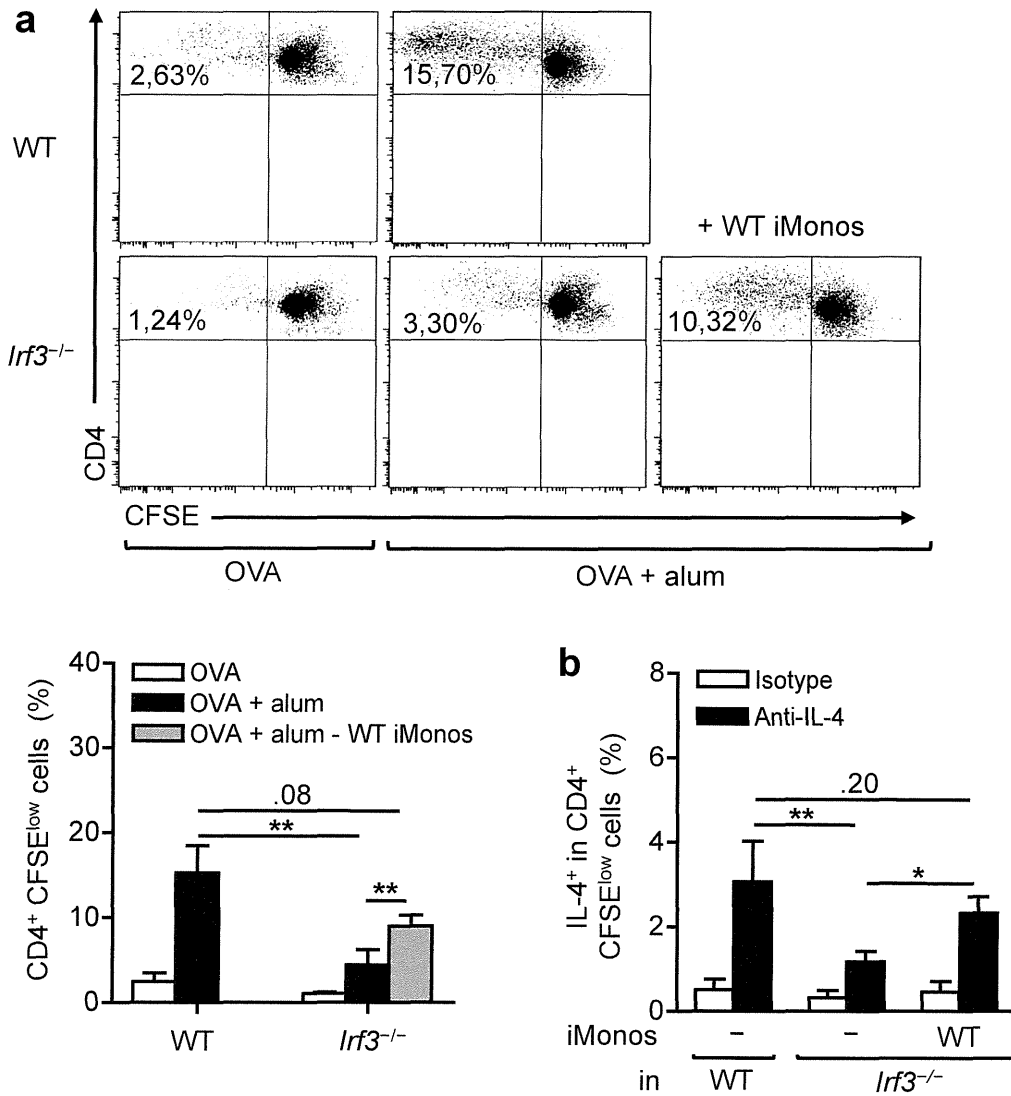
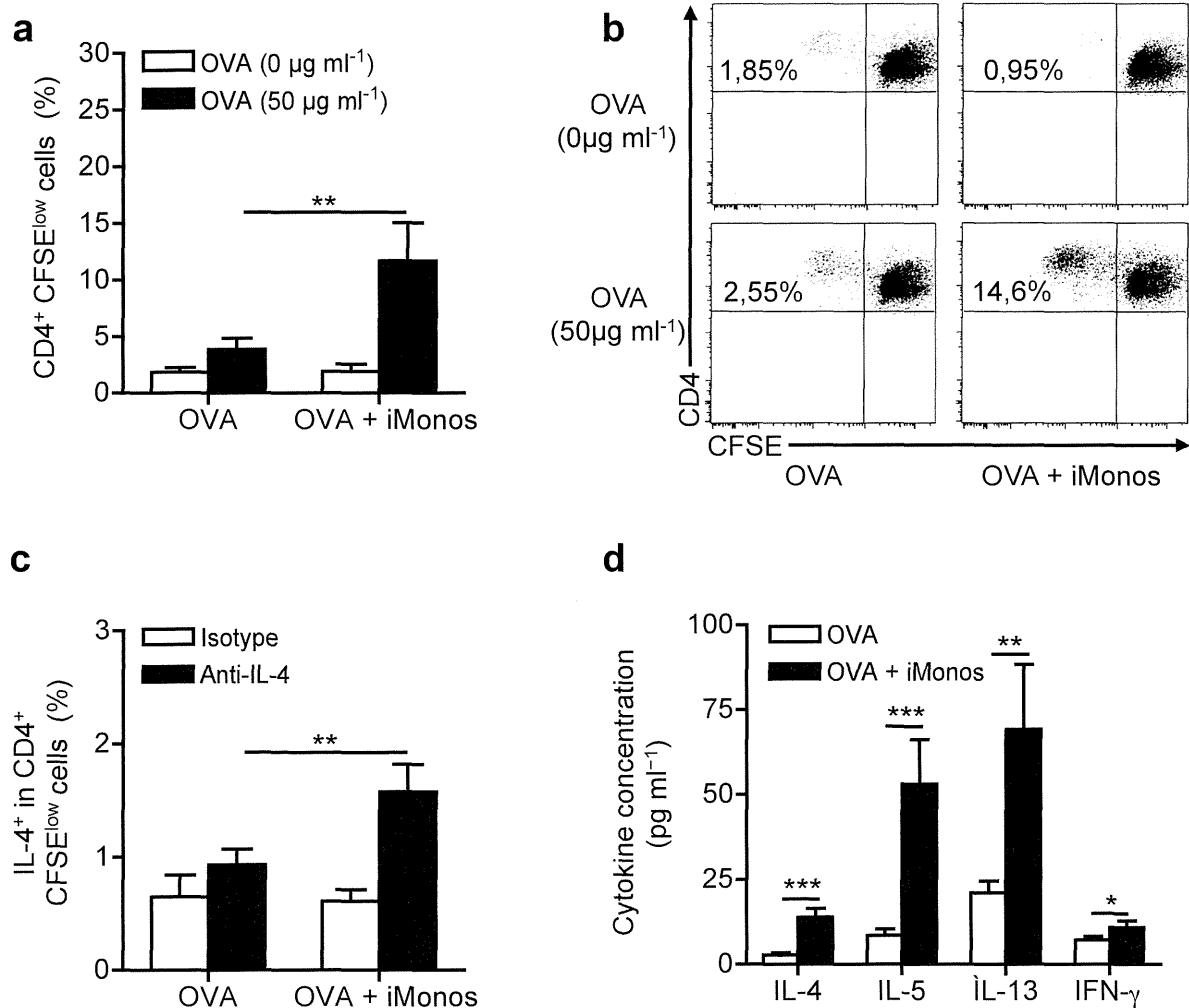


