

(図23-5). $CD8\alpha^+$ 樹状細胞は TLR3や Clec9A を発現しており, 抗原由来ペプチドを MHC クラス I に提示するための TAP などの分子を他の樹状細胞よりも多く発現しており, 実際に $CD4^+$ T 細胞よりも $CD8^+$ T 細胞に抗原を提示しやすいことが知られている¹⁷⁾. 逆に $CD4^+$ 樹状細胞は MHC クラス II による抗原提示に優れ $CD4^+$ T 細胞の活性化をより誘導する¹⁷⁾. pDC は TLR7や TLR9 を発現し, これらの刺激に対して大量の IFN- α を産生する. IFN- α は強力な抗ウイルス作用をもつ サイトカインでウイルス増殖を抑制する. pDC が cDC のような抗原提示を行うかどうかはさまざまな報告があるが, 少なくとも *in vitro* ではあまり T 細胞に対する抗原提示には優れていないとの報告が多い¹⁸⁾. 炎症性 DC は, 炎症に伴って二次的に遊走し集積する単核球がさまざまな炎症に伴うサイトカインによって樹状細胞に分化した細胞と考えられ, cDC によって引き起こされた $CD4^+$ および $CD8^+$ T 細胞応答をさらに増強していると考えられている¹⁹⁾. これまで述べてきたこれらの樹状細胞サブセットには, マウスだけでなくヒトにもほぼ同様の樹状細胞サブセットが存在することが明らかになっている. しかしながら, これら樹状細胞が発現する TLR などの自然免疫受容体はヒトとマウスでやや異なることが知られており, さまざまなアジュバントの効果をマウスからヒトへと適応使用する際には注意が必要である. また, マクロファージによる T 細胞への抗原提示は一般に樹状細胞よりも弱いと考えられているが, マクロファージが腫瘍や糖尿病などさまざまな疾患病態に影響を与えている可能性が示唆されていることから今後の研究が待たれる²⁰⁾.

23-8 次世代ワクチンの開発にむけて

本章では, 基礎免疫学の視点から, 自然免疫, 獲得免疫, アジュバントによる獲得免疫の増強および方向づけ, それらにおける樹状細胞の役割などを概説してきたが, 現在もいまだその全容は明らかになっていないとはいえなく, 今後さらなる

表23-5 次世代ワクチンの開発に求められること

- 優れたワクチン抗原の探索・選択
- 適切なアジュバントの探索・選択
- 適切な組織や樹状細胞への抗原/アジュバントのデリバリー

研究が必要と考えられる.

現在日本国内で臨床使用されているアジュバントはアルミニウム塩あるいはスクアレンを主体とした水中油滴型(Oil-in-water)アジュバントであり(表23-3), アルミニウム塩や Oil アジュバントは単独では Th2タイプの免疫応答を誘導しやすいことが知られている. Th1/Th2/Th17などの概念はおもにマウスでの実験をもとに構築されており, ヒトにおいても同様の免疫応答がさまざまな疾患で論じられているが, マウスでの知見がそのままヒトに当てはまるとはいえない. その意味ではヒトにおいてワクチンで誘導される免疫応答が Th1になっているのか Th2になっているのか厳密に判断することは難しいものの, 現在実際に使用されているワクチンアジュバントによる免疫応答は Th2反応あるいは Th2と Th1の混合反応となっていると類推されている. これまでみてきたように, 病態によっては Th2反応よりも Th1反応の方が望ましいと考えられるものも数多く存在し, 現在使用可能なワクチンアジュバントはそれらの要請には十分に応えているとはいえない. 対して, 代表的な研究開発中のアジュバントであるポリ I:C, イミキモド, CpG は, TLR を刺激することで Th1 応答を誘導可能なものが多い(表23-4). しかしながら, TLR 刺激は SLE などの自己免疫疾患病態にも密接な関連が指摘され, TLR 刺激作用をもつアジュバントは潜在的に自己免疫疾患を誘発する可能性をもっており, その臨床応用については, 慎重に安全性を見極める必要がある.

副反応を極力抑えながらも十分ワクチン効果をもつ次世代ワクチンの開発の1つの鍵は, 優れたワクチン抗原や新しいアジュバントの探索はもとより, 分子・細胞レベルでの免疫作用機序に基づいて, ワクチン抗原およびアジュバントを適切な樹

Ⅲ. 免疫病態の解明と疾患治療の展開

状細胞サブセットにより選択的にデリバリーし、その対象疾患・病態に適した Th タイプの獲得免疫応答を誘導することにあると考えられる(表23-5)。今後の免疫学知識に裏づけられた安全性と有効性をともに兼ね備えた次世代ワクチンの開発が期待される。

