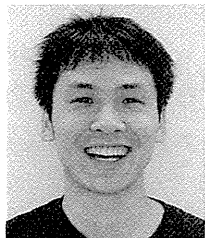


自然免疫とワクチン開発

Innate immunity and vaccine development



小檜山康司(写真) 石井 健

Kouji Kobiyama and Ken Ishii

医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト, 大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学

◎感染症や癌, アレルギーなど, ワクチンによる予防, あるいは治療方法の開発研究が昨今とくに盛んになってきている。とくに近年の自然免疫研究成果によって, 以前は免疫学者の“Little dirty secret”と揶揄されていたアジュバントは, その作用機序が分子レベルでつぎつぎと明らかになってきている。アジュバントによる多様な自然免疫認識機構, シグナル伝達, サイトカインなどによる細胞間クロストークなどが, ワクチンの有効性すなわち防御抗原に対する獲得免疫応答を誘導するために重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。ワクチンの作用機序を細胞レベル, 分子レベルで解析することは, その有効性のみならず, ワクチン開発の特徴でもある非常に高い安全性の担保においても重要である。また, より効果的なワクチンを開発し医療現場へと還元していくためには, 個々の研究室だけではなく, 多様な研究領域がコンソーシアムを築き連携しあうことが必須であり, かつ産学官による合理的な開発, 認可体制の構築が望まれる。



自然免疫, ワクチン, アジュバント

1798年にエドワード・ジェンナーが天然痘ワクチンを発表してから200年以上がたち, 微生物学, 免疫学, 分子細胞生物学の発展の恩恵を受けて昨今のワクチン開発研究は大きく変貌を遂げ, ワクチンは感染症予防の第一手段として重要な位置を担うこととなった。ワクチンに加え, 公衆衛生の改善や抗生物質・抗ウイルス薬などの普及などで, 感染症撲滅は近いと考えられた時代もあった。

しかし近年, ヒト免疫不全ウイルス(HIV)やエボラウイルス, ウエストナイルウイルス, SARS, 鳥(新型)インフルエンザウイルスなどの新興感染症や結核やマラリアなどの再興感染症の勃興や, 炭疽菌などを使用したバイオテロリズムなどの問題が浮上し, 感染症研究, ワクチン開発研究が再度重要視されるようになってきた¹⁾。現在では弱毒化された病原体を投与する生ワクチンのみでなく, 全粒子不活化ワクチンや, 組換え蛋白やペプチドを抗原としたコンポーネントワクチン, また核酸を基盤としたDNA・RNAワクチン, ウイルスや

細菌をベクターとしたワクチンなど, さまざまなワクチンの開発が進められている。

ワクチンの対象疾患に関しても感染症のみならず癌やアレルギー, 自己免疫疾患, 高血圧, 糖尿病, Alzheimer病, てんかんにまでその可能性は広がりを見せている。

しかし, これらの感染症や各種疾患に有効なワクチンを開発しようにも, 個々の研究室レベルでは困難である。とくに感染症に対する予防ワクチンは多くの健常人を対象に接種されるため, きわめて高い安全性が要求される。そのうえ多大なコスト(人, 予算, 時間)がかかり, ワクチンの新規性が高ければ高いほど審査のハードルも高くなりがちである。このような状況のなかで, ワクチン開発の鍵は有効性と安全性を担保しうる科学的エビデンス, すなわち作用機序の解明にかかっているといても過言ではない。

ではその作用機序の解明はというと, やはり微生物学, 免疫学の貢献は大きい。とくに過去十数年における遺伝子組換え技術や自然免疫研究の進

歩により、ワクチンには防御能力を寄与する抗原と、その獲得免疫を付与する自然免疫賦活化アジュバントが必須であることが明らかになった。アジュバント候補物質によって惹起される自然免疫応答、その受容体やシグナル伝達経路が明らかになり、またその結果誘導されるサイトカインやインターフェロン、ケモカインなどのエフェクター因子がワクチンの効果に密接に関与していることが判明した。すなわち、分子の言葉でワクチンおよびアジュバントの作用機序が語れるようになり、ワクチン、アジュバントの安全性や有効性の理論基盤となりつつある。アジュバントの研究により、なぜ生ワクチンが効くのか、コンポーネントワクチンなどの抗原のみでは効果が乏しいのかという疑問を解決するための証明がなされてきた。

本稿ではワクチン開発研究の現状と今後の展望に関して、免疫学分野から解説したい。

ワクチンの種類

ワクチンによる有効性とは、病原体由来の成分(抗原)を投与することにより宿主の免疫反応(免疫原性)が誘導され、その後の病原体の感染や発症を防ぐことをいう。この免疫原性誘導には抗原が必須であり、ワクチン開発研究にとって病原体由来の最適な防御抗原を探索することはもっとも重要なプロセスの一部である(抗原スクリーニング)。

① 生ワクチン……防御抗原として以前から使用されてきたものとして、弱毒化した病原体をそのまま用いる生ワクチンがある。生ワクチンは、宿主に感染、ある程度増殖することができるため、抗原の種類、発現様式を含めて実際の感染にもっとも近く、効果的に抗原(病原体)特異的免疫応答を誘導することができる。しかし、弱毒化されたとはいえ、生きた病原体による副作用の危険性はゼロとはいえ、限られた感染症にしか応用することができない。

② 不活化ワクチン……不活化ワクチンは何らかの方法により複製・増殖ができないようになっており、安全性の面では生ワクチンに比べ高いと考えられる。しかし、病原体の成分のすべてを生

体内に投与するため、毒素や核酸、または未知の成分による副作用の可能性など、安全性にやや問題が残る。

③ コンポーネントワクチン……組換え蛋白やペプチドなどの抗原を用いたコンポーネントワクチンは、病原体の抗原以外の毒素や核酸などによる副作用の可能性は低いが、ワクチン抗原の免疫原性が低いことが知られており、ワクチン抗原のみでの臨床応用は難しいため、経験的にアジュバントが用いられてきた。

④ DNAワクチン……DNA ワクチンはいまだ詳細な作用機序が明らかとなっておらず、ヒトでの臨床応用はいまだかかっていない。しかし、DNA ワクチンは安価で安全性は高いと考えられており、また抗原遺伝子の発現細胞を選択できるなどといった利点も多い。近年、著者らの研究により未知の細胞内 DNA 受容体を介し、TBK1 とよばれるリン酸化酵素が DNA ワクチンの免疫原性に重要な役割を果たしていることが明らかとなった²⁾。今後はこれらの結果を踏まえ DNA ワクチンの詳細な作用機序が明らかとなれば、DNA ワクチンの臨床応用における安全性の向上に役立つと思われる。

⑤ ウイルスベクター利用のワクチン……ワクシニアウイルスやアデノウイルスなどのウイルスベクターを利用したワクチンでは、ウイルスの特性を有しているため免疫原性の高さ(抗原発現量の増強)が特徴である。しかし、骨格がウイルスであることから、ベクターに対する免疫が存在することや、ベクターのウイルス自体による副作用が懸念されているのも事実である。

このようにさまざまなタイプのワクチンが研究開発されているが、多くの問題が残されている。今後、これらの既存・新規のワクチンの作用機序を明らかにすることが、安全性の確立および臨床への応用のために必要である。

アラムアジュバントの作用機序

ワクチンアジュバントは、ワクチンのみでは免疫原性が低く効果が乏しい、または感染防御に必要なとされる免疫反応がワクチンによって誘導される免疫反応と異なるときに非常に重要な役割を果

たす。日本では水酸化アルミニウムゲル(アラム)が臨床応用されて以降、あらたなアジュバントが臨床応用されてこなかった。ここ数年ようやく、ヒトパピローマウイルス(HPV)ワクチンのアジュバントとして AS04(GSK 社, MPL が主成分で LPS よりマイルドな TLR4 リガンド)が認可され、輸入新型インフルエンザワクチンの AS03(GSK 社), MF59(ノバルティス)とよばれるスクアレンを基剤としたアジュバントが特例承認された³⁾。

アラムはさまざまな種類のワクチンにアジュバントとして応用されてきた。特徴としては液性免疫(Th2 型免疫応答)を誘導し、また強力に抗原特異的 IgE 抗体産生を誘導することができる。アラムのアジュバント効果のメカニズムとして、ワクチン抗原の生物学的・免疫学的半減期を延長させる(徐放効果)ことにあると長らく解釈されていたが、近年、アラムは細胞質内に存在するインフラマソームを構成する NLRP3 という蛋白(受容体と称されるが、直接の作用は証明されていない)に作用し、caspase-1 を活性化することにより IL-1 β や IL-18 などの炎症性サイトカイン分泌を促進することが報告された^{4,5)}。そのためアジュバント効果もインフラマソームに依存的であることが示唆されたが、その後の研究でアジュバント効果とインフラマソームを疑問視する報告があいついでなされた^{6,7)}。現在では、NLRP3 がアラムのアジュバント効果に関与しているのはアラムによって誘導される抗原特異的 IgE 産生のみで、そのほかの IgG 産生には無関係と考えられている。つまりアラムのアジュバント効果の鍵を握る自然免疫経路や、受容体などはいまだ不明だといわざるをえず、今後の研究の進展が待たれる。

● 体性免疫を誘導するワクチンアジュバント

痛風の原因である尿酸結晶も NLRP3 インフラマソームに作用し、caspase-1 を活性化することにより IL-1 β や IL-18 などを分泌促進し、強い炎症反応を誘導することが報告されている⁸⁾。また、TLR4 や TLR2 などに作用することにより TNF- α , IL-6, IL-8 などのサイトカインを産生誘導することも報告されている⁹⁾。実際に、尿酸結晶は

Th2 型の免疫応答を強く誘導するアジュバント活性を有しているが、アラムと同様にアジュバント活性と NLRP3 との関与は明らかとなっていない。実際に痛風患者では尿酸結晶が生成されているが、生成された尿酸結晶がアジュバント活性(Th2 型の免疫応答)を有しているかは明らかとなっていない。これらの作用機序を明らかにすることは痛風の治療のためにも重要である。