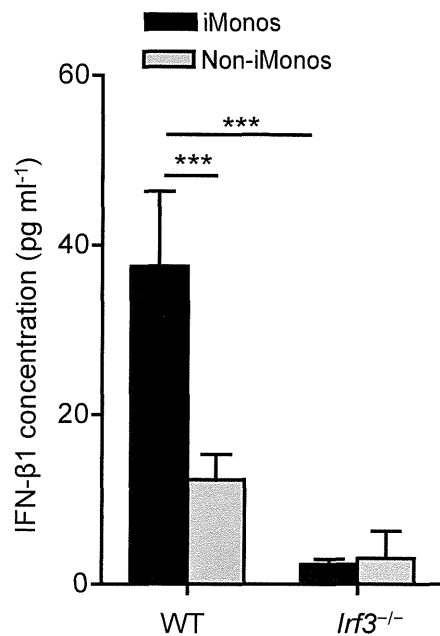
Supplementary Figure 13 Gating strategy and alum- and DNA-induced migration of iDCs. (a) Gating strategy for the identification of inflammatory dendritic cells (iDCs), conventional DCs (cDCs) and plasmacytoid DCs (pDCs) in the BLNs of mice by flow cytometry. We defined iDCs as CD11c^{int/+} CD11b⁺ Ly6C⁻ Ly6G⁻ cells, cDCs as MHCII⁺ CD11c⁺ F4/80^{low} Ly6C⁻ cells and pDCs as B220⁺ Ly6G⁺ CD11c^{int} F4/80^{low} cells. (b) Comparison by flow cytometric analysis of the recruitment of iDCs to the BLNs of WT and *Lrf3*^{-/-} mice treated i.m. with OVA, OVA and DNA or OVA and alum. *n*=5. Data are representative of one of more than 4 (a) and one of two (b) independent experiments.



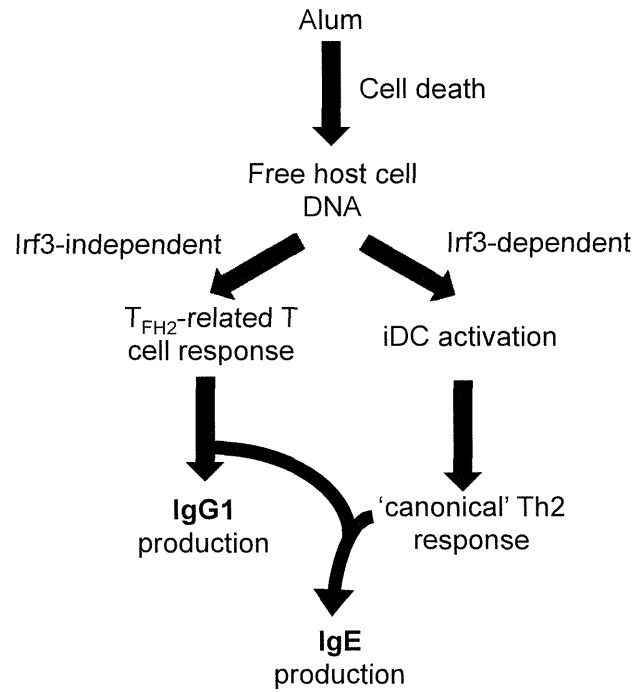
Supplementary Figure 14 Deficient inflammatory monocyte function is responsible for impaired type 2 responses in the lymph nodes draining alum injection sites in *Irf3*^{-/-} mice. We treated *Irf3*^{-/-} mice i.p. with OVA and alum and, 6 h later, injected them i.p. with 2.10⁶ iMonos isolated from the peritoneal cavity of OVA and alum-treated WT mice. Five days later, we labeled the BLN cells of recipient mice with CFSE and restimulated them *in vitro* with OVA for 5 days. (a) Proliferation of OVA-specific CD4⁺ T cells estimated by measuring the percentage of CFSE^{low} CD4⁺ T cells by flow cytometry (Inserts indicating the percentage of CFSE^{low} CD4⁺ T cells). (b) Percentages of IL4⁺ cells among CD4⁺ CFSE^{low} cells assessed by intracellular staining and flow cytometry. We used BLN cells from WT and *Irf3*^{-/-} mice that received PBS with OVA alone or OVA and alum as controls. *n*=4. Data are representative of one of three independent experiments.