文 献

- 1) Rappuoli R, et al.: *Nat Rev Immunol*, 11: 865-872, 2011.
- 2) Koyama S, et al.: *Sci Transl Med*, 2: 25-24, 2010.
- 3) Aoshi T, et al.: *Curr Opin Virol*, 1: 226-232, 2011.
- 4) Kawai T and Akira S: *Nat Immunol*, 11: 373-384, 2010.
- 5) Imai Y, et al.: *Cell*, 133: 235-249, 2008.
- 6) Ahrens S, et al.: *Immunity*, 36: 635-645, 2012.
- 7) Zhang JG, et al.: *Immunity*, 36: 646-657, 2012.
- 8) Yamasaki S, et al.: *Nat Immunol*, 9: 1179-1188, 2008.
- 9) Karikó K, et al.: *J Biol Chem*, 279: 12542-12550, 2004.
- 10) Hornung V, et al.: *Nat Med*, 11: 263-270, 2005.
- 11) Marichal T, et al.: *Nat Med*, 17: 996-1002, 2011.
- 12) Kuroda E, et al.: *Immunity*, 34: 514-526, 2011.
- 13) Didierlaurent AM, et al.: *J Immunol*, 183: 6186-6197, 2009.
- 14) Flach TL, et al.: *Nat Med*, 17: 479-487, 2011.
- 15) Chappert P and Schwartz RH: *Curr Opin Immunol*, 22: 552-559, 2010.
- 16) Powell JD and Delgoffe GM: *Immunity*, 33: 301-311, 2010.
- 17) Dudziak D, et al.: *Science*, 315: 107-111, 2007.
- 18) Colonna M, et al.: *Nat Immunol*, 5: 1219-1226, 2004.
- 19) Domínguez PM and Ardevín C: *Immunol Rev*, 234: 90-104, 2010.
- 20) Biswas SK and Mantovani A: *Nat Immunol*, 11: 889-896, 2010.

5. 粒子アジュバントのメカニズム

黒田悦史

ワクチンアジュバントとして臨床の場で用いられているアラムアジュバントをはじめ、粒子状物質の多くは免疫応答を増強させるアジュバント活性を有している。しかしながら、その有用性に反して免疫学的なメカニズムに関しては不明な点が多く残されている。最近になり、アラムアジュバントを中心に粒子アジュバントの免疫学的メカニズムが精力的に解析されており、これまで考えられていた理論に加え、さまざまな細胞内シグナル、液性因子、さらに DAMPs とよばれる内因性分子が関与していることが明らかになってきた。

はじめに

アジュバントとは抗原とともに投与することで、抗原に対する免疫原性を増強、加速、延長する免疫増強剤の呼称である。現在もさまざまなアジュバントが臨床の場で用いられているが、最もよく用いられているアジュバントとして、粒子アジュバントであるアラム（水酸化アルミニウム）があげられる。アラムは三種混合ワクチンやB型肝炎ワクチンに使用されており、

[キーワード&略語]

粒子アジュバント、アラム、脂質メディエーター

DAMPs : damage-associated molecular patterns (ダメージ関連分子パターン)

MSU : mono-sodium urate crystal (尿酸塩結晶)

PAMPs : pathogen-associated molecular patterns (病原体関連分子パターン)

PGE₂ : prostaglandin E2 (プロスタグランジンE2)

PLG : poly (lactide-co-glycolide) (乳酸・グリコール酸重合体)

PRRs : pattern recognition receptors (パターン認識受容体)

われわれの健康維持にはなくてはならない粒子アジュバントである。しかしながら一方で、大気中に拡散するさまざまな微小粒子状物質もアジュバント活性を有しており、呼吸器系におけるアレルギー性炎症などへの関与が示唆されている。このように粒子状物質もつアジュバント活性はわれわれの生活にさまざまな影響を与えているが、アラムを含めた粒子アジュバントがどのような機序で免疫応答を誘導するかについては長らく明らかにされていなかった。最近になり、アラムを中心に粒子アジュバントのメカニズムが注目され、さまざまな報告がなされている。本稿ではこれまで提唱されてきた粒子アジュバントの免疫学的メカニズムについて最新の知見を含めながら解説したい。

■ アジュバント活性をもつ粒子状物質とその特性

多くの粒子状物質がアジュバント活性を有することが知られている。最も有名で古くから臨床応用されているものとしてアラムがあげられるが、その他の粒子状物質も同様なアジュバント活性を有することが報告されている。結晶シリカはけい肺症を引き起こすこと

Particulates work as adjuvant

Etsushi Kuroda : Laboratory of Vaccine Science, Immunology Frontier Research Center, Osaka University (大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学)

が知られている粒子状物質であるが、アラムと同様に抗原とともに投与することで特異的な抗体産生を誘導する効果がある¹⁾。尿酸塩結晶 (mono-sodium urate crystal : MSU) は生体内で生成される粒子状物質であり、傷害を受けた細胞から放出されるダメージ関連分子パターン (damage-associated molecular patterns : DAMPs)^{※1}の1つである。MSUも強い炎症反応を誘導することが知られており、強力なアジュバント活性を有している²⁾。またマラリア原虫が産生する代謝産物で、遊離ヘムのポリマーであるヘモゾインもアジュバントとして使用することで液性免疫を活性化することが報告されている³⁾。化学的に合成された粒子状物質である乳酸・グリコール酸重合体 (poly (lactide-co-glycolide) : PLG) やポリスチレン粒子もマウスを用いた基礎的研究において抗原特異的なIgGを誘導することが報告された⁴⁾。酸化ニッケル粒子も強い炎症反応と抗原特異的な抗体産生を誘導する⁵⁾。無脊椎動物の主要な構造体であるキチンも粒子アジュバントとして免疫系を刺激し、好酸球の誘導を引き起こすことが報告されている⁶⁾。

