, Akira S*, Ishii KJ*. Plasmacytoid dendritic cells delineate immunogenicity of influenza vaccine subtypes. *Sci Transl Med*. 2010 2(25):25ra24.
2. Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines. Nochi T, Yuki Y, Takahashi H, Sawada S, Mejima M, Kohda T, Harada N, Kong IG, Sato A, Kataoka N, Tokuhara D, Kurokawa S, Takahashi Y, Tsukada H, Kozaki S, Akiyoshi K, Kiyono H. *Nat Mater*. 2010 9:572-8.
3. Secretory IgA-mediated protection against *V. cholerae* and heat-labile enterotoxin-producing enterotoxigenic *Escherichia coli* by rice-based vaccine. Tokuhara D, Yuki Y, Nochi T, Kodama T, Mejima M, Kurokawa S, Takahashi Y, Nanno M, Nakanishi U, Takaiwa F, Honda T, Kiyono H. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 107:8794-9.
4. Indigenous opportunistic bacteria inhabit mammalian gut-associated lymphoid tissues and share a mucosal antibody-mediated symbiosis. Obata T, Goto Y, Kunisawa J, Sato S, Sakamoto M, Setoyama H, Matsuki T, Nonaka K, Shibata N, Gohda M, Kagiya Y, Nochi T, Yuki Y, Fukuyama Y, Mukai A, Shinzaki S, Fujihashi K, Sasakawa C, Iijima H, Goto M, Umesaki Y, Benno Y, Kiyono H. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 20:107:7419-24.

図1. インフルエンザワクチンの免疫学的機序の解明： 石井健



*上記図の成果に関する論文 (Koyama S et al Science Translational Medicine 2010 2(25):25ra24) や関連する日本語総説は下記の研究室ウェブサイトからダウンロードできます。

<http://www.nibio.go.jp/adjvant/publications.html>

厚生労働科学研究費補助金

「インフルエンザワクチンの有効性と安全性の向上のための 理論基盤構築」

課題2：注射型と粘膜型ワクチンの有効性、安全性における相違点の理論基盤構築

課題3：ウイルス株間の防御抗原の交差反応性と防御効果についての科学的根拠とその応用

研究分担者：長谷川 秀樹、迫田 義博

研究要旨：

現在使われているインフルエンザワクチンの有効性を高める目的で感染の場となる気道粘膜上に交叉防御能を有する分泌型 IgA 抗体を誘導し感染防御効果の高い予防方法として経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発を進めている。本研究では、経鼻インフルエンザワクチンの有効性の科学的根拠を示す目的で高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 の不活化全粒子ワクチンを用いカニクイザルを用いその免疫応答、感染防御能、clade の異なる株に対する交叉防御能を調べた。経鼻ワクチンにより誘導された抗体が約1年以上持続し感染防御効果が有ること、clade の異なるワクチン株でブースター効果が有ることが示された。(長谷川)

また、H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスの抗原変異株が、鶏にワクチンを接種している国で出現している。我々は、グローバルサーベイランスを実施し、これらの抗原変異株を分離・同定した。そして これらの抗原変異株に対して、現在国内に備蓄されている H5 亜型鳥インフルエンザワクチンの発症防御効果が十分でないことを明らかにし、ワクチン効果が低い理由として、抗原変異株と従来のワクチン株 (Vac-3 株) との間に大きな抗原性のずれがあることがわかった。(迫田)

研究分担者：長谷川 秀樹 (国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター)

研究協力者：相内 章、鈴木 忠樹 (国立感染症研究所)

研究分担者：迫田 義博 (北海道大学大学院獣医学研究科動物疾病制御学講座)

A. 研究目的 (長谷川 秀樹)

注射によるインフルエンザワクチンに比較し粘膜免疫を誘導する経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンは感染防御効果、交叉防御効果に優れている事が知られている。本研究においてはヒトに近い免疫系を持つカニクイザルを用い高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 に対する経鼻ワクチンによるインフルエンザウイルスの感染防御には感染の場である粘膜における免疫誘導の有効性を調べる事を目的とする。高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)