

性油脂をサルモネラ (Paratyphique B) 死菌に加えて接種したところ、強い免疫原性が得られた。1937年 Freund が、ラノリン・パラフィン油および結核死菌を混合して接種したところ CFA 接種によって結核菌に対する細胞性免疫 (ツベルクリン反応) がより長い期間、被験動物において陽性のまま維持することを示し、完全フロイントアジュバント (Complete Freund's Adjuvant, CFA) とした。

乳化 (emulsify) という作業は、水と油という本来交じり合わないものを互いに分散させて乳濁液あるいは乳化剤 (emulsion) とする。これは、一方の液体中にもう一方の液体が $0.1 \sim 10 \mu\text{m}$ 大の微粒子状に分散・浮遊した状態で、光を乱反射するため乳白色に見える。乳化剤の分類は、いずれがいずれに溶け込んでいるかによって大きく二分されるが、その決定因は乳化作業に用いられる界面活性剤である。両者を単に振り混ぜただけでは容易に分離するので、微粒子の安定化のために界面活性剤を乳化剤として添加するのだが、界面活性剤分子の親水基と疎水基とのバランス (hydrophile-to-lipophile balance, HLB) が高く親水性のほうが強いものを用いれば油脂が微粒子となる oil-in-water emulsion (O/W) に、HLB が低く疎水性の界面活性剤を用いれば水分が微粒子となる water-in-oil emulsion (W/O) となる。たとえば、ポリソルベートからなる Tween[®] は $9 \sim 16$ HLB と高く水溶性であるが、ソルビタンエステルからなる Span[®] は $2 \sim 9$ と低く脂溶性である。乳化アジュバントとして臨床応用されている MF59 は Tween と Span の両者を含んでいる。

当初、生体内で代謝されない油を用いることが必要だとされ、ドラケオールとアラセル A との組み合わせが用いられた。また 1961年 McKinney と Davenport が、植物油アジュバントが接種部位に 1 ヶ月以上とどまって抗原が接種部位から時間をかけて分散することが、接種後中長期的に高い抗体を誘導し続けると報告し、抗原輸送の機能を示唆した。

しかしアジュバントとしての有効性ととともに、生体内において小分子への感受性・自己抗原に対する感受性などの好ましくない副反応が知られるようになった。結核死菌を含まない不完全フロイントアジュバント (incomplete Freund's adjuvant, IFA) を添加したインフルエンザワクチンが 1950 年台に世界中で使用されたが、製剤に混在したとされるペニシリン他に対するアレルギーが増加したほか、接種局所にアラセル A によると思われる膿瘍形成が多く観察された。IFA を用いた動物実験において、多発性関節炎・アミロイドーシス・ネフローゼ・さまざまな臓器における肉芽腫が報告された。安全性が危惧されて IFA は医薬品として承認されず、1990年代に Seppic 社が Montanide[®] として複数種開発するまで、乳化剤アジュバントに新たな展開は見られなかった。なお IFA 添加インフルエンザワクチンについては、35年の長期観察の結果、ワクチンに明白な発癌性がないことが確認されたが、それは 1993年である。

3. 微粒子アジュバント

微粒子アジュバントは径が nm 単位の微粒子で、より強力な Depot 効果を追求して設計された。すなわち、抗原をカプセル状の粒子のなかに包含させたうえで接種すれば、生体内で粒子が時間をかけて分解されるために抗原が長時間持続的に放出されるのではと考えられたのである。早くは 1979年 Preis らが ethylene vinyl acetate (EVA) とともに牛アルブミンを接種すると、6 ヶ月間抗体価が維持されたと報告した。

生体内で分解されるポリマーを用いた poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) は、抗原提示細胞をよく活性化する粒子径 10 nm 以下の粒子と、より長期間抗原を放出できる $30 \sim 100 \text{ nm}$ の粒子とを組み合わせたもので、分子量や lactide と glycolide の包含比率により、さまざまな組み合わせが試された。抗原を粒子内側に封入した PLGA と、表面に外側へ向けて抗原を吸着させた PLGA が、それぞれ強力なアジュバント効果を持つこと

が1990年代に知られていたが、ともに粒子径10nm以下の超微粒子であり、粒子の大きさが重要な因子であることが明らかになった。

リポソームも界面活性剤を用いて作成されるが、多層ないし単層構造、粒子径、膜脂質の親水性、抗原を内包するか粒子表面に外向きに結合させるか、膜脂質をポリエチレングリコール化するかなど、アジュバント機能の比較検討がなされた。リポソームは細胞障害性T細胞を誘導することが示されており、たとえば粒子径150nmの単層リポソームが、A型肝炎ワクチン、インフルエンザワクチンで臨床試験されたほか、最近では癌ワクチン、マラリアワクチンで試験されている。

微粒子の生体内での振る舞いについては、比較的大きい粒子(径500nm以上)のものはマクロファージによって取り込まれるが、VLPなどで20~200nm径のものは樹状細胞のエンドサイトーシスによって取り込まれる。興味深いことに、同じOVAペプチドで表面を覆った微粒子を20~120nmで異なるサイズで作成してマウスに皮内投与し、脾細胞の抗原との共培養でのサイトカイン産生をみることで免疫原性を比較したところ⁷⁾、粒子径が40~50nmではIFN γ 産生が、100~120nmではIL4産生がそれぞれ誘導され、粒子サイズによって誘導される免疫応答型をコントロールすることができるなど、抗原輸送に限定されない微粒子アジュバントの可能性が示されている。

免疫増強剤としてのアジュバント

1. 微生物由来物質

微生物の共感染や潜在感染が宿主の免疫応答に影響することは古くから知られていて、Ramonが1926年、ジフテリアトキソイド接種部位に膿瘍をたまたま形成した馬がより高い抗毒素を産生したことを報告した。ついで、結核他の慢性感染モデルモットにおいて免疫応答が増強することが観察されるなど、病原体の存在自体がアジュバント効

果を示すのかもしれないと考えられた。

ついでFreundがCFAを開発したが、含まれる死菌に大変強い免疫増強効果がみられた。同時期に見い出された*S.typhosa*のエンドトキシン由来のlipopolysaccharide(LPS)も強い免疫増強効果を示したが、ショックを引き起こすなど危険性についてもさまざまな報告がなされ、「抗原として用いるには安全だが、アジュバントとして用いるのには毒性があまりに強いと認識された」⁸⁾。CFAやLPSの有効性のみを保持するために、分離・分解・精製して、前者からincompleted Freund's adjuvantそしてmuramyl dipeptide(MDP)が、後者からmonophosphoryl lipidA(MPL)が生まれ、それぞれ現在に至っている。

もう1つの大きな潮流は、1990年台に自然免疫学においてPattern Recognition Receptors(PRR)とそれらのリガンドの同定が行われたことで、これまで経験則でアジュバントの多くがPRRを介して自然免疫系を刺激することが次々に報告され、アジュバントが有効であるしくみが分子生物学の用語で説明できるように解明されてきた⁹⁾。それを受けて、ワクチン抗原と同様に、アジュバントも精製・単純化が行われ、有効性を残しながらより安全なものへと進んでいる。

MPLやRC529(LPSを基礎構造とし、毒性を排除するように合成された化合物。TLR4のリガンド)、R839(imiquimod。TLR7のリガンド)、R848(resiquimod。TLR7/8のリガンド)、CpG-ODN(CpG-oligodeoxynucleotide。TLR9のリガンド)、FK565(diaminopimelic acid。NOD1のリガンド)などの受容体が同定され、それぞれ免疫増強アジュバントとして機能することが明らかにされている。たとえばCpG-ODNは、抗原提示細胞である樹状細胞の活性化・分化を誘導して、生存を延長させるほか、単球・樹状細胞・マクロファージから、Th1型免疫応答に関連するサイトカインの分泌を促して、エフェクター細胞の活性方向に強く影響する。

サイトカイン同様これらのアジュバント候補

は、全身投与された場合の毒性の強さが欠点である。LPS は静脈内投与でショックを引き起こす¹¹⁾。2004年 Lodes らによってフラジェリンはクローン病の自己抗原の1つであることが示された。また Visser らによってペプチドグリカン¹²⁾は神経疾患の病因との関連が示唆された。これは全身投与となったことでワクチン標的以外の臓器・細胞で不要な免疫応答を引き起こしたからだと考えられており、アジュバントを抗原と結合させて投与する手法で、標的臓器ないし細胞へより選択的に誘導することが試みられている。たとえば、マウスにおける HIV-1Gag タンパクを抗原とするワクチンの皮下接種において、TLR7とTLR8のリガンドである3M-012をGagタンパクとともに投与するよりも、両者を結合させたほうがより高い抗原特異的CD4⁺、CD8⁺および活性化CD8⁺T細胞が誘導された¹⁰⁾。

しかし、リガンドの多くは細胞外にその受容体があるのに対し、抗原は細胞内に取り込まれてプロセッシングを受ける。そのため、細胞内のシグナル伝達系を直接刺激するアジュバントという概念が生まれ¹³⁾、現在研究が進んでいる。

2. サイトカイン

アジュバントとして最も広く研究が進んでいるサイトカインはGM-CSFとIL-12で、GM-CSFは抗原提示細胞とくに樹状細胞の活性化とMHC分子および共刺激因子の誘導による抗原提示機能の活性化が、IL-12はエフェクター細胞、とくに細胞障害性T細胞の増殖と活性化、ならびにTh1型の抗体産生増強が期待される。

サイトカインは大部分がオートクリンないしパラクリンで分泌され、特異的受容体によって認識される。また生体内での半減期が大変短く、生理学的な濃度がナノないしピコモル単位と大変低濃度で活性を有する。癌治療(腎細胞癌に適用があるIFN γ)ないし抗ウイルス治療(肝炎ウイルスに適用があるIFN α)に臨床適用が認められることからわかるように、全身投与は毒性が強いなどの

特徴から、ワクチンアジュバントとして用いる場合、体内での薬物輸送が慎重に設計される必要がある。

たとえば、既存のアルミニウム塩や乳化剤アジュバントとともに投与する、微粒子ポリマーに組み込む、あるいはDNAワクチンに抗原核酸とサイトカイン核酸をともに組み込むなどのワクチン設計が試みられているほか、自然免疫受容体リガンドと同様に標的臓器・細胞への選択的な作用をめざしタンパク抗原と結合させてワクチンとすることも研究されている。