Supplementary Figure 15 Inflammatory monocytes are sufficient to induce type 2 responses in the lymph nodes draining alum injection sites. We gave WT mice i.p. 10 μg OVA alone or OVA with 2.10^6 iMonos isolated from the peritoneal cavity of OVA and alum-treated WT mice (OVA + iMonos). Five days later, we labeled the BLN cells of recipient mice with CFSE and restimulated them *in vitro* with or without OVA for 5 days. (a) Proliferation of OVA-specific CD4⁺ T cells estimated by measuring the percentage of CFSE^{low} CD4⁺ T cells by flow cytometry. (b) Representative histograms of samples compared in (a), with inserts indicating the percentage of CFSE^{low} CD4⁺ T cells. (c) Percentages of IL4⁺ cells among CD4⁺ CFSE^{low} cells assessed by intracellular staining and flow cytometry. (d) ELISA measurement of IL-4, IL-5, IL-13 and IFN- γ concentrations in the supernatant of the OVA-stimulated BLN cells. $n=5$. Data are representative of one of two independent experiments. (iMonos, inflammatory monocytes).



Supplementary Figure 16. Imonos are a major source of type I IFN production in alum-treated mice. IFN-β1 immunotrapping and ELISA detection in the supernatants of iMonos and negative fraction cells (non-iMonos) FACS-sorted from the peritoneal cavity of WT and *lrf3*^{-/-} mice 18h after OVA and alum treatment. *n*=5. Data are representative of one of two independent experiments.



Supplementary Figure 17 Proposed model for the adjuvant effect of host cell DNA upon alum immunization.

Antibodies. Allophycocyanin- and phycoerythrin-conjugated F4/80 (BM8)-, allophycocyanin-conjugated V α 2 TCR (B20.1)-, allophycocyanin-eFluor780-conjugated CD11c (N418)-, eFluor450-conjugated CD11b (M1/70)-, fluorescein isothiocyanate-conjugated B220 (RA3-6B2)-, biotinylated CCR7 (4B12)-, CD86 (GL1)-, eFluor450-conjugated CD4 (RM4-5)-, CD3e (17A2)-specific antibodies and phycoerythrin-cyanin7-conjugated streptavidin were from eBioscience. Biotinylated anti-MHC class II (I-Ab; AF6-120.1)-, fluorescein isothiocyanate-conjugated-Ly6C (AL-21)-, allophycocyanin-conjugated-Ly6G (1A8)-, peridinin chlorophyll protein-cyanin5.5-conjugated-Ly6C (AL-21)-, allophycocyanin-conjugated IL-4- (11.B.11)-specific antibodies and phycoerythrin-conjugated streptavidin were from BD Biosciences. Fluorescein isothiocyanate-conjugated anti-CD40 (3/23) was from Serotec. Pacific-Blue-conjugated streptavidin was from Molecular Probes Invitrogen.

Lavage of injection sites and measurement of free double-stranded DNA concentrations and cell death rate. We performed lavages with 1 ml ice-cold Mg- and Ca-free PBS containing 0.6 mM EDTA. We removed cells and alum crystals from the lavage fluid of mice by 2 successive centrifugations at 1,000 g for 4 min at 4 °C. We measured double-stranded DNA in the acellular fraction of the lavage fluid using Quant-iT PicoGreen dsDNA reagent (Invitrogen) according to the manufacturer's protocol. We assessed cell death rate following alum treatment by staining with 5% (vol/vol) 7-AAD (e-Bioscience), followed by flow cytometric analysis.

Fluorescence microscopy. We isolated alum depots from injection sites 12 hours after treatment and incubated them for 10 minutes with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). We then placed the depots in RMPI without phenol red, in a 35-mm glass bottom dish. We recorded images with an Olympus FV1000 confocal microscope equipped with a 60x oil objective and an incubation chamber to maintain the cells at 37 °C in a 5% CO₂ humidified atmosphere. We visualized DAPI fluorescence with a 405 nm excitation and a 415–480 nm emission window.

Peritoneal lavage transfer experiments. We performed peritoneal lavages 12 h after treatment with OVA and alum or OVA alone and removed cells and debris. We submitted peritoneal lavage fluids to DNase I digestion (Roche) for 5 h following the manufacturer's protocol. We mock-treated control peritoneal lavage fluids. We then gave recipient mice 400 μ l of donor peritoneal lavage fluid or PBS mixed with 10 μ g OVA i.p. We gave mice an i.p. boost of 20 μ g OVA 10 d later. Mice were sacrificed for serum analysis one week later.

Immunizations with Freund's adjuvant. We injected mice on d 0 subcutaneously with 10 μ g OVA alone or in conjunction with 400 μ g CFA (Pierce Biochemicals). We collected serum on d 10. We injected mice subcutaneously on d 14 with 10 μ g OVA alone or in conjunction with 400 μ g IFA (Pierce Biochemicals). On d 21, we boosted mice i.p. with 20 μ g alone and collected serum for analysis on d 28.

Restimulation of BLN cells. We cultured BLN cells (2×10^5 cells in a 96-well plate) in Click's medium (2.10^5 cells in 200 μ l, in 96-well plates) supplemented with 0.5% (vol/vol) heat-inactivated C57 Bl/6 mouse serum (Harlan Netherland), 8 mM L-glutamin, 50 UI ml⁻¹ G-penicillin and 50 μ g ml⁻¹ streptomycin, with or without OVA (OVA grade V, Sigma) (50 μ g ml⁻¹). We collected culture supernatants for cytokine detection by ELISA. We measured cell proliferation as ³H-thymidine incorporation during the last 16 h of a 4-d culture.

T-cell stimulation. We purified 2.10^5 cells T cells from BLNs using the Pan T cell Isolation Kit (Miltenyi Biotec) and assessed for purity by staining for CD3e followed by flow cytometry. We cultured cells with CD28-specific antibodies (5 mg ml^{-1} ; 37.51, eBioscience) in RPMI supplemented with 10% (vol/vol) heat-inactivated FCS and additives into 96 well plates coated with CD3-specific antibodies (10 mg ml^{-1} ; 145-2C11, eBioscience). We cultured controls in uncoated wells without CD28-specific antibodies. We measured cell proliferation was measured as ^3H -thymidine incorporation during the last 16 h of a 2-d culture.