また、粒子のサイズもアジュバント活性に深く関与すると考えられている。PLGが樹状細胞を活性化するサイズについて検討した報告があり、430 nm～1 μmのサイズが効率よく貪食されることを示している⁴⁾。ヘモゾインのサイズとアジュバント活性について検討した報告では、50～200 nmのサイズで強いアジュバント活性を示すことが示されている³⁾。同様にアジュバント活性をもつ結晶シリカ粒子についても、1～2 μmのサイズが効率よく貪食され、細胞を刺激することが報告されており⁷⁾、これらの報告から貪食に適した数百nm～2 μm程度の大きさが免疫反応を強く刺激するサイズであると考えられる。

興味深い点は、これら粒子アジュバントが有する特性である。粒子アジュバントの多くが好酸球の活性化やIgE産生を誘導するTh2型免疫反応を活性化する特

性を有している。このようなアジュバントは特にTh2アジュバントとよばれる。粒子アジュバントがどのような機序で免疫系を活性化し、Th2型免疫反応を誘導するのかについては明らかにされていないが、多くの粒子アジュバントがTh2アジュバント活性を有していることが報告されていることから、粒子アジュバントに共通する免疫活性化機構が存在することが示唆される。

② アジュバントと自然免疫

近年の自然免疫研究の成果により、効果的な獲得免疫の誘導には自然免疫の活性化が重要であることが明らかにされ、アジュバントの多くが自然免疫を活性化する能力を有していると考えられている。一般に、自然免疫はTLRをはじめとするパターン認識受容体 (pattern recognition receptors : PRRs) を介して活性化され、獲得免疫反応を誘導する。このことから、LPS (リポ多糖) をはじめとするPRRsのリガンド、すなわち病原体関連分子パターン (pathogen-associated molecular patterns : PAMPs) は、アジュバントとして機能すると考えられる。一方、アラムを含めた粒子アジュバントはその強力なアジュバント活性に反して作用機序に関しては不明な点が多い。特に粒子アジュバントはLPSのような病原体由来のアジュバントとは異なり、好酸球の活性化やIgEを誘導するTh2アジュバント活性を有している。多くの粒子アジュバントがマクロファージや樹状細胞のような貪食細胞によって細胞内に取り込まれるという点からも、粒子アジュバントも何らかの形で自然免疫を活性化していることが示唆される (図1)。

③ 粒子アジュバントによる免疫活性化のメカニズム

1) 徐放効果

粒子状アジュバントの多くがタンパク質を吸着もしくは粒子内に取り込む性質をもっている。特にアラムの作用機序としてアラムに吸着した抗原が徐々に体内に放出されることにより、免疫担当細胞を長期間刺激し、結果として強い免疫応答が誘導される「徐放 (depot) 効果」が長年提唱されてきた。しかしながら最近、アラムにおいて徐放効果が重要でないとの報告

※1 DAMPs

Alarminともよばれる。死細胞やダメージを受けた細胞から遊離する分子で、PAMPs (病原体関連分子パターン) と同様に自然免疫を活性化する。代表的な物として、HMGB1、S100タンパク質、熱ショックタンパク質 (HSP) などがあげられる。