3. その他の免疫増強アジュバント

記憶免疫細胞を特異的に活性化するco-stimulatory分子として、TNF受容体スーパーファミリーに属するCD27-CD70、CD134(OX-40)、CD137(4-1BB)といった分子が知られている。ワクチンの最終的な標的が記憶免疫細胞であるため、これを標的とするアジュバントとしてco-stimulatory分子を用いることが検討されている。たとえばCD134について、ポックスウイルスに対する気道上皮におけるCD8記憶T細胞をより強く誘導する¹²⁾、HIV-1CanarypoxワクチンにおいてCD134-CD134Lシグナルによって液性免疫ではなく細胞性免疫が増強される¹³⁾などが報告され、新たなワクチンアジュバントとして期待されている。

さらに、いくつかの結晶が免疫増強機能と関連するが最近報告されている。たとえば核酸の代謝である尿酸結晶は¹⁴⁾、ヒト単球のIL-1 β 産生を強めるなど活性化を促すことが報告され、一連の尿酸結晶の免疫系における研究が開かれた。また、ヘム鉄から合成されたヘモゾイン結晶をOVAとともにマウスに皮下投与し、血清抗体価を比較したところ¹⁵⁾、CpGなど既知アジュバントと同程度以上の免疫増強効果を示すなど、Th1型の免疫へ誘導できるアジュバントとしての可能性が示された。

まとめ

以上、ワクチンに添加されるアジュバントの機能と、それによる分類を概説した。治療薬と異なり小児を含む健康な人を多数対象とするために、ワクチンには独特の安全性と有効性が求められており、ワクチン抗原の精製・単純化および安全で

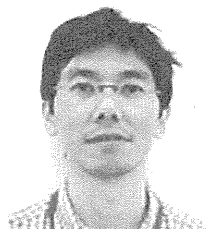
有効なアジュバントの添加というワクチンデザインは今後さらに追及されると考えられる。これまで経験則で用いられていたアジュバントのいくつか、自然免疫学の成果を応用することで作用機序の解明が進み、微生物由来のアジュバントとして確立されたように、今後も基礎免疫学との連携によりワクチンの改良が進むことが期待される。

文 献

- 1) Manicassamy S, Pulendran B : Modulation of adaptive immunity with Toll-like receptors. *Semin. Immunol* 21 : 185-193, 2009.
- 2) Marichal T, Ohata K, Bedoret D, et al : DNA released from dying host cells mediates aluminium adjuvant activity. *Nat. Med* : e-pub ahead, 2011.
- 3) グラクソ・スミスクライン株式会社, "サーバリックス®添付文書", http://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ph/PDF/340278_631340QG1022_1_03.pdf
- 4) Vogel FR, Hem SL : "Vaccines : Expert Consult, 5th edition". Philadelphia, PA, USA. Elsevier Inc. 59-71, 2008.
- 5) Kuroda E, Ishii KJ, Uematsu S, et al : Silica Crystals and Aluminum Salts Regulate the Production of Prostaglandin in Macrophages via NALP3 Inflammasome-Independent Mechanisms. *Immunity* 34 : 514-526, 2011.
- 6) Goldenthal KL, Cavagnaro JA, Alving CR, et al : Safety evaluation of vaccine adjuvants : national cooperative vaccine development meeting working group. *ADIS. Res. Hum. Retrov* 9 : S47-S51, 1993.
- 7) Mottram PL, Leong D, Crimeen-Irwin B, et al : Type 1 and 2 immunity following vaccination is influenced by nanoparticle size : formulation of a model vaccine for respiratory syncytial virus. *Molecular Pharmaceutics* 4(1) : 73-84, 2007.
- 8) Gupta RK, Relyveld EH, Lindblad EB, et al : Adjuvants-a balance between toxicity and adjuvanticity. *Vaccine* 11 : 293-306, 1993.
- 9) 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.
- 10) Wille-Reece U, Wu CY, Flynn BJ, et al : Immunization with HIV-1 Gag protein conjugated to a TLR7/8 agonist results in the generation of HIV-1 Gag-specific Th1 and CD8⁺ T cell response. *J. Immunol* 174 : 7676-7683, 2005.
- 11) Wales J, Foxwell B, Feldmann M : Targeting intracellular signaling : a novel approach to vaccination. *Expert Rev Vaccines* 6(6) : 971-980, 2007.
- 12) Salek-Ardakani S, Moutafsi M, Sette A, et al : Targeting OX40 promotes lung resident memory CD8⁺ T cell populations that protect against respiratory poxvirus infection. *J Virol* : e-pub ahead, 2011.
- 13) Wille-Reece U, Wu CY, Flynn BJ, et al : Immunization with HIV-1 Gag protein conjugated to a TLR7/8 agonist results in the generation of HIV-1 Gag-specific Th1 and CD8⁺ T cell responses. *J. Immunol* 174 : 7676-7683, 2005.
- 14) Martinon F, Petrilli V, Mayor A, et al : Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 440 : 237-241, 2006.
- 15) 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.
- 16) "日本医薬品集2011", 日本医薬品集フォーラム編, 株式会社じほう, 2011.

自然免疫研究と次世代ワクチン

Vaccine development based on innate immune research



青枝大貴(写真) 石井 健

Taiki Aoshi and Ken J 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

◎感染症に対するワクチンは非常に有効な医療手段のひとつであり、天然痘の撲滅に代表されるように大きな効果を上げてきた。現在では最大でおよそ 15 種類の、病原体に対する乳幼児期からはじまる秩序だったワクチンプログラムが日本を含む各国で実施されており、乳幼児死亡率の低下や公衆衛生の改善に寄与している。しかし、ワクチンによる乳幼児・小児における感染症対策が効果を発揮すればするほど、ワクチンによる恩恵を感じることは難しく、ワクチンの効果よりもむしろワクチン接種に伴う発熱や、きわめてまれで発生予測が難しくまたワクチン接種との因果関係を明確にできない重篤な副作用が重大な社会的問題となっており、ワクチンに対する不信や拒絶の一因ともなっている。また、従来の乳幼児・小児に対する感染症ワクチンだけでなく、いまだに有効なワクチンが存在しない HIV、結核、マラリアの三大感染症や、エボラや SARS などの新興感染症、さらに高血圧、癌、認知症といった現代型の疾患や病態に対しても、有用な新しいワクチンの開発への期待が高まっている。このような課題に対応するためには、これまでの経験に基づいた(empirical)方法を踏まえううえで、近年めざましく進展した免疫学、とくに自然免疫研究の知見を取り入れた科学的かつ革新的なワクチン開発研究が必要である。



アジュバント、ワクチン、自然免疫、獲得免疫、Th細胞分化

自然免疫と獲得免疫

近年の免疫学による成果でワクチン研究にもっとも重要なもののひとつとして自然免疫応答の分子メカニズムの解明があげられる。“免疫”と総称される現象についても、炎症反応を含む“自然免疫”と、“二度なし”の主体となる“獲得免疫”の2つの枠組みで理解されるようになっている。

自然免疫(innate immunity)とは、病原体やワクチンを含む外来異物に対して早期に働く免疫反応で、おもに好中球やマクロファージなどの貪食細胞や、補体の活性化などからなる。貪食細胞などに発現する自然免疫受容体が細菌やウイルス由来の構成物を認識することによってさまざまなサイトカインやケモカインが誘導され、炎症や発熱、免疫系細胞の遊走などが惹起され、抗原非特異的な生体防御機構として機能する。

それに対して獲得免疫(adaptive immunity)は、

T細胞やB細胞によって担われ、抗原を特異的に認識しその排除に働く。また、一度抗原特異的に活性化したT細胞やB細胞の一部はメモリー細胞として生体内に残り、2回目の感染などに対しては迅速かつ強力に感染や異物を排除する。このような獲得免疫を誘導することが、“二度なし”といわれる免疫の主体をなしている(図1)。また、後に詳述するように、獲得免疫を誘導するためには自然免疫反応が必須であることが明らかとなりつつある^{1,2)}。



ワクチンにおけるアジュバント・自然免疫応答の重要性

前述したように、感染やワクチンによって獲得免疫応答が誘導されるためには自然免疫の活性化が重要である。実際にマウスに高度に精製された蛋白抗原のみを用いて免疫しても、抗原特異的な

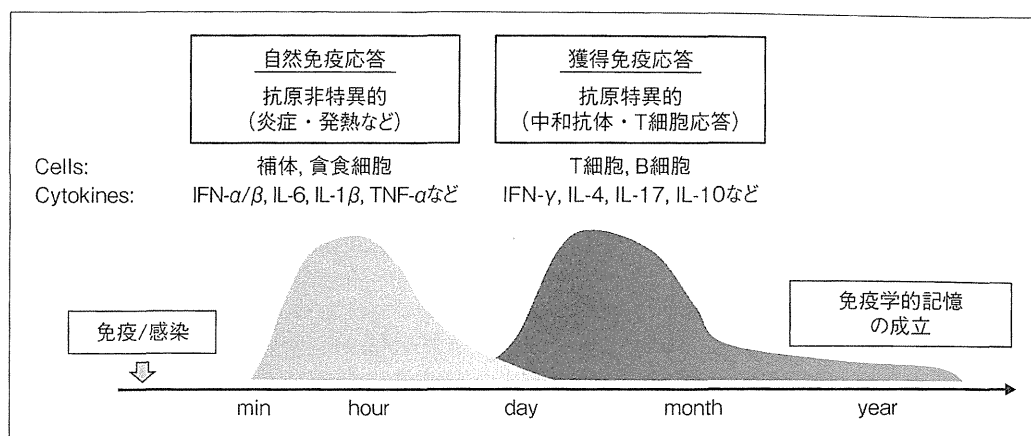


図 1 ワクチン・感染後の免疫応答

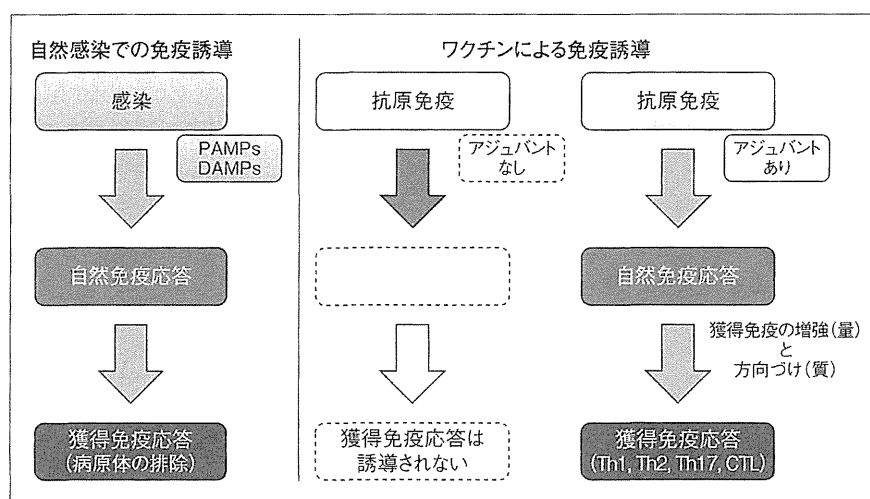


図 2 ワクチンによる免疫誘導

免疫応答はほとんど認められない¹⁾(図2)。それに対して抗原蛋白質にアジュバントを添加したワクチンで免疫した場合や何らかの病原体に感染した場合は、添加されたアジュバントや感染に伴うPAMPsやDAMPs(表1、解説は次節)の存在によって宿主の自然免疫レセプターが刺激されることで、抗原提示細胞の活性化やI型インターフェロン・炎症性サイトカインの産生といった自然免疫応答が惹起されることにより、強力に獲得免疫応答が誘導される。また、活性化された自然免疫受容体の種類およびそれらを発現する抗原提示細胞の違いや産生されたサイトカインの種類などによって自然免疫応答にも複数のタイプが存在すると考えられ、それぞれに対応してTh1, Th2, Th17などの獲得免疫応答の方向づけがなされて