CFSE labeling. We incubated splenic and lymph node cells from OT-II transgenic mice (5×10^7 cells/ml) with CFSE ($5 \mu\text{M}$ in PBS) for 10 minutes at 37°C . We washed cells in PBS containing 10% FCS and then twice in PBS and injected them in the caudal vein of mice.

Alum-induced asthma model. We challenged OVA- and OVA and alum-sensitized mice from d 21 to 25 with aerosolized OVA 1% (wt/vol) in PBS for 1 h per day. We performed broncho-alveolar lavages and cytology. Briefly, we catheterized the trachea and washed the lungs with 1 ml ice-cold Mg- and Ca-free PBS containing 0.6 mM EDTA. We assessed cell density in bronchoalveolar lavage fluid using a hemocytometer. We performed differential cell counts on cytopsin preparations stained with Diff-Quick (Dade Behring). We fixed lungs in 10% formalin, paraffin-embedded them, and cut them in 5-mm sections. We estimated the extent of peribronchial inflammation by a score calculated by means of quantification of peribronchial inflammatory cell layers in lung sections stained with hematoxylin and eosin. We quantified mucus production as the percentage of periodic acid-Schiff-stained goblet cells per total epithelial cells in randomly selected bronchi. We randomly selected and analyzed seven sections per lung.

ELISA. We assayed culture supernatants for mouse IL-4, IL-5, IL-13 and IFN- γ by ELISA (Biosource/Invitrogen) according to the manufacturer's protocol. We assayed peritoneal lavage supernatants for mouse IFN- β 1 and IL-1 β by ELISA (PBL Interferon Source and Imtec Diagnostics NV, respectively) according to the manufacturer's protocol. We performed IFN- β 1 immunotrapping by culturing FACS-sorted iMonos and negative fraction (4.10^6 cells/ml) overnight in capture antibody-coated 96 wells plates, followed by classical ELISA.

Cell viability. We assessed the viability of CFSE-labeled iMonos prior to adoptive transfer by means of DAPI staining and subsequent flow cytometric analysis. The survival of iMonos following labeling was high and comparable between WT and *Irf3*^{-/-} cells (data not shown).

Cell transfer experiments. For the study of migration, we purified iMonos from the peritoneal lavage fluid of OVA and alum-treated mice by FACS 18 h post-treatment (>95% purity). We stained iMonos with CFSE at a concentration of $2 \mu\text{M}$ for 10 min at 37°C , washed and tested their viability. We then injected 1.10^6 cells i.p. into recipient mice treated with OVA and alum 12 h before transfer, or into naïve WT mice. We gave control mice vehicle PBS. For the assessment of their effects on type 2 and humoral responses, we purified iMonos as above 6 h post-treatment, and injected 2.10^6 cells i.p. into recipient mice treated with OVA and alum 6 h before transfer.

アジュバント開発研究の新展開

Advanced Technologies for Adjuvant Research
and Development

監修：石井 健, 山西弘一
Supervisor : Ken J. Ishii, Koichi Yamanishi

シーエムシー出版

はじめに

ワクチンは現存する医療技術の中でもその起源が最も古く、且つ、有効なもののひとつである。ワクチン開発は、Jenner以来、永らく観察と経験に頼ってきた。しかし近年の免疫学の発展により、アジュバント成分を特異的に認識するTLRなどの宿主細胞受容体を介した自然免疫反応がその後の獲得免疫反応を厳密に制御することが判明し、また、ワクチン抗原探索技術の進歩によって論理的なワクチン設計が可能となってきた。これからのワクチン開発研究では、慢性感染症、癌、アレルギーなどワクチンの対象となる疾患に関する病態研究から、免疫学、疫学、治験製剤の生産、さらには効果判定を科学的かつ効率的に行う臨床研究が必須であり、常に実用化を念頭においたGoal orientedな戦略が必要である。

このような状況の中で、本書はワクチン開発研究になくはならなくなってきた、アジュバントに関する、基礎研究、開発、審査行政にわたる網羅的な内容を提供する意欲的なものである。国内はもとより、グローバルな視点でユニークかつトップレベルの仕事をされている方々に執筆をお願いした。

まずアジュバントの総論に関してその現状、歴史、そして未来を展望させていただいた。また、安全性と規制の考え方にも言及した。この内容は著者の考え方によるものであり、日本や外国の規制当局の意向を必ずしも反映しないことを留意していただきたい。

そして、アジュバントの免疫の基礎研究内容を自然免疫の立場から大阪大学の石井健、審良静男両氏に、アジュバントのシグナル伝達に関して佐賀医科大学の吉田裕樹氏、Th2アジュバントの作用機序とその臨床応用に関して兵庫医科大学の中西憲司氏、メモリー細胞に直接作用するアジュバント研究の新展開を大阪大学の竹内理氏にお願いした。また、免疫系におけるアジュバントの機能—記憶T細胞の活性化機構に関して、エモリー大学の荒木幸一氏に執筆をお願いした。アジュバントのメカニズムが自然免疫から獲得免疫のメモリー機能まで多岐にわたっていることがご理解いただけたら幸いである。

次にアジュバントの要素として、微生物由来、合成物質由来のものなどが知られている。そのなかで、もっとも古くから認可され、広く汎用されているアジュバントとしてアルミニウム塩（総称：アラム）が知られているが、これを含む粒子状アジュバントの新規免疫学的メカニズムを産業医科大学の黒田悦史氏、ウイルスワクチン、特にインフルエンザウイルスの内因性アジュバントに関する知見をハーバード大学（東北大学）の小山正平氏、医薬基盤研究所の青枝大貴氏にお願いした。最近由来のアジュバント成分に関する研究も盛んであるが、アジュバントとしてのLPSの改良と精製に関して大阪大学の藤本ゆかり氏に、コレラトキシンを利用した新規粘膜アジュバント開発研究の新展開に関して琉球大学の荒川武氏、古くから抗がん免疫療法にて用いられているBCG-CWSのアジュバントとしての開発研究の新展開を(株)MBRの柳義和氏にお