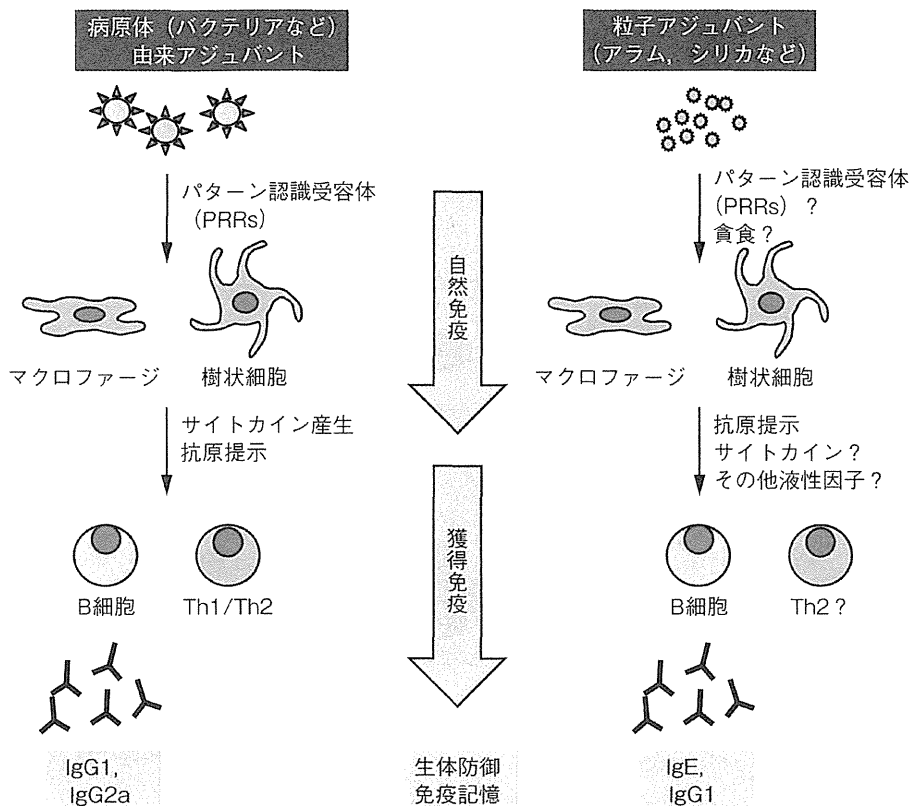


図1 免疫応答における病原体由来アジュバントと粒子アジュバントの違い
 LPSをはじめとする病原体由来アジュバントはパターン認識受容体を介して自然免疫を活性化し、抗原提示やサイトカイン産生を介して獲得免疫を誘導する。それに対して粒子アジュバントがどのようなメカニズムで自然免疫に認識され、どのような因子によって獲得免疫が活性化されるのかについては明らかにされていない

もなされており⁸⁾、アラムをはじめとする粒子アジュバントの作用機序が単純な徐放効果ではないことが示唆されている。

2) TLR-MyD88 経路の関与

前述したようにアジュバントの多くが自然免疫の活性化能を有していることから、粒子アジュバントによるアジュバント効果にも PRRs の関与が考えられる。アラムに関しては代表的な PRRs である TLR の関与について解析がなされており、MyD88 の欠損や MyD88 と TRIF の二重欠損はアラムのアジュバント効果には影響しないことが示された^{9) 10)}。また、興味深いことに、MyD88 欠損マウスでは IgE の過剰産生が認められている。これらの結果より、粒子アジュバントのうち少なくともアラムに関してはそのアジュバント活性は TLR や MyD88 に依存しないことが明らかにされている。

3) インフラマソームの関与

2008 年にアラムやシリカの貪食が細胞内に存在するインフラマソームとよばれる炎症シグナル複合体を活性化することが報告された^{11) ~ 13)}。インフラマソームは細胞内の PRR の 1 つであり、センサータンパク質の種類により NALP1 (NLRP1)、NALP3 (NLRP3)、IPAF、AIM2 インフラマソームなどが存在する (第 4 章 - 2)。そのなかで粒子アジュバントにより活性化されるのは NALP3 インフラマソームであると考えられている。NALP3 インフラマソームはセンサータンパク質の NALP3、アダプタータンパク質の ASC、システインプロテアーゼであるカスパーゼ 1 から構成されている。粒子状物質により NALP3 インフラマソームが活性化されるとカスパーゼ 1 が活性型になり、その結果、成熟型の IL-1 β や IL-18 が産生される。特に IL-1