いると考えられている(図2, 3)。このように自然免疫応答は獲得免疫応答を誘導するために必須なだけでなく、誘導される獲得免疫応答の質にも大きく影響を与えるため、ワクチンにアジュバントを添加する場合には、単にそのアジュバントによって誘導される獲得免疫の強さだけでなく、それらのタイプについても十分な考慮をする必要がある。

自然免疫受容体

自然免疫系の活性化は、生体を構成するさまざまな細胞に発現している自然免疫受容体がおもに病原体に由来するリガンドを認識することからはじまる。近年、つぎつぎと自然免疫受容体およびそのリガンドが同定されたことで、自然免疫系が

表 1 自然免疫受容体とリガンド (PAMPs) および合成・精製リガンド (アジュバント)

自然免疫受容体 (PRRs)		リガンド (PAMPs)	合成・精製リガンド (アジュバント)	内在性リガンド (DAMPs)
TLRs	TLR1/2	Triacyl lipopeptide	Pam3CSK4	U1RNA ⁹⁾ HMGB1, OxPL ⁴⁾ siRNA ⁸⁾ Host DNAs
	TLR2/6	Diacyl lipopeptide	Macrophage-activating lipopeptide 2 (MALP-2)	
	TLR3	dsRNA	Poly I : C	
	TLR4	LPS	Monophosphoryl lipid A (MPL)	
	TLR5	Bacterial flagellin	Flagellin-protein fusions	
	TLR7/8	ssRNA (RNA viruses)	Imiquimod (R-837), Resiquimod (R-848)	
TLRs	TLR9	非メチル化 CpG DNA	CpG-ODNs	Host DNAs
	TLR11	Profilin-like protein (<i>T. gondii</i>)	unknown	
RLRs	RIG- I	5'-PPP ssRNA or 短い (~1 kb) dsRNA	unknown	
	MDA5	長い (>2 kb) dsRNA	Poly I : C	
NLRs	NOD1	Peptidoglycans, Diaminopimelic acid (iE-DAP)	FK156, FK565	Uric acid, ATP
	NOD2	Peptidoglycans, Muramyl dipeptides (MDP)	Muramyl dipeptides (MDP)	
	NLRP3	oxidized mtDNA ? ¹¹⁾	Aluminum salts, MSU, Silica	
	NAIP5	Bacterial flagellin	Flagellin-protein fusions	
CLRs	Dectin-1	β 1,3-glucan	Curdlan, lentinan, schizophyllan	SAP130 ⁷⁾ Actin ^{5,6)}
	Dectin-2	High mannose structures	Man9GlcNAc2	
	Mincle	Trehalose-6,6-dimycolate (TDM)	Trehalose-6,6-dibehenate (TDB)	
	Clec9A	?	?	
ALRs	AIM-2	dsDNA	unknown	
	IFI16	dsDNA	unknown	

非自己である外来異物や病原体を認識する仕組みが分子レベルで明らかになった³⁾.

これまでに同定されている代表的な自然免疫受容体としてはその分子構造に基づいて、①Toll-like receptor (TLR), ②RIG- I -like receptor (RLR), ③Nod-like receptor (NLR), ④C-type lectin receptor (CLR), ⑤AIM2-like receptor (ALR), の大きく 5 つに分類されている (表 1). これらの受容体は病原体 (ウイルス, 細菌, 真菌, 寄生虫) のさまざまな構成成分 (膜成分, 鞭毛, 核酸) を認識する. これらの病原体成分は宿主には存在しないため, pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) あるいは microbe-associated molecular patterns (MAMPs) とよばれ, 生体の自然免疫系が自己と非自己を識別する指標になっている. TLR4 や dectin-1 などは宿主細胞の形質膜に存在して病原体膜由来のリポ蛋白質や糖鎖成分を認識し, また Nod1 や Nod2 などは細胞内で細菌膜由来のペプチドグリカンを認識する. 病原体

由来の DNA や RNA などの核酸を認識する TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 はエンドゾームに局在し, RIG- I, MDA5, AIM-2, IFI16 などは細胞質内の非自己外来核酸を認識する.

また興味深いことに, TLR5 リガンドの flagellin と TLR11 リガンドの Profilin-like protein を除いて, ほとんどの自然免疫受容体リガンドは脂質, 糖鎖, 核酸などの非蛋白性の化学構造を認識している. このことは獲得免疫系を構成する T 細胞や B 細胞がそれぞれ外来蛋白質抗原由来のペプチド (8~15 アミノ酸) や抗原蛋白そのものの立体構造を認識していることと対照をなしている. また, 自然免疫受容体は外来性のリガンド認識だけでなく, 炎症や組織障害によって修飾されたり放出されたりする宿主由来成分 (damage associated molecular patterns : DAMPs) も認識することが知られ⁴⁻⁹⁾ (表 1), 自己由来のこれらの DAMPs が生体の自然免疫系を刺激することによるアレルギーや自己免疫疾患などの病態への関与も示唆されている.

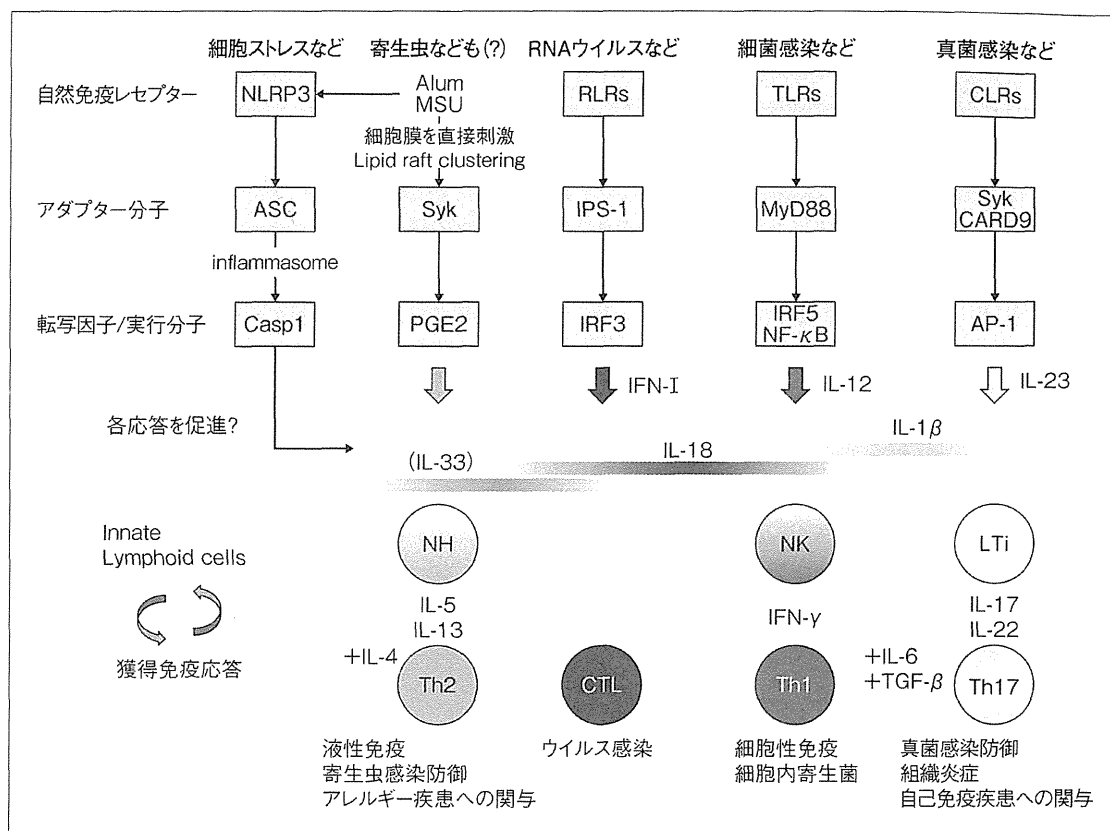


図 3 自然免疫応答とTh細胞応答

アジュバントの役割

アジュバントとは免疫応答を増強させる物質の総称で、その機能的役割は、①ワクチン抗原を抗原提示細胞に送達すること、②直接・間接に細胞膜あるいは細胞質内に存在するさまざまな自然免疫レセプターを刺激して自然免疫応答を惹起させること、の2つに分けられる(図4)。またいくつかのアジュバントはその両方の機能を合わせもっていると考えられる。現行のワクチンで広く使用されている水酸化アルミニウムをはじめとしたアルミニウム塩によるアジュバント効果は、ワクチン抗原の取込み促進と自然免疫レセプターに対する刺激の両方によるものと考えられている。

近年そのアジュバントメカニズムが徐々に明らかとなりつつあるアルミニウム塩を例にとると、以下のような機序が想定されている。

- ① アルミニウム塩と抗原蛋白質の静電的な相互作用によって、可溶性抗原とアルミニウム塩が数 μm 程度の複合体を形成することで抗原提示細胞に取り込まれやすくなり、結果と