願いました。結核菌に関して新たに理解が進んだCタイプレクチンを介する結核菌由来のアジュバント成分の免疫学的作用機序を九州大学の山崎晶氏に、乳酸菌を利用した経口ワクチンアジュバントに関して東北大学の北澤春樹氏、マラリア原虫由来成分によるアジュバント効果とヘム代謝産物のヘモジンによるアジュバント作用機序に関して大阪大学のCevayir Coban氏、さらには真菌由来の β グルカンを利用した次世代アジュバント開発研究の内容を北九州市立大学の櫻井和朗氏に願いました。これらのほかにも多くの微生物由来の成分がアジュバントとして作用することが知られており、今後ますます多くのアジュバントが微生物成分から発見され臨床応用されていくことであろう。

また、合成の物質からもアジュバントが開発されているが、その内容は微生物由来のものに勝るとも劣らないほど多種多様である。すべてを網羅できないことをお詫びするが、今回はオイルエマルジョン由来のアジュバント、とくにMF59というヨーロッパで認可されているアジュバントを中心に、日本生物化学研究所の岩田晃氏に、核酸アジュバントのCpGDNAに関してBCG研究所の山本三郎氏、核酸アジュバントのメカニズムとくに樹状細胞活性化に関する知見を大阪大学の改正恒康氏、さらにはY形DNAのアジュバント効果の詳細を京都大学の高倉善信氏に願いました。

上記のように脂質や核酸がアジュバントとして作用し、その開発研究が非常に盛んであるが、リコンビナントサイトカインそのものもアジュバントとなりえる。その内容を大阪大学の堤康央氏、医薬基盤研究所の角田慎一氏に、そしてIL-15による免疫記憶の活性化によるアジュバントとしての可能性を九州大学の吉開泰信氏に願いました。さらにタンパクのみならず、いろいろな生物活性を持つポリペプチドもアジュバントとなりうるという内容を医薬基盤研究所の小椋山康司氏に願いました。また、納豆菌由来のポリペプチドからなるナノパーティクルアジュバントに関して大阪大学の明石満氏に願いました。

このように大変多くのアジュバントがいろいろな経緯、由来で発見され、開発研究に進んでいる現状がお分かりいただけると思う。しかし、アジュバントは非常に強い免疫活性物質であることが多く、使い方を間違えるといわゆる「毒」にもなりえる。しかし、それを防ぐ、もしくは最小限にするための技術開発にむけた努力も続いている。特にデリバリーシステムの開発はワクチン、アジュバント開発研究にはなくてはならない必須項目になりつつある。そのなかでもりポソームに関する知見を国立感染症研究所の内田哲也氏に願いました。また、そのデリバリーのターゲットとして有望視される経鼻粘膜を利用したインフルエンザワクチンの開発状況を国立感染症研究所の長谷川秀樹氏に、また経口ワクチンのターゲット組織である小腸における自然免疫活性化機構とそのアジュバント開発に関して大阪大学の植松智氏に執筆を願いました。

最後に、開発研究を経て実際の臨床現場で使われているアジュバントに関して肺炎球菌ワクチン（プレベナー）に関する知見を（株）ファイザーの佐々木津氏に、GSK社のASシリーズアジュバントに関してGSK社のGarcon氏に願いました。

最後に、この本ではあまり触れなかったが、アジュバント開発研究は感染症のみならずガンワ

クチンの分野でも非常に重要になってきている。この点に関して北海道大学の瀬谷司氏に執筆をお願いした。

これまでアジュバントの開発研究に特化した学会は存在しなかったが、平成22年度から医薬基盤研究所を主体としてアカデミア、ワクチン関連製薬企業の専門家をメンバーとする「次世代アジュバント研究会」を発足させた。また、アジュバント開発研究に特化した専門書も非常にまれであり、その発行が切望されていたことから今回の本がアジュバント開発研究者、またその関連の基礎研究者や審査行政に関わる方々においても有益であることを切に願うばかりである。この本の制作に対し主体的な役割を担ってくださったシーエムシー出版の初田氏、いろいろなプロセスで多大な貢献をしてくださった医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクトのメンバーの皆様、特に秘書の鎌田真由氏に感謝の意を伝えたい。

2011年8月

〓 医薬基盤研究所
石井 健，山西弘一

執筆者一覧 (執筆順)

- 石井 健 ④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；大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 主任研究者
- 青枝 大貴 ④医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクト 主任研究員；大阪大学 微生物病研究所 免疫学フロンティア研究センター ワクチン学助教
- 小檜山 康司 ④医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクト プロジェクト研究員
- 鉄谷 耕平 ④医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクト プロジェクト研究員
- 審良 静男 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 教授；IFReC拠点長
- 山西 弘一 ④医薬基盤研究所 理事長，所長
- 吉田 裕樹 佐賀大学 医学部 分子生命科学講座 教授
- 原 博満 佐賀大学 医学部 分子生命科学講座 准教授
- 安田 好文 兵庫医科大学 免疫学・医動物学 助教
- 中西 憲司 兵庫医科大学 免疫学・医動物学
- 竹内 理 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター／微生物病研究所 自然免疫学 准教授
- 荒木 幸一 Emory Vaccine Center, Emory University School of Medicine Assistant Professor
- 黒田 悦史 産業医科大学 医学部 免疫学寄生虫学 講師
- 小山 正平 東北大学 医学系研究科 呼吸器病態学分野；Dana-Farber 癌研究所 Medical Oncology 分野 Research Fellow
- 藤本 ゆかり 大阪大学 大学院理学研究科 准教授
- 深瀬 浩一 大阪大学 大学院理学研究科 教授
- 新川 武 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 熱帯感染生物学部門 分子感染防御学分野 准教授
- 宮田 健 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 熱帯感染生物学部門 分子感染防御学分野
- 柳 義和 ④MBR 代表取締役
- 豊永 憲司 九州大学 生体防御医学研究所
- 山崎 晶 九州大学 生体防御医学研究所 教授
- 下里 剛士 信州大学 ファイバーナノテク国際若手研究者育成拠点 特任助教
- 北澤 春樹 東北大学 大学院農学研究科 准教授
- Cevayir Coban Laboratory of Malaria Immunology, Immunology Frontier Research Center, World Premier Institute for Immunology, Osaka University

Keiichi Ohata Laboratory of Malaria Immunology, Immunology Frontier Research Center, World Premier Institute for Immunology, Osaka University ; ZENOAQ, Nippon Zenyaku Kogyo Co., Ltd.