最近著者らの研究グループが、マラリア毒素ともよばれるヘモゾインがアジュバント活性を有していることを明らかとした。ヘモゾインはヘムの二量体のポリマーで nm \sim μ m サイズの結晶体であり、マラリア原虫が赤血球のヘモグロビンを消費した後にヘムの代謝産物として生成する。生成されたヘモゾインは TLR9 に作用することが明らかとなり、後述する CpG ODN とは異なり Th2 型の免疫応答を強く誘導することが明らかとなった。しかし、合成したヘモゾインのアジュバント活性は、TLR9 の下流に位置するアダプター分子である MyD88 によって制御されていることが明らかとなり、TLR9 には関与していなかった。同様にインフラマソームにも関与していないことが明らかとなった¹⁰⁾。このように自然免疫活性化とアジュバント活性は異なることも見出されており、アジュバントの詳細なメカニズムを明らかにすることは新規ワクチン開発においても重要な課題である。

● 細胞性免疫を誘導するワクチンアジュバント

ある種の感染症においては Th2 型の免疫応答だけでは予防効果が十分でなく、細胞性免疫(Th1 型免疫応答)を誘導することが必要であることも明らかとなっている。しかし、アラムをアジュバントとするワクチンは Th2 型免疫応答を誘導することがすでに知られている。それゆえ、ワクチンによって誘導される免疫応答を Th2 型から Th1 型免疫反応へとシフトさせるアジュバントの開発が近年非常に活発に行われてきた。

とくに最近の自然免疫研究の発展に伴い、細胞性免疫を誘導するアジュバント開発研究はここ数年、その規模や競争の度合いが激化している。そ

の代表格が TLR のリガンドであろう。もともと以前から知られていた免疫拮活化物質がつつぎと各種 TLR のリガンドであることが判明し、その TLR を介した免疫学的な作用が強力なアジュバント活性に必須であることが明らかとなった。

TLR4 のリガンドである lipopolysaccharide (LPS) は強力なアジュバント活性を有しており、Th1 型の免疫反応を誘導することができる。しかし、毒性が強く臨床応用には高いハードルがあるとされていたが、現在は LPS の毒性を軽減した monophosphoryl lipid A (MPL) を含む新規アジュバントが開発研究され、HPV ワクチンのアジュバントとして日本でも最近認可された¹¹⁾。合成二本鎖 RNA である Poly(I:C) は TLR3 および細胞質 RNA 受容体 MDA5 のリガンドであり、強力に Th1 型免疫反応を誘導することができる。ただし、Poly(I:C) は毒性が強く、毒性を軽減した二本鎖 RNA の Ampligen (PolyI : PolyC12U) はインフルエンザワクチンのアジュバントとして臨床試験が行われている¹²⁾。TLR9 のリガンドである CpG ODN もアジュバントとしての応用が期待されている。CpG ODN は K(B とも)タイプと D(A とも)タイプに分けることができ、それぞれ誘導する自然免疫応答は異なっているが、共通して Th1 型の免疫応答を誘導することができる。実際に B 型肝炎ワクチンやインフルエンザウイルスワクチンのアジュバントとしての開発が進んでいる¹³⁾。また、アジュバントとしてだけではなく抗癌剤としての応用も期待されている¹⁴⁾。

● ワクチンとサイトカイン (I 型 IFN)

より効果的で安全なワクチンを開発するためにワクチンの免疫原性を高める必要があることはすでに述べた。また、免疫原性を高めるためには、アジュバントとよばれる自然免疫活性化を惹起するためのリガンドが必要であることも述べた。ここではインフルエンザワクチンのアジュバントによる自然免疫拮活化において、どのような受容体が、どのような免疫細胞が、どのようなエフェクター因子 (サイトカインなど) がワクチンの免疫原性にかかわってくるか、著者らが行った研究をも

とに解説したい。

現在世界では大きく分けて 3 種類のインフルエンザワクチンが存在する。いわゆる弱毒生ワクチンと全粒子ワクチンとスプリットワクチンである。弱毒生ワクチンはアメリカでのみ認可されており、弱毒化したウイルスを投与する。全粒子ワクチンはホルマリン固定するため増殖能は欠損しているが、ウイルス粒子そのものを基盤としているため、ウイルス由来の核酸やさまざまな抗原を含んでいる。最後に、現在日本で毎年投与されているワクチンでもあるスプリットワクチンは、HA, NA とよばれるウイルス表面抗原が大部分を占めており、ウイルス由来の核酸は除かれている。すなわち、生ワクチンと全粒子ワクチンはその成分としてウイルス由来の一本鎖 RNA (ssRNA) を有しており、その RNA は TLR7 に認識され、自然免疫応答を誘導し、サイトカインである I 型 IFN 産生を誘導する。しかし、スプリットワクチンでは RNA がないため、このような自然免疫拮活化作用を示さなかった。つまり 3 種のワクチンで自然免疫拮活化能が異なるのである。

この差が、それぞれのワクチンの効果、有効性と相関があるのであろうか。実際に全粒子ワクチンとスプリットワクチンをマウスに免疫した後、致死量のインフルエンザウイルスを感染させたところ、スプリットワクチンを免疫したマウスは生存することができなかった。また、I 型 IFN によるシグナル伝達に重要な IFN レセプターの欠損マウスを用いて同様の実験を行ったところ、野生型のマウスに比べ全粒子ワクチン投与による感染抵抗性が失われていた。これは、サイトカインである I 型 IFN がインフルエンザワクチンの効果に深く関与していることを示唆している。それと同時に、I 型 IFN によって誘導される IFN-inducible gene がワクチンの感染抵抗性に関与している可能性も示唆している。また、TLR7 欠損マウスを用いても全粒子ワクチンによる感染抵抗性が失われていた。

さらに自然免疫担当細胞のなかで、どのような細胞がこれらの作用に重要か検証した。実験の詳細は省くがウイルス由来の ssRNA から I 型 IFN を産生している形質細胞様樹状細胞 (pDC) を除去

すると、全粒子ワクチンによる防御効果はみられなかった。これは pDC および pDC における TLR7 のシグナルがワクチンの免疫原性に重要な役割を果たしていることを示唆している。また、スプリットワクチンに TLR9 のリガンドである CpG ODN を利用した CpG-SPG をともに投与したところ、インフルエンザウイルスに対する感染抵抗性を獲得した。この結果は TLR7 欠損マウスでもみられ、ワクチンによる感染抵抗性の獲得には抗原とともに自然免疫活性化シグナルが重要な役割をしていることを示唆している。

まとめると、身近なインフルエンザワクチンにおいてもその抗原と無関係に、ワクチンの内因性のものを含むアジュバントがその有効性の有無の鍵を握っており、そのメカニズムとして、pDC-TLR7-MyD88-I 型 IFN という自然免疫の細胞内・細胞間シグナル伝達経路が必須であることが明らかになった¹⁵⁾。

アジュバントとしてのサイトカイン

サイトカインは免疫応答を Th0 から Th1 あるいは Th2 へと直接誘導することが可能であり、これまでの研究で I 型 IFN 以外のサイトカインもワクチンアジュバントとしての応用が試みられてきた。実際には IFN- γ 、IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、GM-CSF、Flt-3 リガンドなどである。IFN- γ や IL-2 は HIV に対する DNA ワクチンの研究でアジュバントとして効果があることがサルを用いた研究によって明らかとなっている¹⁶⁾。また、IFN- γ と IL-12 は Th1 型の免疫反応を誘導するために重要なサイトカインであり、免疫調節において中心的な役割を果たしている。実際に IL-12 はアラムによって誘導される Th2 型免疫反応を Th1 型へとシフトすることができることがすでに報告されている¹⁷⁾。IL-15 も DNA ワクチンのアジュバントとして検討されており、IL-15 遺伝子を投与することによって細胞傷害性 T リンパ球(CTL)を活性化すると報告されている¹⁸⁾。IL-18 は IL-12 とともにアジュバントとして用いられており、IL-12 の有している Th1 型免疫反応へのシフトを強力に誘導すると報告されている¹⁹⁾。IL-21 も CTL 活性を有しており、マウス

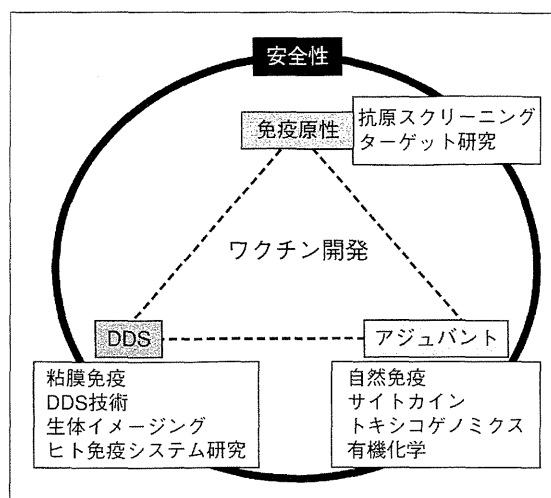


図 1 新規ワクチン開発イメージ

新規ワクチンは免疫原性のみではなく、アジュバントやドラッグデリバリーシステム(DDS)を用いて、効果的かつ安全性の高いワクチンを開発することが重要である。

の腫瘍モデルを用いた研究によって腫瘍の増殖を防ぐことが報告されており、アジュバントとしての応用が期待されている²⁰⁾。また、GM-CSF や Flt-3 リガンドは抗原提示細胞である樹状細胞の分化に重要な役割を果たしているサイトカインであり、抗原の取込みや抗原提示の場で欠かせない因子であり、おもに DNA ワクチンのアジュバントとして実験室レベルで証明されてきた^{21,22)}。

このようにさまざまなサイトカインがワクチンのアジュバントとして研究されている。しかし、これらのサイトカインは自然免疫研究の発展以前からアジュバントとして開発が行われてきたにもかかわらず、いまだに臨床応用には至っていない。その理由としては、リコンビナント蛋白質では半減期が短く投与量に比べ効果が低くなることが考えられる。実際に、多くの報告が DNA ワクチンのアジュバントとして用いられていることがそのことを示唆している。

また、サイトカインアジュバントは投与時期が非常に重要であることが多くの研究成果によって示されている。この問題はそれぞれのサイトカインの特徴を詳細に明らかにすることで解決されると期待される。また、リポソームなどに封入し効率よく免疫細胞に送達することができれば、リコンビナント蛋白質もアジュバントとしての有用性