して抗原蛋白質の取込みが促進される¹⁰⁾。

- ② アルミニウム塩がミトコンドリア障害をひきおこし、それに伴う oxidized mtDNA の細胞質への放出を介して、NLRP3 依存的なインフラマゾームを活性化する¹¹⁾。
- ③ アルミニウム塩が直接あるいは間接的に尿酸を介して抗原提示細胞、とくに樹状細胞の細胞膜上の lipid raft clustering を引き起こし、膜近傍に存在する Syk が活性化され、PGE2 などの産生が促進されることで Th2 応答を誘導する¹²⁻¹⁴⁾。
- ④ アルミニウム塩による組織障害が宿主 DNA の放出を引き起こし、宿主 DNA が TBK1/IRF3 を介した IgE 応答を引き起こす¹⁵⁾。

アルミニウム塩は上記のような複数の経路を介して、これらの複数の経路が協調してアジュバント効果を発揮していると考えられている。アルミニウム塩以外の粒子状アジュバントや MF59 や AS03 に代表される Oil-in-water アジュバントもおそらく同様に、直接細胞膜を刺激する経路と、

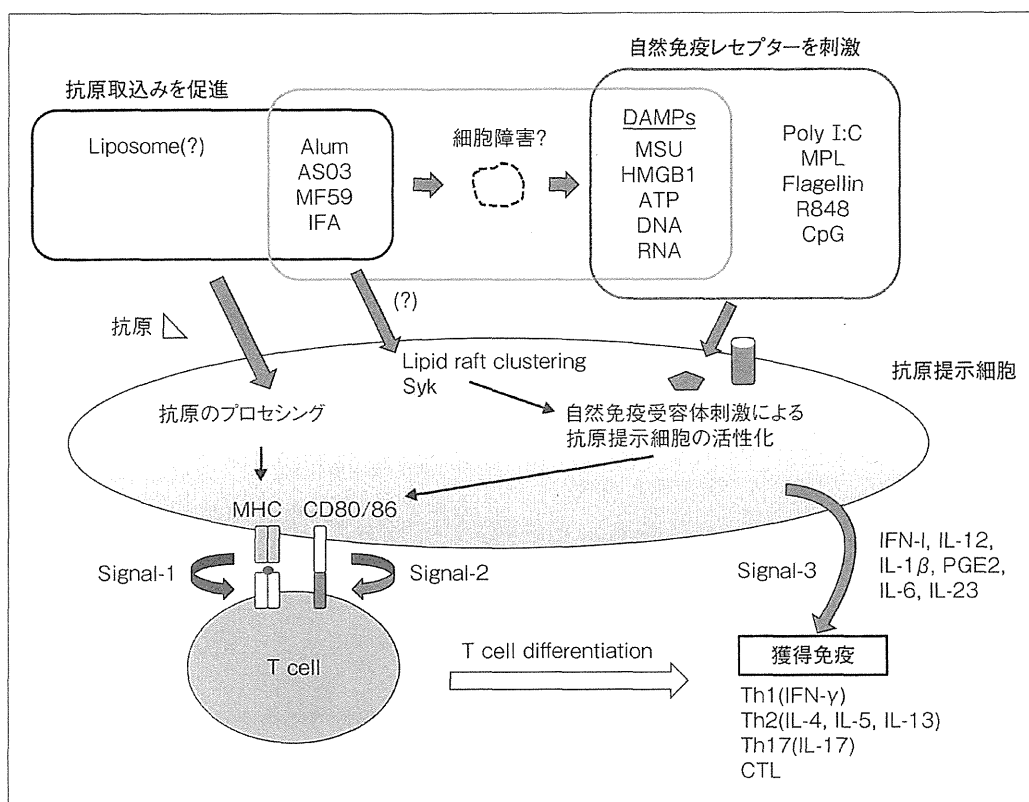


図 4 アジュバントの抗原提示における役割

これらのアジュバントの投与部位で起こる組織障害に伴って放出される尿酸, HMGB1, ATP, DNA, RNA などの DAMPs を介して抗原提示細胞上の自然免疫レセプターを刺激して効果を発揮することが想像されているが(図 4), 個々の粒子状アジュバントやオイルアジュバントの詳細な作用メカニズムの解明にはさらなる研究が待たれる。

抗原提示という観点からは, このようなアジュバント由来の直接あるいは間接的な自然免疫刺激によって抗原提示細胞が活性化し, かつ抗原のプロセッシングも増大して T 細胞への抗原提示が促進される。また刺激される自然免疫レセプターの種類や組合せなどによって抗原提示細胞周囲のサイトカイン環境が変化することで獲得免疫応答が方向づけられる(図 4)。

自然免疫シグナルと Th 細胞分化

自然免疫受容体からのシグナルカスケードは非常に複雑で, それぞれの受容体シグナル間でのクロストークや細胞集団による違いも存在し, たがい

に相違するような報告も多い。多くの例外や異なる事例も存在することを前提に, リガンドからの自然免疫受容体シグナルカスケードとそれによって産生される特徴的なサイトカイン, またそれらに相関する Th 細胞分化の概念図を簡潔化して図示すると図 3 のようになる。

TLR や RLR からのシグナルはそれぞれ MyD88/TRIF や IPS-1 を介して伝達され, IRF3 や IRF7 などの転写因子を活性化して I 型インターフェロン産生を誘導する。また, NF- κ B を介して IL-6, TNF- α , IL-12 などの炎症性サイトカイン産生も誘導する。とくに TLR シグナルによる IL-12 産生は強力に Th1 反応を誘導する。これらのサイトカインが共同的に働くことで TLR や RLR による自然免疫応答は Th1 や CTL を誘導することが知られている。Th1 は, IFN- γ 産生によってマクロファージを活性化して結核に代表される細胞内寄生菌の感染防御に働き, CTL は直接感染細胞を傷害することでウイルスの排除などにかかわっている。また最近 RLR シグナルが

IRF3を介してIRF5によるIL-12産生を阻害することが、ウイルス感染後の二次性細菌感染増悪に関与することも報告された¹⁶⁾。

CLRは、TLRとは異なるシグナル伝達経路をもつ宿主細胞形質膜に存在する自然免疫受容体であり、dectin-1やmincleなどが含まれ、それぞれITAMモチーフおよびFcR γ を介してSkyを活性化し、CARD9/MAPK経路でTh17を誘導することが報告されている¹⁷⁻¹⁹⁾。Th17はTh1、Th2とは異なる機能的役割を果たすCD4T細胞サブセットであり、カンジダ症などの真菌感染やリウマチのような自己免疫疾患に関与することが報告されている。

NLRはLRRドメインをもつ細胞内自然免疫レセプターで、インフラマゾーム活性化には関与しないNod1やNod2²⁰⁾とインフラマゾーム形成を介してcaspase-1依存的なIL-1 β やIL-18の産生を誘導するNLRP3などがある^{21,22)}。NLRP3はalumやsilicaなどの粒子状異物や細胞ストレスなど各種のdanger signal認識に関与する細胞内自然免疫受容体として報告されたが、NLRP3が認識するリガンドの実体はいまだ明らかでない。近年、NLRP3リガンド刺激による細胞ストレスに起因するミトコンドリア障害がNLRP3シグナルに重要であることが報告され、障害を受けたミトコンドリアから酸化ミトコンドリアDNAが細胞質に放出され、直接NLRP3と相互作用することも報告された^{11,23-25)}。

インフラマゾームの活性化によるcaspase-1依存的なIL-1 β はTh1やTh17応答を促進し、IL-18はTh1やCTL応答を促進することが報告されている²⁶⁾(図3)。さらに、IL-1ファミリーサイトカインであるIL-33産生はcaspase-1に依存しない²⁷⁾、組織障害に伴って宿主細胞から放出されるAlarminとして機能し、Th2細胞応答の促進のみならず²⁸⁾CTL応答の増強効果も報告されている²⁹⁾(図3)。このようなIL-1ファミリーのサイトカインはTLR、RLR、CLRによるサイトカイン応答と協調して各ThやCTL応答を促進していると考えられる。近年このプロセスに関与する獲得免疫細胞以外の各Th細胞が産生するのと同様の特徴的なサイトカインを産生する自然免疫系細胞

群として、innate lymphoid cellと総称される細胞群が同定され、Th細胞分化に重要な役割を果たしていることが報告されている³⁰⁻³²⁾。

また、上記のASCを介したNLRシグナル経路とは独立に、alum, silica, monosodium urate (MSU)などの粒子状異物は、自然免疫受容体を介さずに形質膜内側に存在するSykの活性化を誘導し、MAPK(p38)経路でPGE2産生を起こすことが報告され、その経路がAlumのTh2アジュバント効果により重要な役割を果たしていることが報告されている^{13,14,33)}。Th2タイプの免疫応答はIL-4、IL-5、IL-13などのサイトカインを特徴的に産生するCD4T細胞からなり、おもに抗体産生による液性免疫反応を促すことで、腸管寄生虫感染防御にかかわると同時に、IgE高値や好酸球浸潤を伴うアレルギー反応に関与している。

次世代のワクチン

これまでみてきたように自然免疫応答は獲得免疫応答を誘導するために必須だけでなく、誘導される獲得免疫応答の質にも大きく影響を与える。次世代のワクチンには予測可能な(predicable)活性をもつアジュバントを添加することが重要である。近年の自然免疫研究の進展によってある程度の予測は可能となりつつあるが、多様な自然免疫レセプターが複数の免疫系細胞にそれぞれ特徴的な発現パターンを示して分布し、同じ自然免疫レセプターを刺激しても細胞の種類によって産生されるサイトカインが異なる場合があること、二次的な組織由来のDAMPsによる影響、複数の自然免疫刺激による各シグナル間のクロストークの存在などを考慮すると、分子レベル、細胞レベル、組織レベルでこのような複雑な免疫ネットワークを理解するためのさらなる努力が必要である。

基礎的な理解に基づいた理想的な次世代ワクチンに求められる要件としては、①接種に伴って被接種者の健康を損なわないこと、②対象疾患の発症を予防する効果が高いこと、③接種回数や方法が簡便であること、があげられる(図5)。このような要件を満たす次世代ワクチンの開発には、病態の深い理解に基づいた優れたワクチン抗原の探

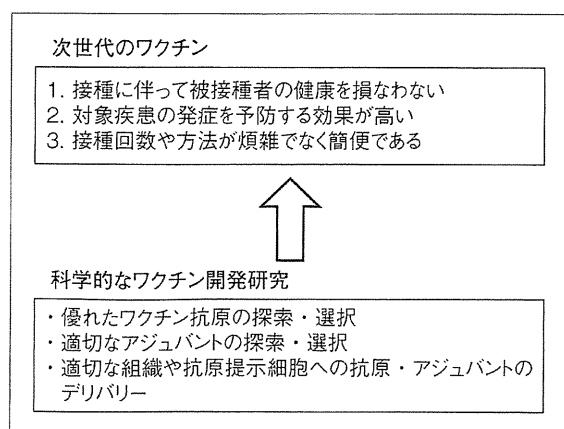


図 5 次世代ワクチンに求められる要件

索・選択はもとより、そのワクチン抗原に対して適切な獲得免疫応答を誘導できるアジュバントの探索・選択、さらにそれらのワクチン抗原やアジュバントを適切な組織や抗原提示細胞にデリバリーする DDS 技術の開発研究が重要であり、今後の課題である。