Yoshikatsu Igari ZENOAQ, Nippon Zenyaku Kogyo Co., Ltd.

Masahiro Kato ZENOAQ, Nippon Zenyaku Kogyo Co., Ltd.

Toshihiro Tsukui ZENOAQ, Nippon Zenyaku Kogyo Co., Ltd.

望月 慎一 北九州市立大学 国際環境工学部 特任講師

櫻井 和朗 北九州市立大学 国際環境工学部 教授

岩田 晃 (財)日本生物科学研究所 研究1部 部長

前山 順一 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 主任研究官

山本 三郎 日本BCG研究所 中央研究所 所長

改正 恒康 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫機能統御学 教授

西川 元也 京都大学 大学院薬学研究科 病態情報薬学分野 准教授

高倉 喜信 京都大学 大学院薬学研究科 病態情報薬学分野 教授

角田 慎一 独医薬基盤研究所 バイオ創薬プロジェクト プロジェクトリーダー

堤 康央 大阪大学 大学院薬学研究科 毒性学分野 教授

吉開 泰信 九州大学 生体防御医学研究所 感染制御学分野 教授

内田 哲也 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 主任研究官

赤木 隆美 大阪大学 大学院工学研究科 応用化学専攻 特任助教

明石 満 大阪大学 大学院工学研究科 応用化学専攻 教授

長谷川 秀樹 国立感染症研究所 感染病理部

植松 智 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 自然免疫学 特任准教授、微生物病研究所 自然免疫学分野

佐々木 津 ファイザー(株) メディカルアフェアーズ統括部 ワクチン領域部 部長；横浜市立大学 医学部 微生物学 客員教授

Nathalie Garçon Vice President, Head, Global Centre for Adjuvants and Delivery Systems, GlaxoSmithKline Biologicals

瀬谷 司 北海道大学 医学部 免疫学分野 教授

佐藤 治子 北海道大学 医学部 免疫学分野 特任助教

志馬 寛明 北海道大学 医学部 免疫学分野 助教

松本 美佐子 北海道大学 医学部 免疫学分野 准教授

目 次

第1章 アジュバント総論

1	アジュバントの開発研究の現状と未来； 審査行政や社会とのかかわりも含めて ……石井 健，青枝大貴，小檜山康司， 鉄谷耕平，審良静男，山西弘一…	1	社会への波及効果 ……………	9
1.1	アジュバントとは ……………	1	1.11.1 アジュバント開発のための安全 性規制 ……………	9
1.2	アジュバントの可能性 ……………	2	1.11.2 アジュバント単独での安全性試 験 ……………	10
1.3	アジュバントの危険性 ……………	2	1.12 まとめ ……………	11
1.4	アジュバントの安全性確保 ……………	3	2 アジュバントの歴史 ……………	
1.5	アジュバント開発研究の新展開： 自然免疫研究からのアプローチ …	4	……鉄谷耕平，石井 健…	12
1.6	アジュバントの具体例 ……………	5	2.1 はじめに ……………	12
1.7	代表的なアジュバント ……………	6	2.2 アジュバントの誕生 ……………	13
1.8	自然免疫受容体によって認識される アジュバント ……………	7	2.3 Oil emulsionアジュバント ………	13
1.9	自然免疫受容体リガンド以外（？） のアジュバント ……………	8	2.4 アルミニウム塩アジュバント ……	16
1.10	ドラッグデリバリーに着目したアジ ュバント ……………	9	2.5 微生物由来のアジュバントと，自然 免疫系の関与 ……………	17
1.11	アジュバント開発研究の今後の展開 とワクチン審査行政および医学教育，		2.6 ワクチンデリバリーシステムとして のアジュバント ……………	18
			2.7 混合アジュバント ……………	19
			2.8 非感染症ワクチンへの応用 ………	20
			2.9 おわりに ……………	21

第2章 アジュバントの免疫

1	アジュバントのシグナル伝達研究の新 機軸 ………吉田裕樹，原 博満…	24	1.3 ITAM関連受容体による異物認識と M-CBM複合体の役割 ……………	26
1.1	はじめに ……………	24	1.4 無菌刺激とNLRP3インフラマゾー ムによるIL-1 β の活性化 ……………	28
1.2	ITAM関連受容体とCBM複合体 ……………	24	1.5 シグナルクロストーク ……………	30

1.6	おわりに	30	3.2	自然免疫の受容体システムとそのシグナル伝達：TLRを中心として	41
2	Th2アジュバントの作用機序と臨床応用		3.3	TLRシグナル抑制因子とその機能	41
安田好文, 中西憲司	32	3.4	mRNA安定性調節とワクチンへの応用可能性	43
2.1	はじめに	32	3.5	おわりに	43
2.2	アジュバントについて	32	4	記憶CD8 T細胞の機能と分化メカニズム—新規アジュバント開発を目指して	45
2.3	T細胞の分化	33	荒木幸一	45
2.4	アラムと尿酸	34	4.1	はじめに	45
2.5	その他のTh2アジュバント	36	4.2	記憶CD8 T細胞の特徴	45
2.6	TSLP(Thymic stromal lymphopoietin)	37	4.3	記憶CD8 T細胞への分化	48
2.7	Th2アジュバントの臨床応用	38	4.4	記憶CD8 T細胞と新規アジュバント開発	50
2.8	おわりに	38			
3	免疫反応抑制因子とそのワクチン開発応用への可能性	40			
竹内 理	40			
3.1	はじめに	40			