が高くなるであろう²³⁾。今後は、DNA ワクチンが臨床応用されるか、またはこれらサイトカインをアジュバントとして用いることで DNA ワクチンが臨床応用されることを期待したい。

● 今後のワクチン開発の展望

これまでの研究により、ワクチンの効果を最大限に発揮し、かつ安全性を維持するためには、①獲得免疫およびその記憶を誘導するための抗原、②ワクチンの効果を高めるための自然免疫賦活化アジュバント、③ワクチンの生体内での安全性を高めるためのデリバリーシステム、が重要であると考えられる(図 1)。本稿ではこの 3 つの鍵となる領域のアジュバントのみに絞って記述したが(表 1)、①の防御抗原検索の技術や、③の DDS 技術、粘膜免疫研究の最近の進歩はめざましく、これらの領域の貢献度も非常に高いことを明記しておく。

現在、ワクチンは感染症対策医療として確立しているが、ある抗原に対する免疫反応を生体に誘

導するというワクチンの機能を他の医療に応用する試みがはじまっている。たとえば、Alzheimer 病やてんかんに対するワクチンや、高価な抗体医療の代替として生体内で抗体を産生させるようなワクチン、アンジオテンシン II に対する高血圧ワクチン、禁煙ワクチン、肥満ワクチンといったものから、自己免疫疾患に対する免疫寛容誘導ワクチンなどまで、感染症にこだわらない広い意味でのワクチン開発研究が今後盛んになってくるであろう。

どのようなワクチンの開発研究、臨床応用においても免疫学の重要性は高まる一方である。アジュバントにおける自然免疫研究の重要性を本稿では中心に述べたが、ワクチンの有効性・安全性の指標はいまだ確立されていないとはいえず、あらたな免疫学手法を用いた評価法の確立がレギュラトリーサイエンスの領域で望まれている。そのためにはとにもかくにも“ワクチンの作用機序を細胞レベル、分子レベルで解明すること”がもっとも重要であり、ワクチンの有効性のみならず、ワ

表 1 ワクチンアジュバント候補物質とその特徴

分類	リガンド	受容体	アジュバントとしての特徴
鋳酸塩	水酸化アルミニウムゲル	NLRP3	Th2 型免疫応答, IgE, IL-1 β , IL-18 産生 ⁴⁻⁷⁾
核酸	dsRNA ssRNA CpG ODN 5'-pppRNA dsDNA	TLR3, MDA5 TLR7/8 TLR9 RIG-I	Th1 型免疫応答, IL-6, IL-12, IFN- β 産生 ¹²⁾ Th1 型免疫応答, IFN- α 産生 ¹⁵⁾ Th1 型免疫応答, IL-6, IL-12, D type は IFN- α 産生 ³⁾ IFN- α/β 産生 IFN- α/β , IL-1 β 産生 ²⁴⁻²⁸⁾
細菌成分	ペプチドグリカン LPS フラジェリン	TLR2/1 TLR4 TLR5	Th1 型免疫応答, IL-6, IL-12 産生 ²⁹⁾ Th1 型免疫応答, IL-6, IL-12, IFN- β 産生 ¹¹⁾ Th1 型免疫応答, IL-12 産生 ^{30,31)}
結晶	MSU ヘモジン	NLRP3 TLR9	Th2 型免疫応答, IL-1 β , IL-18, IL-6 産生 ^{8,9)} Th2 型免疫応答 ¹⁰⁾
β -グルカン	シゾフィラン	Dectin 1	IL-6 産生 ¹⁵⁾
サイトカイン	IFN- γ IL-2 IL-12 IL-15 IL-18 IL-21 GM-CSF Flt3L	IFN- γ R IL-2R IL-12R IL-15R IL-18R IL-21R GM-CSFR Flt3R	Th1 型免疫応答 ^{16,17)} Th1 型免疫応答 ¹⁶⁾ Th1 型免疫応答 ¹⁷⁾ CTL 活性化 ¹⁸⁾ IL-12 による Th1 型免疫応答を活性化 ¹⁹⁾ CTL 活性化 ²⁰⁾ 樹状細胞の分化誘導, 抗原提示能増強 ^{21,22)} 樹状細胞の分化誘導, 抗原提示能増強 ^{21,22)}
エマルジョン	MF59	?	Th2 型免疫応答 ³⁾
サポニン	QS21	?	CTL 活性化 ³²⁾

アジュバントの候補物質の多くは自然免疫受容体に作用し、さまざまなサイトカイン産生を誘導し獲得免疫を活性化させる。アジュバントにより誘導される免疫応答が異なっている。

クチン開発の特徴でもある非常に高い安全性の担保という側面においても同様といえる。また、より効果的なワクチンを開発し医療現場へと還元していくためには、個々の研究室だけではなく、多様な研究領域がコンソーシアムを築き連携しあうことが必須であり、かつ産学官による合理的な開発・認可体制の構築が望まれる。

文献

- 1) Fauci, A. S. : *Cell*, **124** : 665-670, 2006.
- 2) Ishii, K. J. et al. : *Nature*, **451** : 725-729, 2008.
- 3) Garçon, N. et al. : *Expert Rev. Vaccines*, **6** : 723-739, 2007.
- 4) Eisenbarth, S. C. et al. : *Nature*, **453** : 1122-1126, 2008.
- 5) Hornung, V. et al. : *Nat. Immunol.*, **9** : 847-856, 2008.
- 6) Franchi, L. and Nunez, G. : *Eur. J. Immunol.*, **38** : 2085-2089, 2008.
- 7) Kool, M. et al. : *J. Immunol.*, **181** : 3755-3759, 2008.
- 8) Martinon, F. et al. : *Nature*, **440** : 237-241, 2006.
- 9) Liu-Bryan, R. et al. : *Arthritis Rheum.*, **52** : 2936-2946, 2005.
- 10) Coban, C. et al. : *Cell Host Microbe*, **7** : 50-61, 2010.
- 11) Didierlaurent, A. M. et al. : *J. Immunol.*, **183** : 6186-6197, 2009.
- 12) Ichinohe, T. et al. : *Vaccine*, **27** : 6276-6279, 2009.
- 13) Klinman, D. M. et al. : *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **61** : 248-255, 2009.
- 14) Vollmer, J. and Krieg A, M. : *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **61** : 195-204, 2009.
- 15) Koyama, S. et al. : *Sci. Trans. Med.*, **2** : 25 ra 24, 2010.
- 16) Kim, J. J. et al. : *Vaccine*, **19** : 2496-2505, 2001.
- 17) Lindblad, E. B. : *Immunol. Cell Biol.*, **82** : 497-505, 2004.
- 18) Hu, X. D. et al. : *Vaccine*, **28** : 2408-2415, 2010.
- 19) Eberl, M. et al. : *Vaccine*, **18** : 2002-2008, 2000.
- 20) Di Carlo, E. et al. : *J. Immunol.*, **172** : 1540-1547, 2004.
- 21) Parker, S. E. et al. : *Gene Ther.*, **8** : 1011-1023, 2001.
- 22) Westermann, J. et al. : *Gene Ther.*, **11** : 1048-1056, 2004.
- 23) Tovey, M. G. and Lallemand, C. : *Methods Mol. Biol.*, **626** : 287-309, 2010. (review)
- 24) Kobiyama, K. et al. : *J. Virol.*, **84** : 822-832, 2010.
- 25) Takaoka, A. et al. : *Nature*, **448** : 501-505, 2007.
- 26) Ishii, K. J. et al. : *Nat. Immunol.*, **7** : 40-48, 2006.
- 27) Hornung, V. et al. : *Nature*, **458** : 514-518, 2009.
- 28) Roberts, T. L. et al. : *Science*, **323** : 1057-1060, 2009.
- 29) Tsuji, S. et al. : *Infect. Immun.*, **68** : 6883-6890, 2000.
- 30) McSorley, S. J. et al. : *J. Immunol.*, **169** : 3914-3919, 2002.
- 31) Arimilli, S. et al. : *J. Virol.*, **82** : 10975-10985, 2008.
- 32) Kensil, C. R. and Kammer, R. : *Expert Opin. Investig. Drugs*, **7** : 1475-1482, 1998.

* * *

次号の特集予告(234巻6号)**

【8月第1土曜特集】

◆ここまで進んだ 不整脈研究の最新動向

(企画：井上 博／富山大学大学院医学薬学研究部内科学第二)

わが国で誕生した iPS 細胞を利用して遺伝性不整脈をもつ患者の体細胞から心筋細胞を分化誘導し、電気生理的検討をはじめとするさまざまな研究がすでに開始されている。工学技術との共同研究として、コンピュータ・シミュレーションにより不整脈の発生機序の解明が試みられている。光学マッピングの応用も同様で、このような解析を通して不整脈の発生機序、薬剤効果の解明などが可能となってきた。臨床では、あらたに心房に特異的に作用する抗不整脈薬が開発され、また一方で新規の作用機序をもつ経口抗凝固薬の開発が進行中である。Brugada 症候群の疫学調査の成績もまとめ、海外とは異なる臨床像が明らかになり、また、IT 技術の応用である遠隔モニタリングも臨床現場に導入されはじめ、重症不整脈例の管理もきめ細かく行えるようになりつつある。本特集では、不整脈の基礎と臨床の分野で現在、注目されているトピックを解説する。

ワクチンに関する最新の話題—新しいワクチン時代の幕開け

新しいワクチン開発 アジュバントに関する 最新の話題

KOBIYAMA KOUJI/ISHII KEN

小檜山康司/石井 健

●大阪大学微生物病研究所難治感染症対策研究センター分子原虫学、
独立行政法人医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト

要旨 1926年にアルミニウム化合物がアジュバント効果を有していることが見出されてから80年以上が経った。近年、免疫学の急速な発展により、様々な分子や化合物が新規アジュバントとなり得ることが見出されてきた。本稿では、アジュバント候補の作用機序や用途など最新の話題をふまえ、各項目に分けて説明する。