文献

- 1) Koyama, S. et al.: *Sci. Trans. Med.*, **2**: 25ra24, 2010.
- 2) Aoshi, T. et al.: *Curr. Opin. Virol.*, **1**: 226-232, 2011.
- 3) Takeuchi, O. et al.: *Cell*, **140**: 805-820, 2010.
- 4) Imai, Y. et al.: *Cell*, **133**: 235-249, 2008.
- 5) Ahrens, S. et al.: *Immunity*, **36**: 635-645, 2012.
- 6) Zhang, J. G. et al.: *Immunity*, **36**: 646-657, 2012.
- 7) Yamasaki, S. et al.: *Nat. Immunol.*, **9**: 1179-1188,

- 2008.
- 8) Hornung, V. et al.: *Nat. Med.*, **11**: 263-270, 2005.
- 9) Bernard, J. J. et al.: Ultraviolet radiation damages self noncoding RNA and is detected by TLR3. *Nat. Med.*, 2012, Jul. 8. (Epub ahead of print)
- 10) Lindblad, E. B.: *Cell Biol.*, **82**: 497-505, 2004.
- 11) Shimada, K. et al.: *Immunity*, **36**: 401-414, 2012.
- 12) Flach, T. L. et al.: *Nat. Med.*, **17**: 479-487, 2011.
- 13) Kool, M. et al.: *Immunity*, **34**: 527-540, 2011.
- 14) Kuroda, E. et al.: *Immunity*, **34**: 514-526, 2011.
- 15) Marichal, T. et al.: *Nat. Med.*, **17**: 996-1002, 2011.
- 16) Negishi, H. et al.: *Nat. Immunol.*, **13**: 659-666, 2012.
- 17) LeibundGut-Landmann, S. et al.: *Nat. Immunol.*, **8**: 630-638, 2007.
- 18) Schoenen, H. et al.: *J. Immunol.*, **184**: 2756-2760, 2010.
- 19) Agrawal, S. et al.: *PLoS One*, **5**: e13418, 2010.
- 20) Franchi, L. et al.: *Immunol. Rev.*, **227**: 106-128, 2009.
- 21) Lamkanfi, M.: *Nat. Rev. Immunol.*, **11**: 213-220, 2011.
- 22) Schroder, K. et al.: *Cell*, **140**: 821-832, 2010.
- 23) Zhou, R. et al.: *Nature*, **469**: 221-225, 2011.
- 24) Nakahira, K. et al.: *Nat. Immunol.*, **12**: 222-230, 2011.
- 25) Murakami, T. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**: 11282-11287, 2012.
- 26) Nakanishi, K. et al.: *Cytokine Growth Factor Rev.*, **12**: 53-72, 2001.
- 27) Lefrancais, E. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**: 1673-1678, 2012.
- 28) Schmitz, J. et al.: *Immunity*, **23**: 479-490, 2005.
- 29) Bonilla, W. V. et al.: *Science*, **335**: 984-989, 2012.
- 30) Spits, H. et al.: *Ann. Rev. Immunol.*, **30**: 647-675, 2012.
- 31) Koyasu, S. et al.: *Immunity*, **36**: 317-319, 2012.
- 32) Koyasu, S. et al.: *Front Immunol.*, **3**: 101, 2012.
- 33) Pelka, K. et al.: *Immunity*, **34**: 455-458, 2011.

* * *

ワクチン開発研究の展開

青枝大貴 石井 健

Summary

ワクチンは非常に効果の高い有用な医療として、その発見以来、人々の健康に大きな役割を果たしてきたが、そのワクチンがなぜ効くのかという疑問に答える分子メカニズムはあまり明らかになっていなかった。近年の自然免疫研究の進展によってアジュバントの作用機序が徐々に明らかになり、これまでのような経験に基づいたワクチン開発から、自然免疫研究の成果を科学的に取り入れた新しいワクチン開発への期待が高まっている。本章では、自然免疫やアジュバントという視点から、さまざまなアジュバントとそれらに対応する自然免疫受容体、さらにはこれらの自然免疫受容体特徴的に発現する樹状細胞のサブセットについて概説する。現在のワクチンよりもより有効で、かつ安全性の高い次世代ワクチンの開発には、適切なワクチン抗原とアジュバントを適切な樹状細胞サブセットに標的することが重要と考えられる。

Key Words

● ワクチン ● アジュバント ● 自然免疫 ● 獲得免疫 ● 樹状細胞

はじめに

E. Jenner や L. Pasteur にはじまるワクチン研究は、とくに天然痘やポリオなどの重篤な伝染性感染症に対して非常に高い効果を上げてきた。天然痘は1977年のソマリア青年を最後に自然感染が報告されず、1980年に世界保健機関(WHO)によって天然痘の根絶が宣言され、また2000年には日本を含む西太平洋地域からのポリオ根絶が宣言された。ワクチン接種は費用対効果の高い有用な医療の1つであり、現在ではおよそ15種類の病原体に対するワクチンが世界で用いられ、疾病の流行防止や疾病の発症阻止および軽症化を目的として接種されている。しかしながら、感染症に対するワクチン接種の対象者が乳幼児や高齢者をも含むほぼすべての健常人であること、集団免疫(herd immunity)の観点からは多くの場合約80%以上の接種率が必要で大多数の人々に接種を推奨しなければならないことなどから、公衆衛生環境の整っ

た日本を含む先進国では、ワクチンの効果そのものよりも、むしろワクチン接種に伴って起こる発熱などの比較的軽微な副反応や、きわめてまれで発生予測の難しい重篤な副作用が重大な社会的問題となっている。さらに、未だ有効なワクチンが存在しない AIDS、結核、マラリアの3大感染症に加えて、エボラ出血熱などの新興感染症や、平均余命が延びたことによるがんや認知症の増加といった現代型の疾患や病態に対しても、従来の枠組みを超えた新たなワクチンの開発が望まれている¹⁾。これらの課題を克服するためには、これまでの経験に基づいた方法(empirical)をふまえた上で、最新の免疫学研究の知見を取り入れた科学的アプローチによるワクチンの開発研究が重要である。

23-1 自然免疫と獲得免疫

免疫学はワクチンのメカニズムを明らかにする

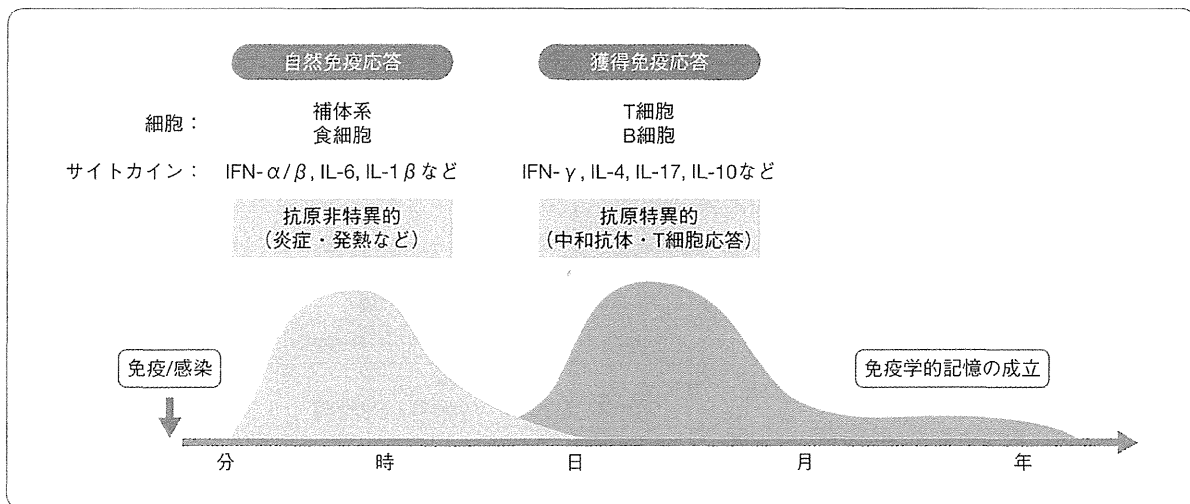


図23-1 ワクチン/感染後の生体免疫応答

ことに端を発して派生した学問分野であり、その研究は近年めざましい進展をとげ、複雑な免疫システムの詳細が少しずつ明らかになってきている。近年の免疫学による成果でワクチン研究に最も重要なものの1つとして自然免疫の分子メカニズムの解明があげられ、いわゆる「免疫」とよばれる現象も従来の炎症反応を含む「自然免疫」と“二度なし”の主体となる「獲得免疫」の2つの枠組みで理解されている(図23-1)。自然免疫 innate immunityとは病原体やワクチンを含む外来異物に対して早期に働く免疫反応で、おもに好中球やマクロファージなどの貪食細胞や、補体の活性化などからなる。貪食細胞などに発現する自然免疫受容体による細菌やウイルス由来の構成物の認識に伴ってさまざ

まなサイトカインやケモカインが誘導され、炎症や発熱、免疫系細胞の遊走などが惹起され、抗原非特異的な生体防御機構として機能する。それに対して、獲得免疫 adaptive immunity は、T細胞やB細胞によって担われ、抗原を特異的に認識しその排除に働く。また一度抗原特異的に活性化したT細胞やB細胞の一部はメモリー細胞として生体内に残り、2回目の感染などに対しては迅速かつ強力に感染や異物を排除する。このような獲得免疫を誘導することが“二度なし”といわれる免疫の主体をなしている。獲得免疫応答は強力であつ抗原特異的であるため、感染に際しては非常に効果的に感染防御に働くが、一度自己の抗原に対してこのような獲得免疫系が活性化してしまう