第3章 アジュバント各論

1	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			【ウイルス】	
黒田悦史	53	2.1	インフルエンザウイルスの内因性アジュバント	60
1.1	はじめに	53	小山正平, 青枝大貴	60
1.2	粒子のサイズとアジュバント活性	53	2.1.1	はじめに	60
1.3	アジュバント活性を持つ粒子状物質	54	2.1.2	インフルエンザウイルス感染時に誘導される宿主自然免疫応答	60
1.4	粒子状物質による自然免疫活性化のメカニズム	54	2.1.3	インフルエンザウイルス及びワクチンに含まれる内因性アジュバント	62
1.5	粒子状物質により引き起こされるシグナル伝達	56	2.1.4	ワクチン開発における内因性アジュバントの意義	63
1.6	その他のメカニズム	58	2.1.5	おわりに	65
1.7	おわりに	59			
2	微生物由来のアジュバント	60		【細菌】	
			2.2	アジュバントとしての細菌表層成分	

分子：リポ多糖／リピドA、ペプチ ドグリカン、リポペプチド ……	
……………藤本ゆかり，深瀬浩一 ……	66
2.2.1 はじめに ……	66
2.2.2 リポ多糖とリピドA ……	66
2.2.3 ペプチドグリカン ……	68
2.2.4 リポタンパク質／リポペプチド ……………	70
2.2.5 化学合成によるアジュバント と抗原による人工ワクチン ……	72
2.2.6 おわりに ……	72
2.3 細菌由来タンパク質成分を利用した アジュバント開発の新展開 ……	
……………新川 武，宮田 健 ……	74
2.3.1 はじめに ……	74
2.3.2 コレラ毒素 (CT) とそのB鎖タ ンパク質 (CTB) を活用したマ ラリアワクチン ……	75
2.3.3 コレラ毒素A鎖タンパク質 (CTA) を活用した免疫賦活物 質 ……	80
2.3.4 細菌由来のタンパク質を利用し た新しいデリバリーシステム： 三部構成免疫賦活システム (TIPS) の開発 ……	81
2.3.5 おわりに ……	84
2.4 BCG-CWS (SMP-105)：現状と今 後の展開 ……柳 義和 ……	88
2.4.1 はじめに ……	88
2.4.2 SMP-105 (BCG-CWS) の製 造 ……	88
2.4.3 SMP-105 (BCG-CWS) の製 剤 ……	89
2.4.4 SMP-105 (BCG-CWS) の薬 理学的特性・作用機序 ……	89
2.4.5 SMP-105 (BCG-CWS) に関 する研究の課題と今後の展開 ……………	90
2.4.6 おわりに ……	92
2.5 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 ……	
……………豊永憲司，山崎 晶 ……	94
2.5.1 はじめに ……	94
2.5.2 Mincleによる結核菌の認識 ……	95
2.5.3 Mincleを介したTDMに対する 免疫応答 ……	96
2.5.4 おわりに ……	97
2.6 プロバイオティック乳酸菌を利用し た経口ワクチン・アジュバント研究 の新展開 ……下里剛士，北澤春樹 ……	100
2.6.1 プロバイオティクス (Probiotics) ……	100
2.6.2 乳酸菌由来アジュバント成分 ……………	101
2.6.3 乳酸菌アジュバント・ワクチン 開発の最前線 ……	103
【原虫】	
2.7 NOVEL ADJUVANT： A NANOCRYSTAL FROM MALARIA PARASITES ……	
Cevayir Coban, Keiichi Ohata, Yoshikatsu Igari, Masahiro Kato, Toshihiro Tsukui ……	107
2.7.1 Introduction ……	107
2.7.2 What is hemozoin ? ……	107
2.7.3 Structure of hemozoin and its analog β -hematin (synthetic hemozoin) ……	108
2.7.4 Hemozoin and the immune system ……	109

2.7.5 Adjuvant properties of hemozoin.....	109	4.1.7 副反応	139
2.7.6 Conclusions	112	4.1.8 まとめ	140
2.7.7 Acknowledgments.....	112	4.2 樹状細胞サブセット機能を制御する分子基盤	改正恒康 ... 143
【真菌, 他】		4.2.1 はじめに	143
2.8 β グルカンを利用した次世代型アジュバント開発研究の新展開		4.2.2 核酸を認識するTLRと自己免疫	143
.....望月慎一, 櫻井和朗... 116		4.2.3 形質細胞様樹状細胞とTLR7, TLR9	144
2.8.1 はじめに	116	4.2.4 形質細胞様樹状細胞におけるTLR7, TLR9のシグナル伝達機構	145
2.8.2 シゾフィラン (SPG)/核酸複合体	116	4.2.5 クロスプレゼンテーション能を有する樹状細胞サブセット ...	146
2.8.3 SPG及びCpG-DNA/SPG複合体の抗原提示細胞特異性	118	4.2.6 CD8陽性cDC優位に発現するケモカイン受容体	147
2.8.4 CpG-DNA/SPGによる細胞応答	120	4.2.7 おわりに	149
2.8.5 おわりに	121	4.3 CpG DNAの立体化によるアジュバント効果の増強	
3 オイルエマルジョン	岩田 晃 ... 124西川元也, 高倉喜信... 151	
3.1 はじめに	124	4.3.1 はじめに	151
3.2 フロインド完全アジュバント	124	4.3.2 多足型DNAの開発	152
3.3 オイルエマルジョン	124	4.3.3 多足型DNAの連結によるDNAデンドリマー化	154
3.4 オイルエマルジョンのアジュバント効果	126	4.3.4 DNAハイドロゲルを基盤とする化学・免疫療法システムの開発	155
3.5 MF59アジュバントの安全性	129	4.3.5 おわりに	157
3.6 オイルエマルジョンの将来展望 ...	130	5 宿主因子によるアジュバント	158
4 核酸アジュバント	132	5.1 アジュバントとしてのサイトカインおよびその機能性変異体	
4.1 CpG-DNAの粘膜アジュバント効果	前山順一, 山本三郎... 132角田慎一, 堤 康央... 158	
4.1.1 はじめに	132	5.1.1 はじめに	158
4.1.2 感染症対策とワクチン	132	5.1.2 粘膜ワクチン	158
4.1.3 BCGに対するモルモットの遅延型過敏反応 (DTH)	134		
4.1.4 DT特異的抗体応答に関するCpG-DNAの効果	135		
4.1.5 CpG配列以外の作用	138		
4.1.6 CpG-DNAのワクチンアジュバントとしての作用機構	138		