はじめに

現在、新興・再興感染症の予防に効果的なワクチンが必要とされているが、生ワクチン作製は限られた病原体にしか対応できず、不活化ワクチン、もしくはコンポーネント（サブユニット）ワクチンなどは、その免疫原性の低さから、感染症の制圧に資する手法は、いまだ確立されていない。そのため、効果的なワクチンの開発とともに、ワクチンの効果を増強させるためのアジュバントの開発も重要な課題であると考えられる。ワクチンアジュバントは、ワクチン効果の向上のため必須であるが、我が国ではアルミニウム化合物が臨床応用されて以来それ以外に汎用されているものはない。最近になり免疫学、特にアジュバントのメカニズムを担う自然免疫周辺の研究の進歩により、多くのアジュバントが臨床試験で検討され、また多くの候補物質が実験レベルで検討されてきた。本稿では最新のアジュバントの話題について筆者が行った最新の研究成果とともに解説したい。

これまでアルミニウム化合物は様々な種類のワクチンにアジュバントとして応用されてきた。アルミニウム化合物のアジュバント効果は、ワクチ

ン抗原の生物学的、免疫学的半減期を延長させる（徐放効果）ことにあり、体液性免疫（Th2型免疫応答）を誘導することができる。また強力に抗原特異的IgE抗体産生を誘導することができる。最近の研究により、アルミニウム化合物は細胞質内に存在するNLRP3インフラマソームを活性化することでCaspase-1依存的にIL-1 β やIL-18などの炎症性サイトカイン産生を誘導することが報告された¹⁾。この報告によりアルミニウム化合物におけるアジュバント効果はNLRP3インフラマソームに依存的である可能性が示唆されたが、後の研究でこの可能性を否定する報告がなされた²⁾。現在ではアジュバント効果とNLRP3インフラマソームとの関連の詳細は明らかとなっていないが、アルミニウム化合物によるアジュバント効果の引き金となる分子を明らかにすることは、安全性の面からも重要な課題である。

ある種の感染症においてはTh2型の免疫応答だけでは予防効果が十分でなく、細胞性免疫（Th1型免疫応答）を誘導することが必要であることも明らかとなっており、作用の異なる新たなアジュバントが必要とされている。ワクチンア

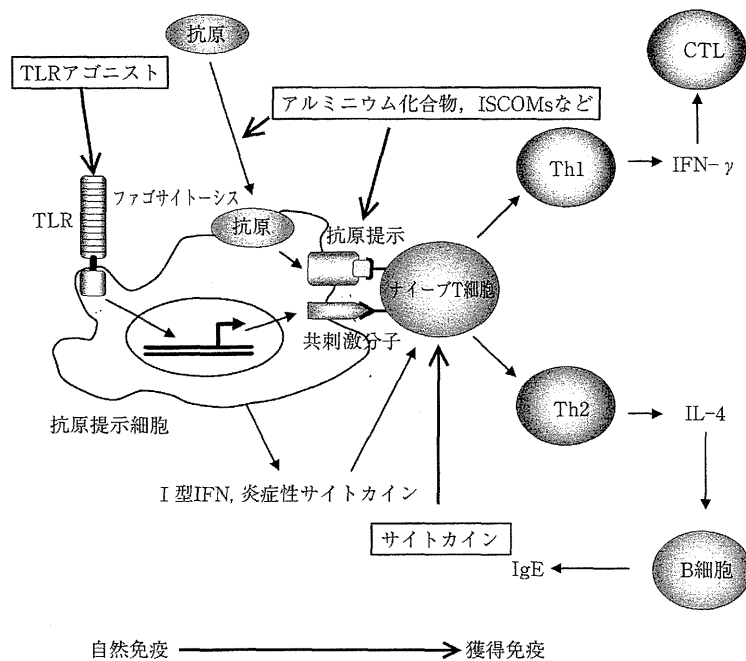


図1 アジュバントの作用機序

アジュバントの効果および機構は、3つに大別することができる。①アルミニウム化合物のような徐放効果、②抗原提示細胞による抗原提示の増強、③炎症性サイトカイン産生の誘導である(図1)。また、アジュバントの種類により、ワクチン抗原に対する免疫応答をTh2型だけでなくTh1型または両方の免疫応答を著しく活性化することができ、この作用には産生される炎症性サイトカインの種類が鍵となっている。これまでに様々な種類のアジュバントが開発され、動物試験や臨床試験が行われている(表1)。次に、様々な種類のアジュバントについて解説する。

■毒素

これまでにコレラトキシンのBサブユニット(CTB)や大腸菌易熱性毒素がインフルエンザウイルス粘膜ワクチンのアジュバントとして検討されてきた。実際に、ワクチンとCTBを経鼻免疫することにより、粘膜表面への抗原特異的分泌型IgA産生を誘導することが明らかとなった。それゆえ、コレラトキシンの毒性をなくし、アジュ

バント活性のみを有している変異体を作製する試みが行われてきた。しかしながら、スイスのワクチンメーカーが行った大腸菌易熱性毒素をアジュバントとして用いた経鼻ワクチンの臨床試験において、一部のヒトに顔面神経麻痺(ベル麻痺)の発症が見られた。発症とワクチン+アジュバントとの関連が否定できないことから、細菌毒素のアジュバントは、まだ臨床応用されていない。

■エマルジョン

現在O/WエマルジョンタイプのアジュバントとしてMF59, AS03, Provacなどが知られている。ノバルティス社によって開発されたMF59はスクアレンポリソルベート(Tween80)とソルビタントリオレート(Span85)を基剤としており、強力なTh2型免疫応答を誘導することができる。また、毒性も低く有用性が高いと考えられているため、欧州ではインフルエンザワクチンのアジュバントとして認可されている³⁾。AS03はTween80にビタミンEが添加されており、2008年にH5N1インフルエンザウイルスのアジ

表1 アジュバントの種類と開発状況

分類	アジュバント	特徴
鉍酸塩	水酸化アルミニウム, リン酸アルミニウムなど	IgE 産生誘導が強い。蛋白抗原と沈降物を形成し、徐放性に抗原を放出する。1920年代に見出された ¹²⁾ 。
毒素	CTB, 大腸菌易熱性毒素	ワクチンと経鼻投与することにより IgA 産生を誘導。臨床試験で顔面神経麻痺が起き、臨床応用はされていない。
O/W エマルジョン	MF59 AS03 Provax	粒子が小さく細胞に取り込まれやすく、体液性免疫を誘導。インフルエンザワクチンのアジュバントとして使用されている ³⁾ 。 2008年に欧州で認可された H5N1 ウイルスワクチンのアジュバント ⁴⁾ 。 CTL 誘導活性が強い。現在開発中 ⁵⁾ 。
W/O エマルジョン	Montanide ISA 51/ミネラルオイルと植物由来界面活性剤	阪大、久留米大が開発中の癌ペプチドワクチンのアジュバント。樹状細胞を活性化。
Bio polymer 植物成分 (サポニン)	Advax/biopolymer QS2	HBV ワクチン、インフルエンザワクチンのアジュバントとして開発中。 成分は QuilA 由来サポニン。CTL を誘導することができる。現在開発中 ⁶⁾ 。
Lipid A	ISCOM/脂質+サポニンのミセル AS04/MPL+アルミニウム塩 RC-529/ MPL アナログ AS02/スクアレン+QS21+MPL (W/O) AS01/リポソーム+QS2+MPL	直径 40nm ほどの粒子。CTL を誘導することができる。現在開発中 ⁷⁾ 。 細胞性免疫を誘導。MPL とアルミニウム塩の混合剤。HBV、インフルエンザワクチンのアジュバントとして欧州で認可 ⁴⁾ 。 細胞性免疫を誘導。HBV ワクチンのアジュバントとしてアルゼンチンで認可。 MPL と QS21 との混合剤。マラリアワクチンのアジュバントとして開発中 ⁸⁾ 。 マラリアワクチンのアジュバントとして開発中 ⁹⁾ 。
鞭毛成分 核酸	フラジェリン dsRNA CpG ODN	TLR5 のリガンド。細胞性免疫を誘導。現在開発中。 TLR3 のリガンド。インターフェロン誘導薬としては認可されている。アジュバントとして細胞性免疫を誘導。現在開発中 ⁹⁾ 。 細菌に特有な非メチル化 CpG オリゴデオキシヌクレオチド。細胞性免疫を誘導。CpG 2006 はヒト用として認可。抗癌薬としても特許がとられている。CpG7909 は HBV、インフルエンザワクチンのアジュバントとして開発中 ^{10,11)} 。
結晶	ヘモゾイン 尿酸結晶	ヘムの 2 量体のポリマー。炎症性サイトカイン産生を誘導し、アジュバントとして用いることで体液性免疫を誘導。50~200nm の結晶が高いアジュバント活性を有している ¹³⁾ 。 痛風の原因物質。IL-1 β や IL-18 産生を誘導。アジュバントとして用いることで体液性免疫を誘導 ^{14~16)} 。
β -グルカン	SPG	シゾフィランとして抗悪性腫瘍剤として応用されている多糖類。樹状細胞から炎症性サイトカイン産生を誘導。CpG と複合体形成することにより、新規 CpG アジュバントとして応用可能。また、DDS としても注目されている ¹⁷⁾ 。
サイトカイン カチオン	IL-12, GM-CSF DOTAP, DDA	IL-12 は細胞性免疫を誘導し、IgG2 や IgG3 産生を誘導する ¹⁸⁾ 。 DNA ワクチンの安定性や抗原の発現量を増大させる。細胞性免疫を誘導。現在開発中 ^{19,20)} 。
ポリペプチド	N'-CARD-PTD	PTD が付加していることにより、細胞内に取り込まれやすく、細胞性免疫を誘導 ²¹⁾ 。

ユバントとして欧州で認可された⁴⁾。Provax はスクアレンと Pluronic L121 で構成されており、強力に Th1 および Th2 型免疫応答を誘導し、また強力な CTL (細胞傷害性 T リンパ球) を誘導することが、マウスを用いた実験により明らかとなっている⁵⁾。エマルジョンタイプのアジュバントはこれまでに欧州で認可されている。また、日本が輸入した新型インフルエンザワクチンにはアジュバントとして MF59 が添加されている。毒

性が低いとの報告があるとはいえ、日本での使用例はないことから副作用の発症が懸念される。

■ISCOMs

植物成分であるサポニンの類縁体である QS21 は *Quillaja saponaria* の樹皮成分であり現在アジュバントとしての開発が進んでいる。QS21 は抗原提示細胞による抗原提示を促進し、CTL を誘導することが動物実験により明らかとなってい