Key Words解説

- **ワクチン(予防接種)**：わが国で接種可能なワクチンは、定期接種(DTP, BCG, ポリオ, 麻疹/風疹, 日本脳炎)と任意接種(定期接種以外の Hib, 肺炎球菌, B 型肝炎, ロタウイルス, 水痘, おたふくかぜ, インフルエンザ, ヒトパピローマウイルス, A 型肝炎など)に分けられている。定期接種は公費負担で実施され無料で受けることができるが、任意接種のワクチンについては自治体などによる補助もあるが基本的には全額自己負担である。予防の観点からは生後2カ月前後のなるべく早期からワクチン接種を開始することが望ましいが、多くのワクチンを接種(1種類のワクチンについても期間をおいて複数回の接種が必要)するには、何回も小児科を訪れる必要があり、その負担を軽減するために2種類以上のワクチンを別々の接種部位に同日に接種する同時接種(欧米では一般的に行われている)を取り入れたワクチンスケジュールでの接種も行われているが、国内においては同時接種の安全性に対する懸念もゼロではない。

表 23-1 自然免疫受容体とリガンド (PAMP) および合成・精製リガンド (アジュバント)

自然免疫受容体 (PRR)		リガンド (PAMP)	合成・精製リガンド (アジュバント)	内在性リガンド (DAMP)
TLR	TLR1/2	トリアシルリポペプチド	Pam3CSK4	
	TLR2/6	ジアシルリポペプチド	マクロファージ活性化リポペプチド (MALP-2)	
	TLR3	dsRNA	ポリI:C	mRNA ⁹⁾
	TLR4	リポ多糖 (LPS)	モノホスホリリビド A (MPL)	HMGB1, HSP, OxPL ⁵⁾
	TLR5	細菌性フラジェリン	フラジェリン融合タンパク質	
	TLR7/8	ssRNA (RNA ウィルス)	イミキモド (R-837), レシキモド (R-848)	siRNA ¹⁰⁾
	TLR9	非メチル化 CpG DNA	CpG-ODNs (Type-A, Type-B, Type-C, Type-P)	宿主 DNA
	TLR11	プロフィリン様タンパク質 (トキソプラズマ)	不明	
RLR	RIG-I	5'-PPP ssRNA または 短い (~1 kb) dsRNA	不明	
	MDA5	長い (>2 kb) dsRNA	ポリI:C	
NLR	NOD1	ペプチドグリカン, ジアミノピメリン酸 (iE-DAP)	FK156, FK565	
	NOD2	ペプチドグリカン, ムラムリジペプチド (MDP)	ムラムリジペプチド (MDP)	
	NLRP3	細胞ストレス, リソソームの損傷	アルミニウム塩, MSU, シリカ	尿酸, ATP
	NAIP5	細菌性フラジェリン	フラジェリン融合タンパク質	
CLR	Dectin-1	β (1,3)-グルカン	カードラン, レンチナン, シゾフィラン	
	Dectin-2	高マンノース構造	Man9GlcNAc2	
	Mincle	トレハロース-6, 6-ジミコール酸 (TDM)	トレハロース-6,6-ジベヘナート (TDB)	SAP130 ⁸⁾
	Clec9A	?	?	アクチン ^{6), 7)}
ALR	AIM-2	dsDNA	不明	
	IFI16	dsDNA	不明	

dsDNA：二本鎖 DNA, ssDNA：一本鎖 DNA.

と重篤な自己免疫疾患を引き起こすことにもなるため、生体における獲得免疫の活性化は厳密に制御されなければならない。しかしまた同時に病原体に曝露された際には迅速に獲得免疫系を活性化する必要がある。獲得免疫誘導の制御メカニズムはまだ完全に理解されているわけではないが、自然免疫系の活性化が獲得免疫誘導に重要な役割を果たしていることが明らかとなりつつある^{2), 3)}。

23-2 自然免疫受容体

自然免疫系の活性化は、生体を構成するさまざまな細胞に発現している自然免疫受容体がおもに

病原体に由来するリガンドを認識することから始まる。近年、次々と自然免疫受容体およびそのリガンドが同定されたことで、自然免疫系が非自己である外来異物や病原体を認識する仕組みが分子レベルで明らかになっている⁴⁾。これまでに同定されている代表的な自然免疫受容体としては、その分子構造に基づいて Toll 様受容体 (TLR)、RIG-I 様受容体 (RLR)、NOD 様受容体 (NLR)、C 型レクチン受容体 (CLR)、AIM2 様受容体 (ALR) の大きく 5 つに分類されている (表 23-1)。これらの受容体は病原体 (ウイルス、細菌、真菌、寄生虫) のさまざまな構成成分 (膜成分、鞭毛、核酸) を認識する。これらの病原体成分は宿主には存在しないため

PAMP (pathogen-associated molecular pattern) あるいは MAMP (microbe-associated molecular pattern) とよばれ、自然免疫系が自己と非自己を識別する指標になっている。TLR4や Dectin-1などは宿主細胞の形質膜に存在して病原体膜由来のリポタンパク質や糖鎖成分を認識し、また NOD1や NOD2などは細胞内で細菌膜由来のペプチドグリカンを認識する。病原体由来の DNA や RNA などの核酸を認識する TLR3, TLR7, TLR8, TLR9はエンドソームに局在し、RIG-I, MDA5, AIM-2, IFI16などは細胞質内の非自己外来核酸を認識する。また興味深いことに、TLR5リガンドのフラジェリンと TLR11リガンドのプロフィリン様タンパク質を除いて、ほとんどの自然免疫受容体リガンドは脂質、糖鎖、核酸などの非タンパク質性の化学構造を認識している。このことは、獲得免疫系を構成する T 細胞や B 細胞がそれぞれ外来タンパク質抗原由来のペプチド(8~15アミノ酸)や抗原タンパク質そのものの立体構造を認識していることと対照をなしている。また自然免疫受容体は外来性のリガンド認識だけでなく、炎症や組織障害によって修飾されたり放出されたりする宿主由来成分 damage associated molecular pattern (DAMP) も認識することが知られ^{5)~10)}(表23-1)、自己由来のこれらの DAMP が生体の自然免疫系を刺激することによるアレルギーや自己免疫疾患などの病態への関与も示唆されている。

23-3 現行のワクチン(生ワクチン、不活化ワクチン)

現在わが国で用いられているワクチンには、表23-2に示したものがあげられ、それらのワクチンは大きく「生ワクチン」と「不活化ワクチン」に分けられる。生ワクチンは、毒性や病原性を弱めた微生物をそのままワクチンとして用いるもので、弱毒化した生きた病原体をそのまま接種するため実際の感染で誘導されるのとはほぼ同様の免疫反応が引き起こされ、獲得免疫を誘導するために外来性のアジュバントを必要としない。不活化ワクチ

ンは、病原体をホルマリンなどの化学物質で処理して感染性を不活化したもので、さらに3つに分類することができる。全粒子ワクチンは、ウイルス粒子をまるごとホルマリンなどで固定・不活化したもので、病原体のもつほぼすべての成分が不活化された病原体粒子に含まれるため、外来性のアジュバントはほとんどの場合必要ない。スプリット / コンポーネントワクチンは、病原体を不活化したのち、さらに防御免疫効果の高い病原体由来成分だけ(たとえばインフルエンザの HA 抗原など)を高度に濃縮・精製したもので、防御抗原だけに精製されているため、本来病原体がもっていた自然免疫受容体を刺激する PAMP は精製過程で失われていることが多く、免疫反応を効率よく誘導するためにアルミニウム塩(Alum)などの外来性アジュバントが添加されることが多い。また、病原体の産生する外毒素がその病原性に大きく関わっている場合には、病原体の産生する毒素のみを精製してホルマリンで不活化したものであるトキソイド(不活化外毒素)をワクチンとして投与し、それら毒素に対して抗体をつくらせることで効果的に病気の発症を抑えることができるが、この場合も外来性アジュバントとして水酸化アルミニウムが添加されている。

23-4 現行ワクチンの課題

これらの現行ワクチンは、歴史的な背景や試行錯誤による経験に基づいて開発されたものが多く、公衆衛生を含めた社会的な要請によって使用され、かつ効果が実証されてきたため、分子レベルでの個々のワクチンの作用メカニズムの多くはいまだに不明である。現時点ではワクチン接種に伴って発生した有害事象(真のワクチンによる副反応・副作用と偶然ワクチン接種と時期を同じく発生したワクチンとは関係のない疾病発生の両方を含む)とワクチン接種そのものに起因する副反応・副作用を科学的に解析することは非常に困難であり、ワクチンに対する不信や拒絶の一因となっている。また最近報道を通じて取り上げられることの多い

表 23-2 現行ワクチンの種類とその特徴

	生ワクチン	不活化ワクチン		
		全粒子ワクチン	スプリットワクチン コンポーネントワクチン	トキソイド (不活化外毒素)
特徴	毒性や病原性を弱めた微生物(細菌やウイルス)をそのままワクチンとして用いる	ホルマリンなどの化学処理で病原微生物をそのまま殺した(不活化した)もの	病原体を不活化した後、破碎し、免疫に有用な成分(抗原)のみを高度に濃縮・精製したもの	病原体の産生する外毒素のみを精製し、ホルマリンなどで不活化したもの
接種時の自然免疫反応	+++++	+++	±	〜+++
安全性	+	++	+++	+++
免疫効果	+++++	+++++	+〜+++	+++++
誘導される免疫反応	B 細胞(抗体) CD4 ⁺ T 細胞(Th1) CD8 ⁺ T 細胞(CTL)	B 細胞(抗体) CD4 ⁺ T 細胞 (Th1>Th2)	B 細胞(抗体) CD4 ⁺ T 細胞 (Th1 / Th2)	B 細胞(抗体) CD4 ⁺ T 細胞 (Th1<Th2)
ワクチンの例 (外来性アジュバントが添加されていないもの)	BCG, ポリオ, 麻疹風疹混合(MR) 麻疹, 風疹 流行性耳下腺炎, 水痘 黄熱, ロタウイルス	A 型肝炎 日本脳炎 狂犬病	インフルエンザ 肺炎球菌(23価多糖体) b 型インフルエンザ菌 (Hib) (破傷風トキソイドとのコンジュゲート)	—
ワクチンの例 (外来性アジュバントが添加されているもの)	—	プレバパンデミックインフルエンザワクチン(A/H5N1): (水酸化アルミニウム) [緊急時のための備蓄ワクチン]	B 型肝炎: (水酸化アルミニウム) 肺炎球菌7価結合型(ジフテリア毒素 CRM197 とのコンジュゲート): (リン酸アルミニウム) ヒトパピローマウイルス(HPV) 2 価: (水酸化アルミニウム + MPL) ヒトパピローマウイルス(HPV) 4 価: (リン酸アルミニウム)	DTP/DT: (水酸化アルミニウム) 破傷風トキソイド: (水酸化アルミニウム) 成人用ジフテリアトキソイド: (水酸化アルミニウム)