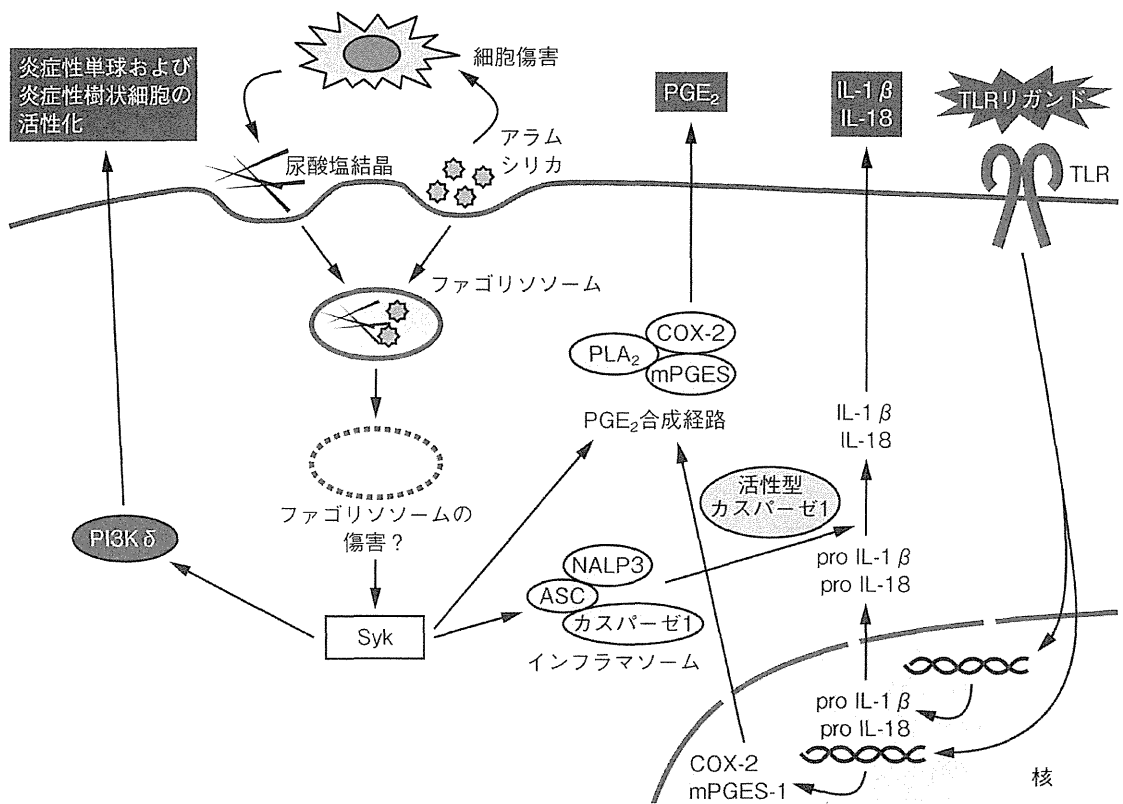


図2 粒子アジュバントにより活性化されるシグナル伝達経路

粒子アジュバントが貪食され、細胞内に取り込まれるとSykが活性化される。Sykはインフラマソームを活性化し、IL-1 β の産生を制御するとともに、プロスタグランジン合成経路も活性化する。SykはさらにPI3キナーゼ δ の活性化を介して、炎症性単球や樹状細胞の遊走に関与する(PLA₂:ホスホリパーゼA₂, COX-2:シクロオキシゲナーゼ-2, mPGES:膜結合型PGE合成酵素, PI3K:PI3キナーゼ)

β の誘導はインフラマソーム活性化の指標になっている。興味深いことに、アジュバント活性を有する多くの粒子アジュバントはインフラマソームを活性化し、IL-1 β やIL-18などの炎症性サイトカインを誘導することが報告されており、そのためアジュバント活性もインフラマソーム依存性であると考えられた(図2)。実際に、インフラマソームの構成成分であるNALP3, ASC, カスパーゼ1の欠損マウスではアラムにより誘導される抗原特異的な抗体産生が低下することが報告された¹²⁾¹³⁾。しかしながら、インフラマソームは抗原特異的なIgGの産生には関与しないという報告やインフラマソームの欠損はIgE産生のみに影響を与えるとの報告もあり¹⁴⁾¹⁵⁾、インフラマソームのアジュバント活性への関与については完全には明らかにされていない。

4) 尿酸および尿酸塩結晶の関与

尿酸は核酸の異化代謝物であり、細胞内に存在する。細胞がダメージを受けると細胞外へ放出され、局所的に尿酸が高濃度になることで尿酸塩結晶が形成されると考えられている。2003年に尿酸および尿酸塩結晶がDAMPsとして働き、樹状細胞の成熟や活性化を誘導することが報告された¹⁶⁾。興味深いことに、尿酸塩結晶はTh2アジュバント活性をもつことが示されており、アラムを腹腔内に投与することで腹腔内に尿酸が増加すること、さらに尿酸分解酵素(uricase)を投与することで、抗原特異的T細胞の活性化が抑えられることが報告された¹⁷⁾。アラムは細胞死を誘導することが知られているが、この結果はアラムによる細胞障害により遊離した尿酸および尿酸塩結晶がアジュバント効果に関与すること示している。興味深いことに尿酸塩結

晶によるアジュバント活性にはMyD88, IL-1 β シグナル, NALP3インフラマソームのいずれも関与せず, 炎症性単球および樹状細胞のSyk^{※2}およびPI3キナーゼが重要であることが報告されている(図2)¹⁸⁾。

5) 脂質メディエーターの関与

われわれはアラムを始めとする粒子アジュバントが共通してTh2アジュバント活性を有することに注目し, アラムやシリカを貪食した細胞の活性化機構について解析を行い, 粒子アジュバントが脂質メディエーターであるプロスタグランジンを誘導することを見出した⁵⁾。プロスタグランジンはアラキドン酸カスケードによって生成されるアラキドン酸代謝物の1つであり, そのなかでもプロスタグランジンE₂(PGE₂)はよく解析されているプロスタグランジンの1つである。さまざまな薬理作用を有しており, 炎症性サイトカインとともに炎症部位において認められる。免疫系に対しては活性化と抑制の両方の作用をもつ多彩な液性因子である。マクロファージや樹状細胞をアラムやシリカで刺激するとPGE₂産生が認められ, その産生はインフラマソーム非依存であった。またPGE₂産生誘導シグナルの1つとしてSykが重要な分子の1つであることを認めた。PGE₂生成経路の最終酵素であるmPGES-1欠損マウスでは, アラムやシリカをアジュバントとしたときに誘導される抗原特異的IgE産生の低下が認められた。これらの結果から粒子アジュバントによって誘導されたPGE₂がIgE産生に関与することが明らかになった(図2)。

興味深いことに, われわれはアラムやシリカ以外にも, MSU, PLG, キチン粒子, および酸化ニッケル粒子も脂質メディエーターの産生誘導を示すことを認めており, アジュバント活性を有する粒子アジュバントのスクリーニングの際の重要なバイオマーカーの1つになると考えている。