る⁶⁾。一般的にコレステロールや脂質、サポニン
は直径 40nm ほどの球形粒子を形成し、その中に
抗原を取り入れることができる。このような球形
粒子を immunostimulatory complexes (ISCOMs)
と呼ぶ。これまでに、ISCOMs は有効なアジュ
バントであることが実験から明らかとなっており、
抗原を MHC class I の経路に組み込むことがで
きる。結果として細胞性免疫、特に CTL を誘導
することが明らかとなっている⁷⁾。また、サポニ
ンなどに類似した成分であるトマト含有アルカロ
イド、トマチンが強力なアジュバント活性を有し
ていることが明らかとなっている。実際に可溶性
のリコンビナント蛋白質に対して、強力に抗原特
異的抗体産生を誘導するだけでなく、抗原特異的
CTL を誘導することが明らかとなった⁸⁾。このよ
うに ISCOMs やトマチンのような ISCOMs に似
たアジュバントは細胞性免疫を惹起することがで
きるが、その詳細な作用機序はわかっていない。

■TLR アゴニスト

過去 10 年で TLR が自然免疫、そして獲得免
疫に密接に関与していることが明らかとなってき
た。TLR は pathogen-associated microbial pat
terns (PAMPs) と呼ばれる病原微生物にのみ発
現する高度に保存された構造を認識する。具体的
には、糖脂質成分や核酸、蛋白質などの多彩な
PAMPs をそれぞれ異なる TLR が認識する。
TLR が PAMPs を認識するとアダプター分子を
介して、自然免疫応答を惹起し I 型インターフェ
ロンや炎症性サイトカイン産生を誘導する。これ
までに様々な TLR アゴニストが同定され、ワク
チンアジュバントとして試験されてきた。その中
で、グラム陰性菌である *Salmonella minnesota*
R595 株のリポポリサッカライド (LPS) から得
られた、3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid
A (MPL) はアジュバント効果を保持しながら、
LPS に比べ劇的に毒性が減少している。LPS や
MPL は TLR4 のアゴニストであり、強力に体液
性、細胞性免疫を誘導することができるが、主と

して Th1 型免疫応答を誘導する。実際にグラク
ソスミスクライン (GSK) 社により MPL とアル
ミニウム化合物の混合物である AS04 が B 型肝
炎ウイルスワクチンやヒトパピローマウイルスワ
クチンのアジュバントとして認可されている。ま
た MPL と他のアジュバントの組み合わせにより、
マラリアワクチンのアジュバントとしても開発が
進んでいる⁴⁾。

また、近年核酸医薬への注目が高まっており、
TLR3 アゴニストである合成二本鎖 RNA, Poly
(I:C) はアジュバントとしての応用も試みられ
ている。すでに Ampligen (Poly I:PolyC12U)
は米国でインターフェロン誘導薬として第Ⅲ相臨
床試験が終了しており、それ自身の安全性は確立
されている。実際にインフルエンザウイルスワク
チンとの経鼻免疫により、Th1 型免疫応答を誘
導し、また粘膜における抗原特異的分泌型 IgA
抗体の産生を誘導することが明らかとなってい
る⁹⁾。これらの結果をふまえ、現在前臨床試験が
行われている。

TLR9 アゴニストである CpG oligodeoxynuc
leotide (ODN) はエンドサイトーシスによって細
胞に取り込まれ、エンドソーム内で TLR9 と結
合すると考えられており、この結合が免疫応答を
惹起し様々な免疫細胞の成熟、分化、増殖を誘導
し、様々な炎症性サイトカイン産生を誘導する。
CpG ODN は自身の有する自然免疫活性化能によ
り、癌などを含めた様々な疾患への治療が期待さ
れている。また、CpG ODN はワクチンのアジュ
バントとしても開発が進んでおり、CpG ODN を
ワクチン抗原とともに免疫することにより強力に
Th1 型免疫応答を誘導することがすでにマウス
などの実験で明らかとなっている。CpG ODN は
大きく 3 つに分けることができ、それぞれの特性
が異なる。その中で Class-B CpG ODN 2006 は
すでにヒト用として認可されている。この CpG
ODN は Coley Pharmaceutical Group によって
開発され、癌の治療に対してはファイザー社が、
アジュバントとしてはノバルティス社が特許を取

得しており、幅広い種において免疫応答を増強する結果が得られている。また、B型肝炎ワクチンやインフルエンザウイルスワクチンのアジュバントとしての開発が進んでいる。この CpG ODN は生体内で DNase による分解を抑えるためにすべての塩基がホスホロチオエート化されており、実際に生体内での半減期の上昇が確認されている。しかしながら、ホスホロチオエート化による副作用の発症も懸念されている^{10,11)}。

これまでに様々な TLR リガンドもしくはその誘導体が臨床試験で検討されてきた。しかしながら、TLR を標的にした分子は、マウスでの結果から予想された効果はヒトの臨床試験で得られていない¹²⁾。このことは、ヒトとマウスでの TLR 発現様式や機能の違いが重大な問題の一つであると考えられている。また、ヒトとマウスなどの CpG motif は必ずしも一致しないことも明らかとなっており、安全かつ効果的に使用できるアジュバントを作製するにあたって、動物間での効果の違いを検討することも重要である。

■ヘモゾイン

最近の研究により我々は、マラリア毒素とも呼ばれる、マラリア原虫が赤血球のヘモグロビンを消費した後にヘムの代謝産物として生成するヘモゾインが、アジュバント効果を有することを見出した。ヘモゾインはヘムの2量体のポリマーで nm-mm サイズの結晶体であり、TLR9 に結合することが明らかとなった。また、ヘモゾインは自身でサイトカイン産生能を有しており、抗原とともに免疫することにより、強力に Th2 型免疫応答を誘導する。また、結晶のサイズによりアジュバント活性が異なり、50~200nm の結晶が著しいアジュバント活性を有していることが明らかとなった¹³⁾。

■尿酸結晶

尿酸結晶は痛風の原因物質であることはすでに知られており、強い炎症性反応を誘導する。最近

の報告により、尿酸結晶は Caspase-1 依存的に炎症性サイトカインである IL-1 β や IL-18 の産生を誘導することが明らかとなった¹⁴⁾。また、この炎症反応は NLRP3 インフラマソームを活性化することにより引き起こされることが明らかとなっている¹⁵⁾。尿酸結晶はインフラマソームだけでなく、TLR4 や TLR2 を活性化し、共通のアダプター分子である MyD88 を介して、TNF- α 、IL-6、IL-8 などのサイトカイン産生を誘導することも報告されている¹⁶⁾。実際に抗原とともに免疫することにより Th2 型免疫応答を誘導することが明らかとなっている。しかしながら、アルミニウム化合物同様、尿酸結晶によるアジュバント効果と NLRP3 インフラマソームとの関与も明らかとなっていない。また、痛風患者で生成される関節腔内の尿酸結晶が内因性のアジュバントとして働くかは明らかとなっていないため、痛風の治療のためにも詳細な作用機序の解明は重要な課題である。

■ β -グルカン

シゾフィラン (SPG) は現在、抗悪性腫瘍剤として応用されているスエヒロタケ由来の多糖類である。D-グルコースが主に β 1 \rightarrow 3 結合で連結した構造をしており、強固な三重螺旋構造を形成している。SPG をマウス樹状細胞に添加することにより、炎症性サイトカイン産生を誘導することが報告されている。また、我々の研究により SPG のみでなく、TLR9 のアゴニストである CpG ODN と SPG の複合体が新規アジュバントになり得ることを見出した。SPG は三量体を形成しているが、その1本を CpG ODN に変えた CpG-SPG は複合化前に比べ、有意に樹状細胞からのサイトカイン産生が増大した。また TLR9 欠損細胞ではその活性が減少したことから、SPG ではなく CpG による活性であることが考えられる¹⁷⁾。近年、SPG はオリゴと三量体を形成できることから、ドラッグデリバリーシステム (DDS) の分野でも注目されている。SPG を用い

ることで球形粒子を形成することができ、内部に抗原などを封入することができる。この技術を応用することにより、抗原を抗原提示細胞に効率よく取り込ませることが可能になり、新たなアジュバントとしても期待される。

■アジュバントとしてのサイトカイン

サイトカインは Th0 細胞の Th1 や Th2 への成熟に関与しており、ワクチンアジュバントとして直接応用することができると考えられている。すでに様々なサイトカインが評価を得ており、その中で、IL-12 をアジュバントとして用いることにより、Th1 型の免疫応答を誘導することができ、IgG2 や IgG3 などの産生を誘導することがマウスの実験により明らかとなっている¹⁸⁾。このように、直接免疫系に作用できる、サイトカインはシンプルなアジュバントにはなり得るが、実際の臨床応用には至っていない。

■DNA ワクチンのためのアジュバント

いくつかのカチオン性アジュバントは DNA ワクチンの免疫原性を高めることが明らかとなっている。その中で、1,2-dioleoyl-3-trimethyl-ammonium-propane (DOTAP) や dimethyl, dioctadecyl ammonium bromide (DDA) はカチオン性のエマルジョンを形成し、DNA ワクチンを封入することで DNA ワクチンの安定性を高め、DNA ワクチンの取り込みや組み込まれた抗原の発現量を高めることができ、細胞性免疫を誘導することができる¹⁹⁾。また、モノオレインとオレイラミンの 1 対 1 の混合物である N3 脂質エマルジョンはヒト免疫不全ウイルス (HIV) の gp120 とともに経鼻免疫することにより、CTL の誘導と粘膜における抗原特異的 IgA 抗体の産生を誘導することが明らかとなっている²⁰⁾。DNA ワクチンは自身で細胞性免疫を誘導ことができ、また安価で安全性も高いと考えられるが、DNA ワクチンの作用機序もまだ不明な点が多く残っており、効果的なワクチン、およびアジュバントの