ポリオの経口生ワクチンと不活化ワクチンの問題に代表されるように、弱毒化されているとはいえ感染性を保持した生きた病原微生物を接種する生ワクチンは、原理的に、潜在的な病原性復帰や免疫不全状態による発病などのリスクを抱えている。そのため、現行の生ワクチンの中で最も有効で安全なポリオ経口生ワクチン oral attenuated polio vaccine (OPV) であっても約100万人に1人のワクチン株に由来するポリオ麻痺 vaccine associated polio paralysis (VAPP) は避けられず、不活化ポリオワクチン inactivated polio vaccine (IPV) への移行が進められている。このような弱毒生ワクチンから不活化ワクチンへの移行という社会的な要請は今後も続くと考えられるが、安全性を高めるためにワクチン抗原の精製度を高めれば高めるほど、獲得免疫を誘導するために重要な病原体

に由来する内在性自然免疫リガンドが失われるため、外来性アジュバントの添加を必要とするケースが増加することが予想される。しかしながら現在認可され広く使用されている外来性アジュバントはアルミニウム塩だけであり、過去80年間全世界でヒトに用いられ安全性に問題はないとされているが、その作用メカニズムもいまだ十分に明らかにされていない^{11), 12)}。またアルミニウム塩はマウスモデルにおいては力価の高い中和抗体産生を促すが、同時に強く Th2 タイプの免疫応答を惹起する。そのため、現行のアルミニウム塩が添加された不活化ワクチンによる免疫が、ヒトにおいても、一般的に細菌やウイルス感染に対する防御により有効とされる Th1 タイプの免疫応答よりもアレルギーなどへの関与が示唆される Th2 タイプの免疫応答を誘導している可能性も否

表23-3 臨床使用されているアジュバント

アジュバント名	主要な成分	使用されているワクチン	自然免疫受容体・シグナル分子	誘導される獲得免疫
Alum	アルミニウム塩 (水酸化アルミニウムなど)	B型肝炎ワクチン, 破傷風, DT, DTP	NLRP3インフラマソーム(?) Syk → MAPK → PGE ₂ (?)	抗体, Th2
AS04	Alum + MPL (3-O-デスアシル-4'- モノホスホリルリピド A)	子宮頸がんワクチン (サーバリックス®; GSK)	MPL → TLR4 → TRIF NLRP3インフラマソーム(?)	抗体, Th1
MF59	スクアレン (Oil-in-water emulsion)	H1N1インフルエンザワクチン (CELTURA; ノバルティス) *特例承認	ASC (?)	抗体, Th2/Th1
AS03	スクアレン + DL-α-トコ フェロール (Oil-in-water emulsion)	H1N1インフルエンザワクチン (アレバンリックス; GSK) *特例承認	不明	抗体, Th2/Th1

定できない。現行のアルミニウム塩が添加されている不活化ワクチンの有効性は明らかであるが、将来的には Th1 タイプの免疫応答を惹起でき、かつ同時に安全なアジュバントを添加した不活化ワクチンの開発が必要と考えられる。最近、子宮頸がんワクチンとして認可されたサーバリックス® (GSK 社) には、水酸化アルミニウムに加えて毒性を軽減した TLR4 リガンドであるモノホスホリルリピド A (MPL) が添加されており Th1 タイプの免疫応答が報告されている (表23-3) ¹³⁾。

23-5 アジュバント

これまでみてきたようにワクチンの有効性と安全性をより高めていくためには、有望なアジュバントの探索・開発とその作用メカニズムの理解が必須である。アジュバントとは免疫応答を増強させる物質の総称であるが、その機能的役割は大きく2つに分けて考えることができる。樹状細胞をはじめとする抗原提示細胞にワクチン抗原を効率よく取り込ませるための輸送媒体としての役割と、細胞膜あるいは細胞質内に存在するさまざまな自然免疫受容体を刺激して、免疫系細胞のシグナルカスケードの活性化を介して抗原提示細胞を活性化させ、さらに I 型インターフェロンや炎症性サイトカインの産生を促進することで獲得免疫応答を促進させるなどの免疫モジュレーターとしての役割に分けて考えることができる。またいくつか

のアジュバントはその両方の機能をあわせもっていると考えられている (図23-2)。現行のワクチンで広く使用されている水酸化アルミニウムをはじめとしたアルミニウム塩によるアジュバント効果は、ワクチン抗原の取り込み促進と自然免疫受容体に対する刺激の両方によるものと考えられている。現在日本国内で臨床使用されているアジュバント (表23-3) と、研究開発中のアジュバント (表23-4) をそれぞれ示す。これらの各アジュバントはそれぞれ異なった自然免疫受容体を刺激することで、各アジュバントに固有のシグナル伝達経路を介して特徴的なサイトカイン産生やそれに伴う特徴的な Th 応答を誘導する傾向がみられ、その意味でアジュバントは単に免疫応答を増強するだけではなく、その質 (Th1, Th2, Th17 など) にも影響を与えていると考えられる (図23-3)。Th1 はおもに細菌やウイルスによる感染防御に対して、Th2 は液性免疫を主としながら腸管寄生虫に対する防御やアレルギー反応に、Th17 は真菌感染に対する防御や関節リウマチや乾癬などの自己免疫疾患病態への関与がそれぞれ示唆されており、個々のワクチンが標的とする疾患や病態に対して適切な Th 反応応答を促進するアジュバントを選択する必要がある。その意味で、今後は個々の疾患や病態に適切な抗原とアジュバントを組み合わせたワクチンを開発していくことが、安全性と有効性をともに兼ね備えたワクチンを実現するためには必要である。

23

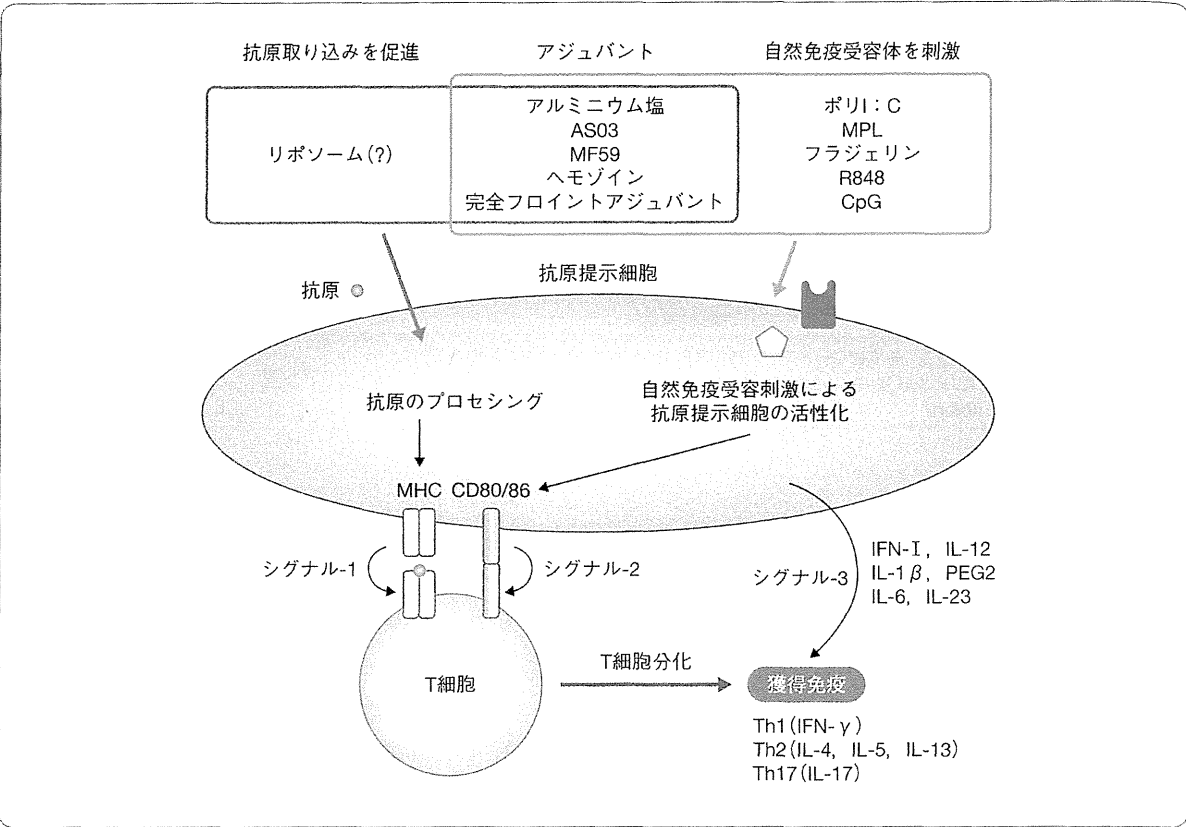


図 23-2 アジュバントと抗原提示

表 23-4 代表的な研究開発中のアジュバント

アジュバント	成分	自然免疫受容体・シグナル分子	誘導される獲得免疫
ポリI:C	合成 dsRNA アナログ	TLR3 MDA5	抗体, Th1, CD8
フラジェリン	フラジェリン	TLR5	抗体, Th1 / Th2
イミキモド	合成 ssRNA アナログ	TLR7, TLR8	抗体, Th1, CD8
CpG	合成 CpG-ODNs	TLR9	抗体, Th1, CD8
QS-21	サポニン	不明	抗体, Th1, Th2, CD8
TDM	トレハロースジミロール酸	Mincle	抗体, Th1, Th17
カードラン	β 1,3-グルカン	Dectin-1	抗体, Th1, Th17, CD8
ヘモジン	β -ヘマチン結晶	MyD88	抗体, Th1 / Th2

23-6 樹状細胞と免疫応答

獲得免疫応答を誘導するためには、多くの場合で、樹状細胞などの抗原提示細胞の自然免疫受容体がリガンドによって刺激され、細胞内のシグナルカスケードによって樹状細胞が活性化することが必要である(図 23-2, 図 23-3)。アルミニウム

塩や Oil アジュバントは抗原と複合体を形成して抗原タンパク質の取り込みを促進していると考えられている。それによって MHC 上に提示される抗原由来ペプチドが増加し、結果として T 細胞への抗原提示(シグナル-1)が増加する(図 23-2)。またアルミニウム塩は直接、抗原提示細胞膜を活性化するだけでなく¹⁴⁾、DAMP の1つとして作用