6) 核酸の関与

前述したようにアラムは細胞死を誘導するが, アラムを投与することにより貪食細胞が傷害を受け, その

結果DNAが放出されること, さらにこの宿主由来のDNAが抗原特異的なIgGやIgEの誘導に関与することが報告されている¹⁹⁾。また, アラムのかわりにDNAをアジュバントとして抗原とともに投与することで抗原特異的な抗体が誘導されることや, DNA分解酵素の処理によりアジュバント活性が消失することも明らかとなった。この結果は宿主由来の核酸がDAMPsとしてアジュバント活性の誘導に重要な因子であることを示している。また, DNAによる自然免疫活性化の重要なシグナル伝達体としてTBK1(TANK binding kinase 1)やIRF3(interferon regulatory factor 3)があげられるが, いずれの欠損マウスでも野生型マウスに比してアラムによるアジュバント効果の低下が認められており, 特にIgEの誘導が顕著に減弱していることが示された。さらに, 炎症性樹状細胞が所属リンパ節へ移動するときにはIRF3依存性に誘導されるサイトカインであるIL-12p40およびそのホモ二量体であるIL-12p80が重要であり, IL-12p40の中和抗体の投与により抗原特異的なIgEが低下することも示された。シリカをはじめとする多くの粒子アジュバントが細胞死を誘導することが知られていることから, アジュバント活性と細胞死さらに宿主の核酸の放出が密にかかわっていることが示唆される。

おわりに

これまで報告されている粒子アジュバントの作用機序を表1にまとめた。粒子アジュバントの代表格はアラムアジュバントである。アラムは安全なアジュバントとして臨床の場に用いられているが, 接種部位における肉芽腫形成やIgEの誘導などの副反応も認められている。このような副反応が改善されないのはそのメカニズムが明らかにされていないのが最大の理由である。粒子アジュバントの免疫学的メカニズムの全貌明らかにすることは, 従来のアジュバントの改良, アジュバント修飾剤の開発, さらに新規アジュバントの探索において重要な課題であると思われる。日本発の次世代ワクチンアジュバントの開発のためにもこの分野の研究が活発になることを期待したい。

※2 Syk (spleen tyrosine kinase)

非受容体型チロシンキナーゼの1つ。自然免疫の活性化においては, Dectin-1のような細胞質ドメインに免疫受容体チロシン活性化モチーフ(ITAM)をもつ受容体などによって活性化され, 下流にシグナルを伝える役割をもつ。

表1 粒子アジュバントによるアジュバント活性についてのまとめ

	メカニズム	アジュバント活性	文献
depot 効果	吸着した抗原が徐々に放出	・ depot 効果は必要ない?	8
MyD88 経路	アラムによる自然免疫系の活性化	・ MyD88 はアラムのアジュバント活性に関与しない	9, 10
NALP3 インフラマソーム	粒子アジュバントによる NALP3 インフラマソームの活性化と IL-1 β , IL-18 誘導	・ IgE の産生に関与? ・ アジュバント活性には関与しないとの報告もあり	12~15
尿酸, 尿酸塩結晶	アラムによってダメージを受けた 細胞から遊離, DAMPs として働く	・ 炎症性単球, 炎症性樹状細胞の Syk および PI3 キ ナーゼ δ の活性化により Th2 が誘導	17, 18
脂質メディエーター	アラム, シリカによってマクロ ファージや樹状細胞から誘導	・ PGE ₂ は Syk 依存性に誘導され, IgE の産生に関与	5
核酸	アラムによってダメージを受けた 細胞から遊離, DAMPs として働く	・ 炎症性単球, 炎症性樹状細胞により Th2 が誘導 ・ IRF3 や IL-12p80 は IgE の産生に関与	19

文献

- 1) Mancino, D. et al. : Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 71 : 279-281, 1983
- 2) Ng, G. et al. : Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.), 58 : 273-277, 2010
- 3) Coban, C. et al. : Cell Host Microbe, 7 : 50-61, 2010
- 4) Sharp, F. A. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106 : 870-875, 2009
- 5) Kuroda, E. et al. : Immunity, 34 : 514-526, 2011
- 6) Reese, T. A. et al. : Nature, 447 : 92-96, 2007
- 7) Hornung, V. et al. : Nat. Immunol., 9 : 847-856, 2008
- 8) Hutchison, S. et al. : FASEB J., 26 : 1272-1279, 2012
- 9) Schnare, M. et al. : Nat. Immunol., 2 : 947-950, 2001
- 10) Gavin, A. L. et al. : Science, 314 : 1936-1938, 2006
- 11) Dostert, C. et al. : Science, 320 : 674-677, 2008
- 12) Eisenbarth, S. C. et al. : Nature, 453 : 1122-1126, 2008
- 13) Li, H. et al. : J. Immunol., 181 : 17-21, 2008

- 14) Franchi, L. & Núñez, G. : Eur. J. Immunol., 38 : 2085-2089, 2008
- 15) Kool, M. et al. : J. Immunol., 181 : 3755-3759, 2008
- 16) Shi, Y. et al. : Nature, 425 : 516-521, 2003
- 17) Kool, M. et al. : J. Exp. Med., 205 : 869-882, 2008
- 18) Kool, M. et al. : Immunity, 34 : 527-540, 2011
- 19) Marichal, T. et al. : Nat. Med., 17 : 996-1002, 2011