開発には至っていない。

■新規シグナルペプチドアジュバント

近年、TLR 非依存的な自然免疫応答の研究が数多く報告されてきた。その中でアダプター分子である IFN- β promoter stimulator-1 (IPS-1) は、このシグナル伝達経路において中心的な役割を果たしており、IPS-1 の持つ caspase recruitment domain (CARD) がシグナル伝達に重要であることが明らかとなっている。そこで我々は TLR 非依存的な自然免疫シグナル伝達を調節するための新たな試みとして、IPS-1 のシグナル活性化に必須な CARD 領域に様々なオルガネラ移行シグナルを付加した融合分子を作製し、そのシグナル活性化を解析した。その結果、核移行シグナルを付加した融合分子である N'-CARD が強力に I 型インターフェロン産生シグナルを活性化することを明らかにした。また、相互作用分子の網羅的解析により、この N'-CARD は nuclear DNA helicase II (NDH) を介して IFN- β 産生シグナルの活性化を誘導していることを確認した。また NDH を介するシグナル経路は、TLR などの既知の自然免疫応答シグナルには関与せず、N'-CARD 独自のシグナル経路であることを明らかにした。そこで、この N'-CARD を蛋白アジュバントとして応用するために、protein transduction domain (PTD) を付加させた N'-CARD-PTD ポリペプチドを作製した。実際に N'-CARD-PTD を細胞培養液中に添加することにより、マクロファージや樹状細胞を活性化して、I 型インターフェロン産生を誘導し、抗原提示細胞としての成熟を促進した。また、マウスにインフルエンザワクチン (Flu vax) と N'-CARD-PTD を同時投与することにより、ワクチン単独投与群に比べて有意に高い Th1 型抗インフルエンザウイルス抗体の産生が認められ、ウイルスに対する強力な感染防御的免疫応答を誘導した (図 2)。また、腫瘍モデル抗原である E7 ペプチドとともに投与することにより、特異的細胞性免疫応答を強力に

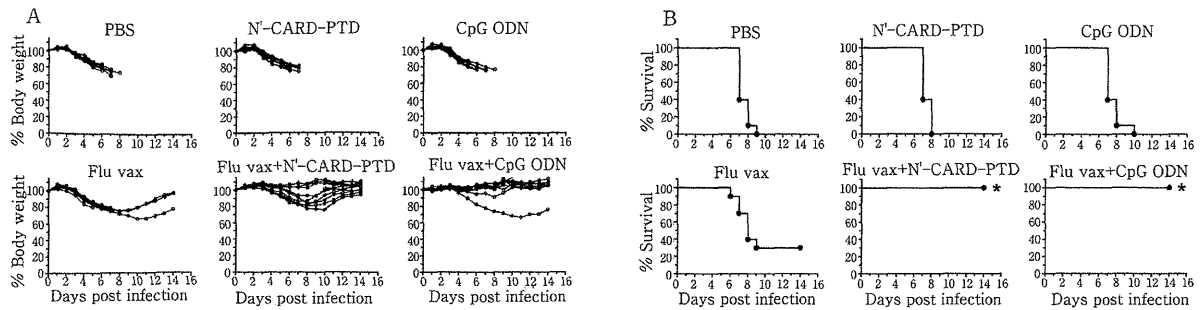


図2 N'-CARD-PTDはアジュバント活性を有している (Kobiyama K *et al.*, 2010²⁰より引用)

AとB: マウスにPBS, N'-CARD-PTD (5 μ g), CpG ODN (5 μ g), Flu vax (0.7 μ g), Flu vax (0.7 μ g) + N'-CARD-PTD (5 μ g), または Flu vax (0.7 μ g) + CpG ODN (5 μ g) を10日おきに2回免疫し, 最終免疫後10日目にインフルエンザウイルス (1×10^6 pfu) を経鼻感染させた. その後14日間の体重変化 (A)と, 生存率 (B)を測定または観察した.

誘導し, 腫瘍抗原を発現する移植腫瘍の有意な退縮効果が確認された. これらの結果から, N'-CARDは既知の自然免疫受容体を介することなく, NDHを介するシグナルを直接活性化し, ワクチンアジュバントとして応用できる可能性があることが示唆された²¹⁾.

■アジュバントの安全性

アジュバントは病原体の抗原とともに投与されるため, ワクチン抗原の免疫原性の増強効果が必須であるが, それと同時に安全性の確立が必須である. ゆえに, アジュバントを添加することに免疫活性化と, アジュバントの成分による副作用のリスクとのバランスをどのようにとることが重要である. 局所の副作用としては, 投与部位における炎症が知られているが, まれに肉芽腫や膿腫が誘発させることが報告されている. また, 動物実験において倦怠感や発熱, 関節炎, 前部ブドウ膜炎が全身性の副作用として報告されている. これらの反応はアジュバント自身による反応やアジュバントと抗原との反応, アジュバントによって産生された複数のサイトカインが起因していると考えられている. たとえワクチンやアジュバントがそれぞれ前臨床における毒性試験や安全性試験がすでに行われていたとしても, 臨床試験の前にワクチン製剤 (ワクチンとアジュバントの合剤) としての安全性評価が必要である.

おわりに

このように様々な候補物質がアジュバントとして実験動物を使用している検討, 開発が進められてきた. 新規アジュバントのいくつかはすでに海外で認可されているが, 我が国ではようやくGSKのAS04 (MPL, HPVワクチン) が認可され, 同じくGSKのAS03, ノバルティスのMF59が新型インフルワクチンとして特例承認を受けている. これまでに, HIVやB型肝炎ウイルス, C型肝炎ウイルスなどの慢性感染疾患に対するワクチン開発は数多く行われているが, 効果的なワクチンはまだ開発されていない. また, インフルエンザウイルスなどのような, ワクチンを接種しても感染, 発症してしまうこともある. それゆえワクチンのみではなく効果的なアジュバントの開発がこれらの疾患で苦しむ人々を救う手助けになる. また, 投与経路などもアジュバントとワクチンとの併用により変えることも可能になり, より効果的にワクチンを投与することができる.

しかしながら, 効果的なアジュバントの開発にはまだ様々な課題が残っている. 完全に作用機序が明らかになっていないもの, また機序は明らかとなっているが, ワクチンとの併用による副作用の出現などである. これらの問題をクリアすることが我が国におけるアジュバントの認可には必要である.

新規ワクチンアジュバントが応用されれば, 投

与するワクチン量を低下させてアレルギー反応を軽減し、安全性を高められ、感染防御応答を高めることにより感染症の拡大および罹患率を低下させ、国民の健康向上および医療費削減につながる。また、これまで抗原性が低く臨床応用できなかったワクチンについても、効果的な感染防御応答の誘導が可能となり、未開発のワクチンが応用可能となり得ることができるとなる。そのため、ワクチン開発とともにアジュバントの開発も重要な課題である。

文 献

- 1) Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor W *et al.* : Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature* 453 : 1122-1126, 2008.
- 2) Kool M, Petrilli V, De Smedt T *et al.* : Cutting edge : alum adjuvant stimulates inflammatory dendritic cells through activation of the NALP3 inflammasome. *J Immunol* 181 : 3755-3759, 2008.
- 3) Atmar RL, Keitel WA : Adjuvants for pandemic influenza vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol* 333 : 323-344, 2009.
- 4) Garçon N, Chomez P, Van Mechelen M : GlaxoSmithKline Adjuvant Systems in vaccines : concepts, achievements and perspectives. *Expert Rev Vaccines* 6 : 723-739, 2007.
- 5) Sheikh NA, Attard GS, van Rooijen N *et al.* : Differential requirements for CTL generation by novel immunostimulants : APC tropism, use of the TAP-independent processing pathway, and dependency on CD80/CD86 costimulation. *Vaccine* 21 : 3775-3788, 2003.
- 6) Kensil CR, Kammer R : QS-21 : a water-soluble triterpene glycoside adjuvant. *Expert Opin Investig Drugs* 7 : 1475-1482, 1998.
- 7) Heeg K, Kuon W, Wagner H : Vaccination of class I major histocompatibility complex (MHC)-restricted murine CD8+ cytotoxic T lymphocytes towards soluble antigens : immunostimulating-ovalbumin complexes enter the class I MHC-restricted antigen pathway and allow sensitization against the immunodominant peptide. *Eur J Immunol* 21 : 1523-1527, 1991.
- 8) Morrow WJ, Yang YW, Sheikh NA : Immunobiology of the Tomatine adjuvant. *Vaccine* 22 : 2380-2384, 2004.
- 9) Ichinohe T, Aina A, Tashiro M *et al.* : Poly I : poly C12U adjuvant-combined intranasal vaccine protects mice against highly pathogenic H5N1 influenza virus variants. *Vaccine* 27 : 6276-6279, 2009.
- 10) Klinman DM, Currie D, Gursel I *et al.* : Use of CpG oligodeoxynucleotides as immune adjuvants. *Immunol Rev* 199 : 201-216, 2004.
- 11) Mullen GE, Giersing BK, Ajose-Popoola O *et al.* : Enhancement of functional antibody responses to AMA1-C1/Alhydrogel, a *Plasmodium falciparum* malaria vaccine, with CpG oligodeoxynucleotide. *Vaccine* 24 : 2497-2505, 2006.
- 12) Kanzler H, Barrat FJ, Hessel EM *et al.* : Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor agonists and antagonists. *Nat Med* 13 : 552-559, 2007.
- 13) Coban C, Igari Y, Yagi M *et al.* : Immunogenicity of whole-parasite vaccines against *Plasmodium falciparum* involves malarial hemozoin and host TLR9. *Cell Host Microbe* 7 : 50-61, 2010.
- 14) Inokuchi T, Moriwaki Y, Tsutsui H *et al.* : Plasma interleukin (IL)-18 (interferon-gamma-inducing factor) and other inflammatory cytokines in patients with gouty arthritis and monosodium urate monohydrate crystal-induced secretion of IL-18. *Cytokine* 33 : 21-27, 2006.
- 15) Martinon F, Petrilli V, Mayor A *et al.* : Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 440 : 237-241, 2006.
- 16) Liu-Bryan R, Scott P, Sydlaske A *et al.* : Innate immunity conferred by Toll-like receptors 2 and 4 and myeloid differentiation factor 88 expression is pivotal to monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation. *Arthritis Rheum* 52 : 2936-2946, 2005.
- 17) Shimada N, Coban C, Takeda Y *et al.* : A polysaccharide carrier to effectively deliver native phosphodiester CpG DNA to antigen-presenting cells. *Bioconjug Chem* 18 : 1280-1286, 2007.
- 18) Jankovic D, Caspar P, Zweig M *et al.* : Adsorption to aluminum hydroxide promotes the activity of IL-12 as an adjuvant for antibody as well as type 1 cytokine responses to HIV-1 gp120. *J Immunol* 159 : 2409-2417, 1997.
- 19) O'Hagan DT, Singh M, Kazzaz J *et al.* : Synergistic adjuvant activity of immunostimulatory DNA and oil/water emulsions for immunization with HIV p55 gag antigen. *Vaccine* 20 : 3389-3398, 2002.
- 20) Hinkula J, Devito C, Zuber B *et al.* : A novel DNA adjuvant, N3, enhances mucosal and systemic immune responses induced by HIV-1 DNA and peptide immunizations. *Vaccine* 24 : 4494-4497, 2006.
- 21) Kobiyama K, Takeshita F, Ishii KJ *et al.* : A signaling polypeptide derived from an innate immune adaptor molecule can be harnessed as a new class of vaccine adjuvant. *J Immunol* 182 : 1593-1601, 2009.