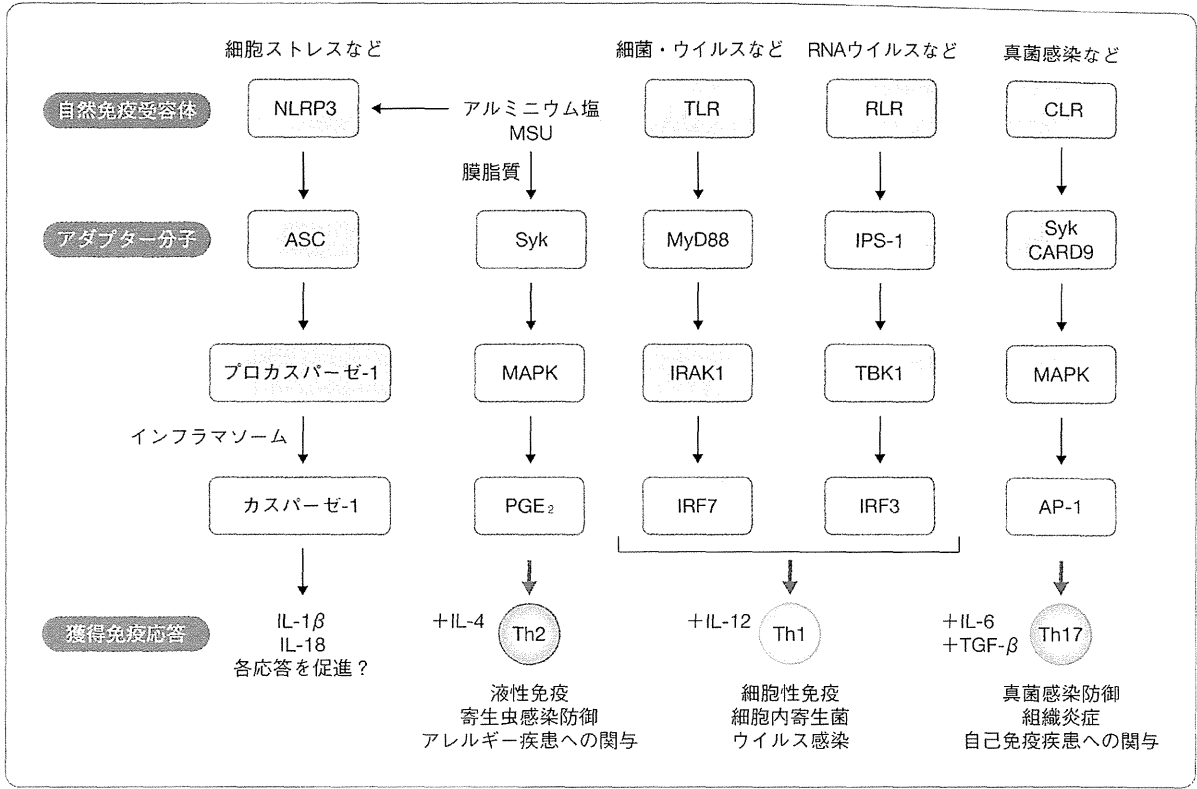


図23-3 自然免疫応答とTh細胞応答

する尿酸を介して自然免疫受容体を活性化し、抗原提示細胞そのものの活性化や細胞膜上の CD80 や CD86 からなる補助刺激分子を増加させ T 細胞への抗原提示の際に副次的な刺激(シグナル-2)を与えることで T 細胞応答を促進している。CpG などのアジュバントは抗原取り込みを直接的に増加させることはないと考えられるが、自然免疫受容体刺激によって樹状細胞を活性化することで、MHC 分子や補助刺激分子の発現を増大させて T 細胞への抗原提示を促進する。さらに樹状細胞に加わった自然免疫刺激の種類や組み合わせによってさまざまなサイトカインが産生され(シグナル-3. 図23-2, 図23-3)誘導される免疫応答の種類や質にも影響を与えている。また樹状細胞の活性化を伴わない状態でシグナル-1のみを T 細胞に与えると、逆に T 細胞はアナジーとよばれる不応答状態になることも知られている^{15), 16)}。実際に LPS などの TLR リガンドを含まない非常に精製度が高いタンパク質抗原をマウスに免疫しても、その抗

原に対する抗体産生や T 細胞応答はほぼ認めない。このことを図示すると、図23-4のようになる。そのような意味で、樹状細胞は自然免疫と獲得免疫を橋渡しするのに重要な細胞集団で、自然免疫反応は獲得免疫応答を誘導するためにほぼ必須であるといえ、アジュバントは免疫応答に“GO”サインを出していると考えられる。また樹状細胞はアジュバント刺激を自然免疫シグナルに変換して、ワクチンなどで誘導される免疫応答の量と質を制御する役割を果たしていると考えられる。またメモリー T 細胞の活性化にはここに述べたような自然免疫の活性化は必要ないと考えられ、メモリー T 細胞を再活性化するワクチンにはアジュバントの添加は必ずしも必要ではない²⁾。

23-7 樹状細胞サブセット

さらに重要な事実として、樹状細胞には複数のサブセットが存在しており、おもにマウスでの知

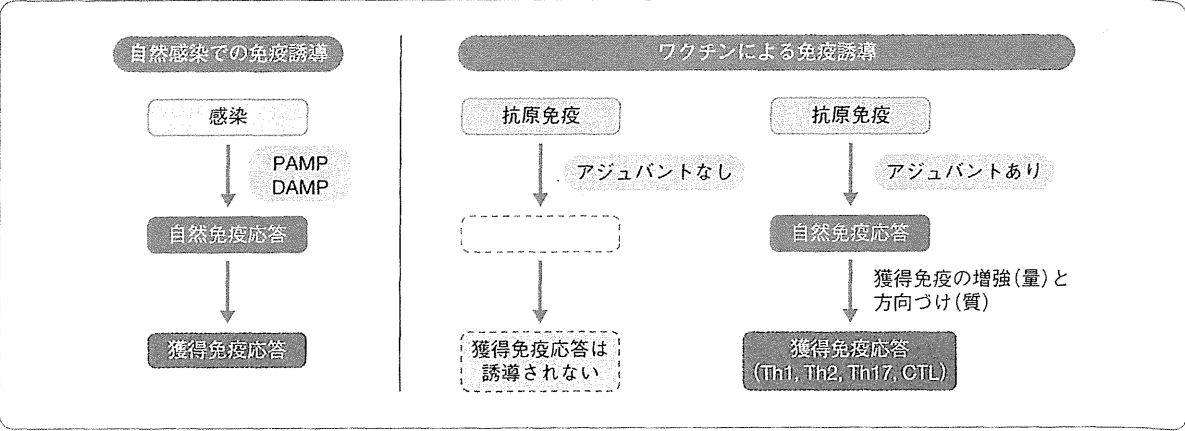


図23-4 ワクチンによる免疫誘導

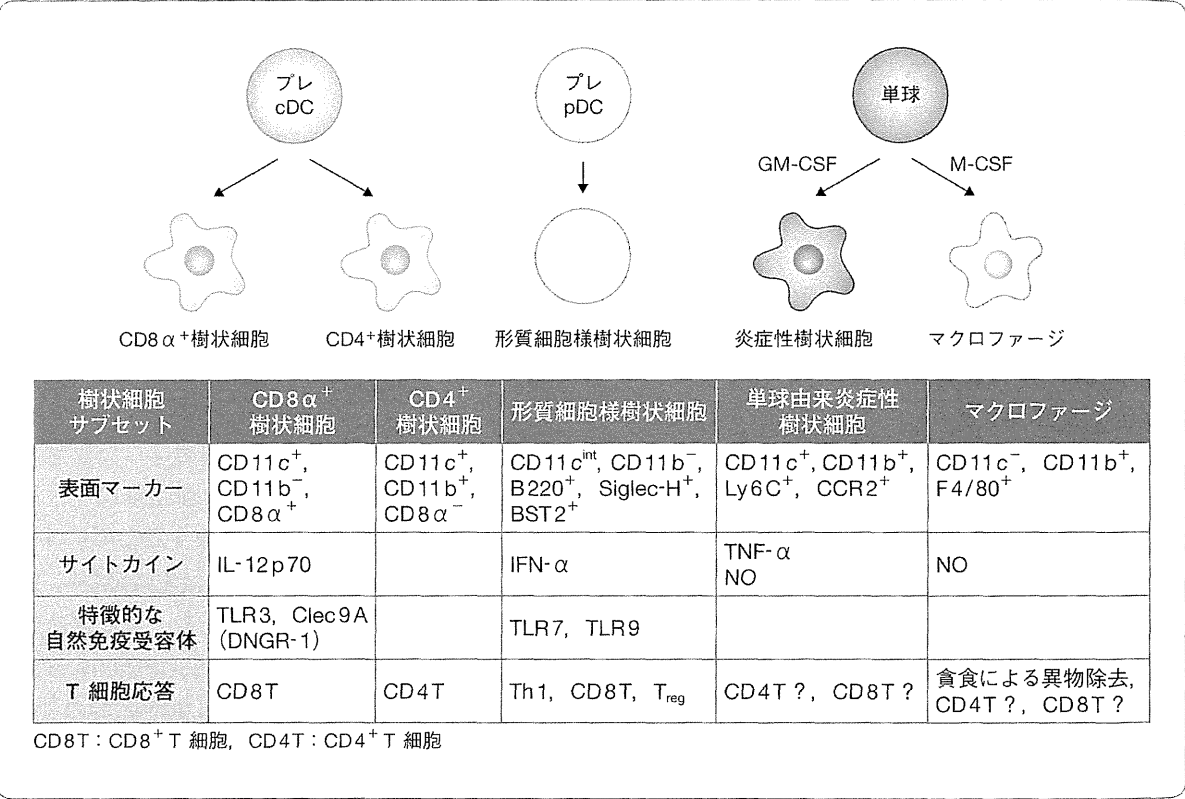


図23-5 樹状細胞サブセットと免疫応答

見を基に古典的樹状細胞 conventional dendritic cell (cDC)と形質細胞様樹状細胞 plasmacytoid DC (pDC)の2つに大きく分類され、cDCはさらに細胞表面にCD8 α を発現するCD8 α ⁺樹状細胞とCD8 α を発現せずCD4やDCIR2を発現する樹状細胞に分けられている(図23-5)。また、従来の骨

髄細胞からGM-CSFによって分化誘導された樹状細胞は、現在ではinflammatory DCとよばれる単球 monocyte に由来する炎症性樹状細胞に相当すると考えられている。このような樹状細胞サブセットは単に細胞表面の発現マーカーが異なるだけでなく、機能的にもそれぞれの特徴をもっている