<著者プロフィール>

黒田悦史 : 2001年産業医科大学大学院医学研究科修了, 同年産業医科大学医学部免疫学教室助手, '07年カナダブリティッシュコロンビアがん研究所研究員, '09年産業医科大学医学部免疫学寄生虫学(旧免疫学教室)講師, '12年より大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学研究室特任准教授, 研究テーマ: 自然免疫を介した免疫制御機構の解析, 現在は主にアジュバント, 特に粒子アジュバントによる自然免疫の活性化機構の解析.

トッランナーに聞く

26

最先端の医療に挑む若手研究者への直撃インタビュー

核酸による自然免疫および獲得免疫の 制御機構の研究と核酸アジュバントの ワクチンへの応用研究

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 特任教授

—最先端の医療に挑む若手研究者への直撃インタビュー「トッランナーに聞く」の今月のゲストは、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の石井 健先生です。石井先生は核酸アジュバントのワクチンへの応用研究を活発に行い、実用化に向けた基礎から臨床への橋渡し研究をされています。先生のご略歴を拝見すると、もともとは麻酔科をご専門とされていますが、どのような経緯で免疫やワクチンに関する研究を始められたのですか。

石井 研修医時代は全身管理や救命救急といった ICU で臨床をしていたのですが、研究をしたかったので大学院に入りました。横浜市立大学では、2年間ですが、学内、国内外を問わず留学して研修できるシステムがあったので、それを利用してポストクのような形で海外のラボに留学しました。留学先は FDA でしたが、生物製剤センターは研究者を置いているユニークなラボであり、そこで大学院生としてトレーニングを受けました。そもそも免疫に興味を持っ

たのは ICU にいた頃、循環器や呼吸器疾患で ICU に来て、感染症で多くの患者さんが亡くなっており、いくら全身管理をしても防ぐことができなかったので、免疫をもっと知らなければいけないと思ったのがきっかけです。留学に際しても、免疫に興味があったので免疫の研究をしているラボを希望したところ、そのボスからワクチンのプロジェクトをやりなさいと言われました。そんなわけでワクチンを題材にして免疫の研究をすることになりました。

—FDA には大分長くおられましたか、そのときから DNA ワクチンの研究を始めたのですか。

石井 留学先で FDA の正式な職員にプロモートするという話があったので、留学の途中でも構わないかどうか、恩師である横浜市立大学医学部麻酔科の奥村教授（当時）と工藤助教授（当時）に相談したところ、プロモートしてくれるのならそこにいなさいと助言を頂き、長期にわたり留学しました。実際米国でワクチンの研究をしていた頃は、まさに自然免疫研究の始

1968年 東京生まれ。1993年 横浜市立大学医学部卒業、1993年 横浜市立大学医学部附属病院研修医、1995年 横浜市立市民病院麻酔科常勤医を経て、1996年より米国保健省食品医薬品局（FDA）生物学的製剤評価研究センター（CBER）ワクチン部門 客員研究員および臨床試験審査官となる。2003年 JST/ERATO 審良自然免疫プロジェクトグループリーダー、2006年 大阪大学微生物病研究所 分子原虫学分野 准教授、2010年（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、2010年より大阪大学免疫学フロンティア研究センター ワクチン学 主任研究者（招へい教授）。



石井 先生

核酸 (DNA, RNA) の免疫学的生理活性, 核酸による自然免疫および獲得免疫の制御機構の研究, および核酸を利用したワクチン, アジュバント, 代替免疫療法開発を行っています。1996年より7年間, 米国保健省食品医薬品局 (FDA) の生物製剤ワクチン部門にて審査官としてかかりました。2003年 大阪大学微生物病研究所, 2010年4月より (独) 医薬基盤研究所のアジュバント開発プロジェクトリーダーとして上記研究を行っております。

まりの時でしたが, そのとき DNA が免疫活性を持つという仕事をしました。その DNA 受容体をセンセーショナルに発表したのが大阪大学の審良静男先生でした。その後審良先生と学会でお会いし, 先生が行っていた JST ERATO という大きなプロジェクトに呼んでいただいたのが縁で, 一緒に自然免疫の仕事をするようになりました。

—自然免疫と獲得免疫について教えていただけますか。

石井 分かりやすい言葉で言うと, ワクチンが獲得免疫を作り出す薬と言えます。ワクチンが効くようにするには, 自然免疫をしっかり活性化しなければいけません。至極単純ですが, これが自然免疫と獲得免疫の関係です (図1)。ワクチンは, 自然免疫のスイッチを押さないと効果は上がりません。その自然免疫のスイッチを自然免疫受容体と言っており, その1つが