インフル ワクチン 感染歴で効力差

阪大など解明 開発への応用に期待

大阪大などは、インフルエンザワクチンが働く仕組みを突き止めた。ワクチンの成分が外敵から身を守る免疫の働きを高めていた。また国内で普及するワクチンは感染歴がない場合、効果が低いことも動物実験で分かった。今後、効果の高いワクチン開発につながることを期待される。米科学誌サイエンス・トランスレーションナル・メディシン（電子版）に1日発表された。

石井健・招へい教授と、
審良静男教授、小山正平
東北大研究者らの成果。
ワクチンには様々なタイプがあり、研究チームはそれぞれのワクチンをマウスに接種して免疫がどう働くかを調べた。

国内で普及していないタイプのワクチンでは、ワクチンの一部が、インフルエンザウイルスなどの外敵を見張るたんぱく質とくっつき、病原体を最初にたたく免疫の働きが向上。一方、国内で造

国内で流通するタイプのワクチンを、過去にインフルエンザに感染した経験がある人から採血した血液に加えて免疫反応を調べたところ、感染を防ぐ効果があったという。

感染歴によって効果が違ふという結果は、あく

までも血液だけを使った実験のため、実際の人間でもマウスで確認。ワクチンにこの物質を加えて免疫を高める方法で、効果の高いワクチンがでるとともに特殊な物質を投与すれば、感染歴がなくなる。

h22 4/ N

初感染ならワクチン効果薄い

インフルエンザのワクチンが働く分子レベルの仕組みを大阪大などのグループがマウス実験で突き止め、31日付の米医学誌電子版に発表した。日本で使われるワクチンは、インフルエンザへの感染歴がないと効果が低いことが判明。石井健招聘教授は「副作用が少なく有効性が高」と高い次世代ワクチンの開発が必要になるだろう」と話している。

インフルエンザ

グループは、インフルエンザウイルスを認識するセンサーを持つ免疫細胞の3つの受容体に着目。これらの受容体がないマウスにさまざまなワクチンを投与すると、「TLR7」というRNA（リボ核酸）の受容体がワクチンの効果に必須であることが分かった。

阪大などのグループ突き止め

ほとんど見られず、効果が低かった。感染歴がある人では免疫が再び活性化し、有効なことが人の血液の実験で判明したが、感染歴のないマウスにこのワクチンだけを投与しても感染を防げず死亡した。一方、発熱などを引き起こし問題となったことがある「不活化全粒子ワクチン」を投与すると、受容体の一つが活性化し、より高い効果を発揮。抗ウイルス作用を持つ物質をワクチンに加えることで、効果を増強する仕組みも分かった。

インフルワクチン免疫力向上 ウイルスRNA関与

大阪大など
明解

大阪大学の石井健・招へい教授と審良静男教授、東北大学の小山正平研究員らは、インフルエンザワクチンのうち、ウイルス成分の一部だけを

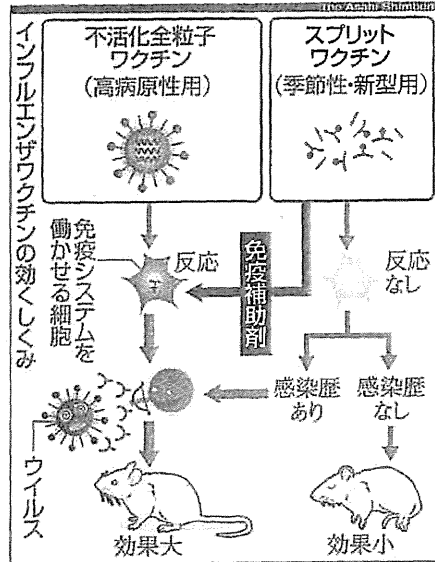
使う「スプリット」型にA（リボ核酸）が、体内でたんぱく質「TLR7」を使う「全粒子型」や「生」と結合し、免疫細胞を活性化していた。成果は米科学誌サイエンス・トランスレーショナル・メディシン（電子版）に1日掲載される。ワクチンは様々な製造法がある。季節性インフルエンザや今冬に流行した新型インフルエンザのワクチンは副作用が少ないうえスプリット型を採用している。全粒子型はウイルスが持つRNAがアジュバント（免疫増強剤）として機能し免疫がより高まる半面、発熱などを起こしやすい。高病原性鳥インフルエンザに備えて国が事前接種用に作ったワクチンは全粒子型だ。研究チームはマウス実験などで、全粒子型や生ワクチンのRNAがTLR7に結合し、自然免疫を活性化しているのを突き止めた。TLR7は免疫細胞の「形質細胞様樹状細胞」で働き、RNAが結合すると抗ウイルス効果のある物質「インターフェロニン」の分泌を促すなどしていた。TLR7や同樹状細胞を働かなくすると、ワクチンを打っても効果がなくなった。この細胞ではTLR7の仲間のTLR9も働く。TLR9に結合する人工DNA（デオキシリボ核酸）をマウスに投与すると免疫力が向上。人工DNAを免疫増強剤として使える可能性がある。

感染歴なくともワクチン効果 4/6 A

インフル免疫補助剤開発

医薬基盤研

独立行政法人・医薬基盤研
究所(大阪府茨木市)の石井健
プロジェクトリーダーらは、
現在使われているインフルエ
ンザワクチンは感染歴がない
と免疫システムがほとんど働
かないことを分子レベルで突
き止め、その場合でも効果が
出る免疫補助剤を開発した。
7日にイタリアで始まる欧州
ウイルス学会で発表する。
インフルワクチンにはウイ



ルスを増殖しないようにした全粒子ワクチンと、さらに不純物を取り除いたスプリットワクチンがある。季節性や新型インフルに使われているのはスプリットワクチン。全粒子ワクチンに比べて副反応が少ないが、乳幼児など感染歴がない人には効果が低いことが知られている。

石井さんらは、両方のワクチンを感染歴のないマウスに接種し、インフルエンザに感染させて免疫の働きを調べた。免疫システムを働かせる細胞のどの受容体がワクチンと反応するかを突き止めた。全粒子ワクチンを接種したマウスはこの受容体が反応して免疫システムが働いたが、スプリットワクチンは働かず、8割以上のマウスが死んだ。ただし、インフルエンザ

の感染歴があるヒトの血液にスプリットワクチンを混ぜると、免疫システムが働いた。石井さんらは、感染歴がなくともスプリットワクチンが受容体に反応し、免疫効果を高める免疫補助剤を開発。人工的に合成されたDNAと抗がん作用のある物質ソフィランをワクチンと一緒にマウスに接種したところ、全粒子ワクチンとほぼ同じ効果が出た。

(坪谷英紀)

日本発のワクチン開発をめざして

Vaccine forum 2010

IV

■とき 平成22年9月14日(火) 10時～17時 (開場: 9時30分
開演: 10時)

■ところ 新宿明治安田生命ホール (定員: 342名)

東京都新宿区西新宿1-9-1 明治安田生命新宿ビルB1F
J R新宿駅 西口改札都庁方面へ(2分)
丸の内線 新宿駅 西改札 A15(4分)

■参加費 無料

□主催 ワクチン開発研究機関協議会 ((独) 医薬基盤研究所、国立感染症研究所、東京大学医学研究所、大阪大学微生物病研究所)
□共催 厚生労働科学研究費補助金(ワクチン開発のためのガイドライン作成に関する研究) 研究班 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研究) 研究班
□後援 (申請中) 厚生労働省
□協力 (社) 細菌製剤協会、日本製薬工業協会、日本ワクチン学会、スーパー特区(次世代・感染症ワクチン・イノベーションプロジェクト) 研究班

プログラム

●開会あいさつ

●基調講演

・**審良 静男** (大阪大学免疫学フロンティア研究センター 拠点長)

「自然免疫の最近の進歩」

(座長) 渡邊 治雄 (国立感染症研究所 所長)

●講演

・**濱口 功** (国立感染症研究所 血液・安全性研究部長)

「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドラインについて」

・**伊藤 澄信** (独立行政法人国立病院機構本部総合研究センター臨床研究統括部長)

「感染症予防ワクチンの臨床試験ガイドラインについて」

(座長) 神谷 齊 (独立行政法人国立病院機構三重病院名誉院長)

●講演

・**奥野 良信** (一般財団法人阪大微生物病研究会 理事・観音寺研究所長)

「帯状疱疹ワクチン開発のための疫学研究」

(座長) 倉田 毅 (富山県衛生研究所 所長)

休憩

●アジュバント・ワークショップ

・講演① **石井 健** (独立行政法人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・大阪大学免疫学フロンティア研究センター ワクチン学 招聘教授)

「アジュバント開発研究とその審査行政の現状と未来」

・講演② **山崎 晶** (九州大学 生体防御医学研究所 分子免疫学分野 教授)

「Cタイプレクチンを介する結核菌アジュバント作用機序」

・講演③ **黒田 悦史** (産業医科大学 医学部 免疫学 寄生虫学教室 講師)

「アラムアジュバントをふくむ粒子状物質の新規免疫学的メカニズム」

・講演④ **石井 保之** (独立行政法人理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター ワクチンデザインチーム チームリーダー)

「α-GalCer アジュバントの免疫制御メカニズムと臨床応用」

・講演⑤ **清野 宏** (東京大学 医科学研究所 炎症免疫学分野 教授)

「粘膜ワクチンデリバリーとアジュバント、最近の展開」

・講演⑥ **改正 恒康** (独立行政法人理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 生体防御研究チーム チームリーダー)