5.1.3	アジュバントとしてのTNF- α とその機能向上技術	159	6.1.5	N ⁺ -CARD-PTDにおけるアジュ バント効果	175
5.1.4	活性増強型TNF変異体の粘膜 アジュバントへの応用	160	6.1.6	まとめ	176
5.1.5	抗ウイルスワクチン用粘膜アジュ バントとしてのTNF変異体	161	6.2	Drug Delivery Systemとしてのリポ ソーム類	内田哲也 180
5.1.6	おわりに	161	6.2.1	リポソーム結合抗原はIgE抗体 産生を誘導しない	180
5.2	IL-15による記憶免疫活性化—アジュ バントとしてのIL-15への期待—	吉開泰信 164	6.2.2	細胞性免疫を誘導するリポソ ーム結合抗原	181
5.2.1	はじめに	164	6.2.3	細胞性免疫誘導型インフルエン ザワクチンの開発	181
5.2.2	IL-15/IL-15Rの概要	164	6.2.4	CTL誘導型リポソームワクチン の臨床応用可能性	184
5.2.3	IL-15の記憶細胞免疫活性化に おける役割	165	6.3	ナノ粒子を応用したアジュバント開 発研究の新展開	赤木隆美, 明石 満 186
5.2.4	IL-15アジュバントとしての応 用	168	6.3.1	はじめに	186
5.2.5	おわりに	169	6.3.2	ワクチンキャリアとしてのナノ 粒子	186
6	アジュバントのかたち	172	6.3.3	ナノ粒子による抗原デリバリー	187
6.1	新規細胞透過性シグナルポリペプチ ドを利用したアジュバント開発	小檜山康司, 石井 健 172	6.3.4	ナノ粒子による抗原の細胞内動 態制御	188
6.1.1	はじめに	172	6.3.5	ナノ粒子による樹状細胞の活性 化	190
6.1.2	Protein transduction domainの 発見とメカニズム	172	6.3.6	ナノ粒子ワクチンによる免疫誘 導	190
6.1.3	新規自然免疫活性化分子のメカ ニズム	174	6.3.7	おわりに	191
6.1.4	N ⁺ -CARD-PTDの自然免疫活 性化能	174			

第4章 粘膜アジュバント

1	経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチン アジュバントの開発	長谷川秀樹 193	1.2	インフルエンザウイルス	194
1.1	はじめに	193	1.3	ウイルス感染とアジュバント作用	194

1.4 経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンとアジュバント	195	2.4 CD11c ^{hi} CD11b ^{hi} DCによるヘルパーT細胞(Th)応答	203
2 小腸粘膜固有層における自然免疫活性化機構とアジュバント開発	植松 智 200	2.5 CD11c ^{hi} CD11b ^{hi} DCによるTLR5依存的なIgA誘導	203
2.1 はじめに	200	2.6 ワクチンターゲットとしてのCD11c ^{hi} CD11b ^{hi} DC	204
2.2 粘膜固有層に存在する抗原提示細胞群	200	2.7 まとめ	204
2.3 TLR5と腸管免疫	202		

第5章 アジュバントの臨床

1 感染症	207	1.2.3 Proof of conceptが示されたアジュバント・システムの開発：マラリア用候補ワクチンを例に	222
1.1 肺炎球菌結合型ワクチンの実績と今後の展望—キャリアタンパクを利用した抗原修飾—	佐々木 津 207	1.2.4 アジュバント・システムの作用機序：AS04およびAS03を例に	223
1.1.1 はじめに	207	1.2.5 既承認ワクチンに使用されているアジュバント・システムAS04	225
1.1.2 肺炎球菌に対する防御抗体	208	1.2.6 既承認ワクチンで使用されているアジュバント・システムAS03	227
1.1.3 結合型ワクチン(conjugate vaccine)とは	208	1.2.7 プレバンデミック(H5N1)およびパンデミック(H1N1)インフルエンザワクチン	228
1.1.4 肺炎球菌結合型ワクチンに含まれる血清型(価数：valency)	211	1.2.8 感染症予防を越えたアジュバント・システムの応用：抗原特異的がんの免疫治療薬	229
1.1.5 PCV7の侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)に対する効果	214	1.2.9 アジュバント・システム添加ワクチンの安全性：AS04およびAS03添加既承認ワクチンを例に	229
1.1.6 PCV7の中耳炎・肺炎に対する効果	215		
1.1.7 成人向け13価結合型ワクチンとCAPITA trial	216		
1.2 グラクソ・スミスクライン社によるアジュバント・システムの開発	Nathalie Garçon 220		
1.2.1 はじめに	220		
1.2.2 アジュバント・システム	221		

1. 2. 10 おわりに	231	化	240
2 抗がん免疫アジュバントの開発と現状		2. 2. 3 IPS-1依存性成熟化	241
.....瀬谷 司, 佐藤治子,		2. 3 腫瘍浸潤マクロファージのPRR応答	
志馬寛明, 松本美佐子	238	特性	242
2. 1 はじめに	238	2. 4 がんと微小環境の問題	244
2. 2 PRR 経路と樹状細胞成熟化	239	2. 5 ペプチド・アジュバント療法への道	
2. 2. 1 MyD88 依存性成熟化	239	程	244
2. 2. 2 TICAM-1 (TRIF) 依存性成熟		2. 6 おわりに	246