「核酸アジュバントによる樹状細胞活性化の分子メカニズム」

(座長) 石井 健 (独立行政法人医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクトリーダー・大阪大学免疫学フロンティア研究センター ワクチン学 招聘教授)

休憩

●講演

・**中田 文久** (株式会社 UMN ファーマ 薬事部長)

「組換えインフルエンザ HA ワクチン (H5N1) の開発」

・**小岩井 一倫** (テルモ株式会社 研究開発本部 新規探索グループ 席主任研究員)

「皮下投与デバイスの開発」

●講演

・**河岡 義裕** (東京大学医学研究所 感染症国際研究センター センター長)

「エマージングウイルスのワクチン」

(座長) 堀井 俊宏 (大阪大学微生物病研究所 感染症国際研究センター センター長)

小林 和夫 (国立感染症研究所 免疫部長)

●開会あいさつ

参加申し込み 下記までメールまたはFAXにて申し込み下さい。

(名前、所属、住所、e-mail、電話番号、参加形態(全日参加、午前のみ参加、午後のみ参加の別)を記載)

※午前: 基調講演～講演(帯状疱疹ワクチン疫学研究)まで

※午後: アジュバントワークショップ～講演(エマージングウイルスのワクチン)まで

締切: 平成22年9月7日(火)

※定員を超える申込みがあった場合は、以降の参加をお断りさせていただく場合もございますので、ご了承下さい。

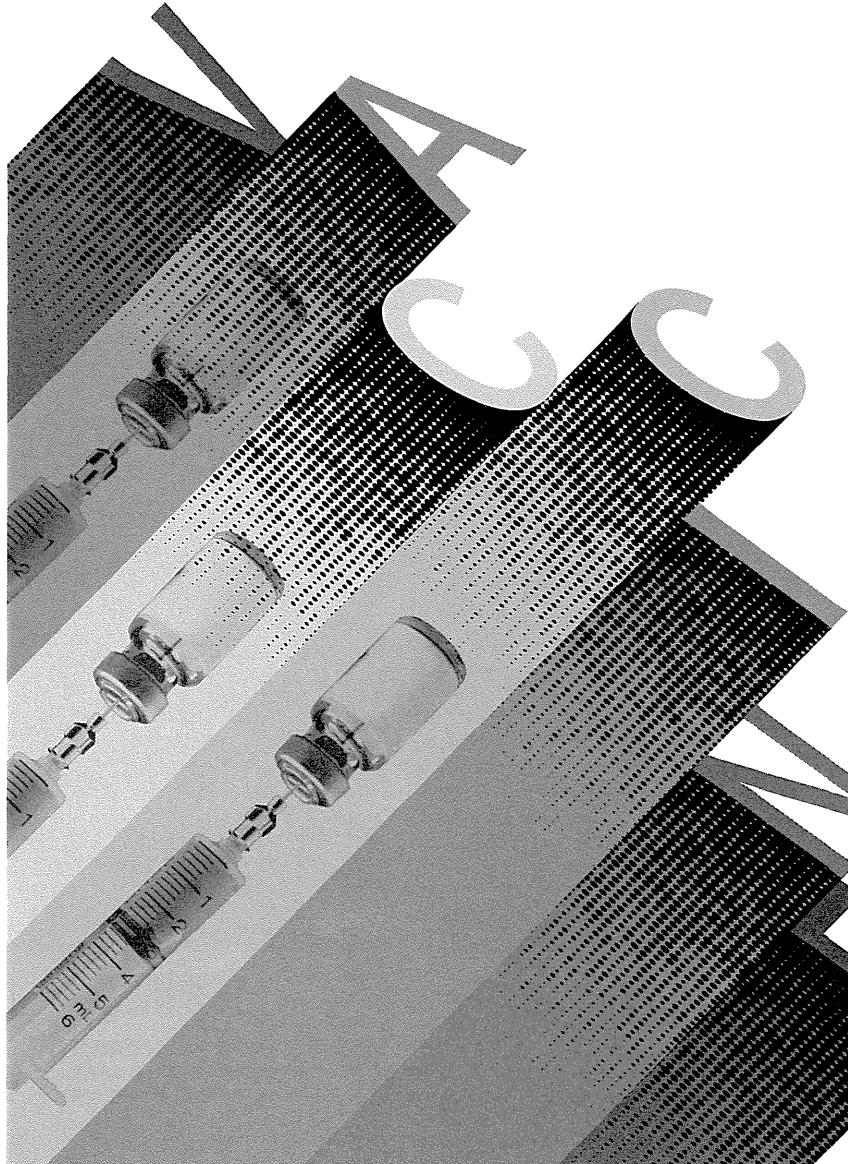
※申込みの際いただいた個人情報は、(独)医薬基盤研究所等ワクチン開発研究機関協議会構成研究機関からの各種セミナーの情報提供の目的以外では使用いたしません。

■申し込み先

e-mail: h-1009forum@nibio.go.jp FAX: 072-641-9821

[問い合わせ先] (独) 医薬基盤研究所 戦略企画部 Tel: 072-641-9832

〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7-6-8



輝かしい未来に向けて

第13回
ヒューマンサイエンス
総合研究ワークショップ
平成22年度厚生労働科学研究費補助金
政策創薬総合研究推進事業

—今、確かな新技術を礎に世界へ—

平成22年
日時 11/24-25
13:00~20:00 9:30~16:00

会場 国際研究交流会館 3階
国際会議場 (国立がんセンター内)

■オーガナイザー

独立行政法人医薬基盤研究所 理事長 ● 山西 弘一

■委員会

H5財団研修委員会 ワクチンワークショップワーキンググループ

旭硝子株式会社 ● 塚本 洋子、大正製薬株式会社 ● 関 隆行、

株式会社林原生物化学研究所 ● 三輪 尚克

11月

24日

(1日目)

■はじめに >>>>

13:00~13:30

オーバービュー:

独立行政法人医薬基盤研究所 理事長 ● 山西 弘一

■技術1 >>>> 接与経路

13:30~14:15

対表面免疫システムを基盤としたワクチン開発戦略

東京大学医学研究所 感染症・免疫部門 炎症免疫学分野 教授 ● 清野 宏

14:15~14:50

経鼻インフルエンザワクチンの臨床応用へ向けて

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 第六室 室長 ● 長谷川 秀樹

14:50~15:25

DDS技術に基づく新規経皮ワクチン製剤の開発

大阪大学大学院薬学研究科 薬剤学分野 教授 ● 中川 晋作

15:25~15:45 【コーヒーブレイク】

■技術2 >>>> アジュバント

15:45~16:30

アジュバント開発研究の新展開

独立行政法人医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクト プロジェクトリーダー ● 石井 健

16:30~17:05

パピローマワクチン(サーバリックス:アジュバントの安全性・薬理試験等)

グラクソ・スミスクライン株式会社 開発本部 早期開発担当部門長・

前臨床開発部長・製剤開発部長 ● 赤池 雅司

■技術3 >>>> 新しい製造技術

17:05~17:50

ワクチンと製造技術

化血研 試作事業部 部長 ● 菅原 敬信

17:50~18:25

BEVSによる組換えインフルエンザHAワクチンの製造と開発

株式会社UMNファーマ 製造開発部 部長 ● 上村 謙吾

■意見交流会 >>>> ※会場は下記になります。

18:45~20:00 会場: レストラン アラスカ 朝日新聞社(朝日新聞社ビル 2F)

11月

25日

(2日目)

■ターゲット >>>>

9:30~10:05

エイズワクチン開発:国際共同臨床試験プロジェクト

東京大学医学研究所 微生物学分野 教授 ● 俣野 哲朗

10:05~10:40

デングワクチンの開発と問題点

神戸大学大学院保健学研究科 国際保健学領域 准教授 ● 小西 英二

10:40~11:15

IgE抗体産生を抑制するアレルギーワクチンの開発

(株) 理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究所

ワクチンデザイン研究チーム チームリーダー ● 石井 隆之

11:15~11:50

テーラーメイド型がん

ペプチドワクチン(ITK-1)の開発状況と課題

株式会社グリーンペプチド 事業開発グループ アドバイザー ● 吉田 啓造

11:50~12:25

鶏用ウイルスベクターワクチンの開発

化血研 鶏池研究所 第二研究部 第二研究室 室長 ● 坂口 正士

12:25~13:30 【昼食】

■パネルディスカッション >>>>

13:30~16:00

我が国で使えるワクチンを、 より早く世に出すためには、何が必要か?

—動物評価系、治験体制、知的財産権、経済性などを中心として—

座長: (独) 医薬基盤研究所 理事長 ● 山西 弘一

パネリスト: グラクソ・スミスクライン株式会社 取締役 バイオロジカルズ担当 兼 本部長 ● 杉本 俊二郎

化血研 試作事業部 部長 ● 菅原 敬信

(独) 医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクト プロジェクトリーダー ● 石井 健

国際医療福祉大学 薬学部薬学科 教授 ● 池田 俊也

富山県衛生研究所 所長 ● 倉田 毅

国立病院機構 三重病院 名誉院長 ● 神谷 齊

参加費

- 会員 (賛助会員企業: 賛助会員企業の方、個人会員) 8,000円
- 非会員 (会員以外の方) 15,000円
- 公庁、大学、報道 2,000円
- 関係者 無料

※当日、受付でご記入下さい。

1名様 (意見交換会費、コーヒー、消費税含む)

申し込み方法

申込に際しましては、氏名(フリガナ)、勤務先・所属、申込区分、住所(電話、FAX)を明記の上、ファックスまたはEメールにてお申込み下さい。申込みを受け付けましたら参加証を送付致しますので、当日受付へご提出下さい。

【申込締切】平成22年11月19日(金) (但し、定員になり次第締め切らせて頂きますので、ご了承ください)

【申し込み先】ファックス: 03-3663-0448 Eメール: registration@tyo.jhsf.or.jp

【お問い合わせ先】財団法人ヒューマンサイエンス振興財団 担当者: 山下 電話: 03-3663-8641

定員: 100名

主催/財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

東京都中央区日本橋小伝馬町13-4 共同ビル 電話03-3663-8641

ホームページ http://www.jhsf.or.jp (セミナー案内掲載)