Toll-like receptor (TLR) であり, それ以外にもたくさん見つかっています。

—DNA が免疫活性を持つという点について教えてくださいいただけますか。

石井 DNA は核かミトコンドリアに存在し遺伝情報を伝えるものですので, それ以外の機能があるとは思われていませんでしたが, DNA の構造や配列によってはエンドトキシンと同じくらい免疫活性があります。それが自然免疫の研究が盛んになった引き金でもあります。一番分かりやすいのは, 感染症で病原体の DNA が体に入ってくるとそれを感知して免疫を活性化させるシステムです。ただそれが行きすぎると自分の DNA でも反応するようになり, いわゆる自己免疫疾患になります。DNA は遺伝情報の暗号のようなものと思われていましたが, 免疫反応などいろいろなところに DNA が関与していることも分かってきたので, DNA の概念が変わったと思います。

—免疫活性を上げるような DNA の塩基配列があるのですか。

石井 あります。米国で研究していたときに, ヒトの免疫活性を上げる DNA 配列を決めました。特許も取り, 創薬のネタになるかどうか考え, やってみたのがアジュバントで, DNA が良いアジュバントになることを見いだしました。免疫やアジュバントの研究をしている人にとっては驚きでした。

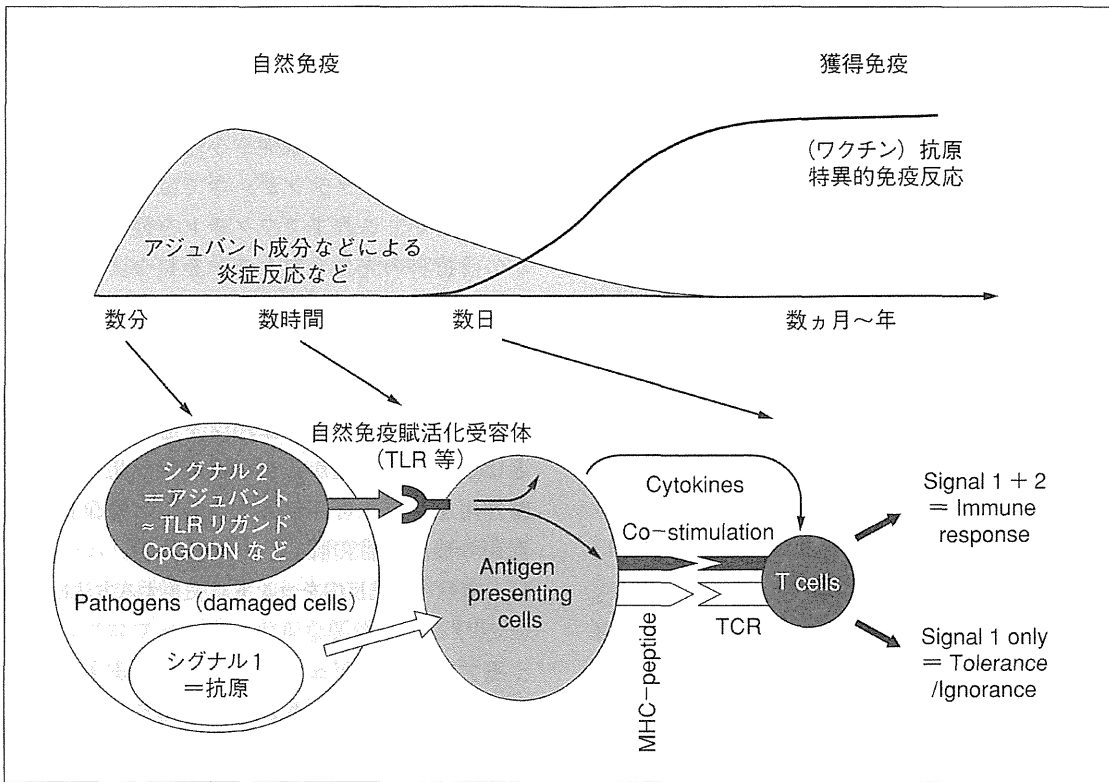
—アジュバントと言えば, 完全フロイントアジュバントというのが思い浮かぶのですが。

石井 おっしゃるとおりです。完全フロイントアジュバントは試薬としても数十年使われてきましたが, その古いアジュバントの概念が, 現在は全く新しいサイエンスになっており, 特にワクチンに関しては基礎研究から創薬研究まで盛んに行われています。

—核酸アジュバントについて, ご説明いただけますか。

石井 1本鎖 DNA の断片で 20 塩基ほどのプライマーと同じような構造で, C, G を含む特殊な配列のものをアジュバントとして開発し

図1 自然免疫が変えたワクチンおよびアジュバントの概念



ました。DNA という生体成分ですので、アルミニウムなどと異なり扱いやすいです。最も重要なのは、DNA には基礎研究の積み重ねがあるので、核酸アジュバントの効果についても研究が進めやすいという利点があります。

—DNA や核酸の研究をしている人であれば、同じように扱えるわけですね。

石井 そうですね。オリゴ核酸と言われる小さい核酸の部類に入るので核酸医薬と言っても良いかもしれません。核酸医薬は抗体医薬の次に来るものと言われており、免疫の核酸医薬として、いま研究が進んでいる分野です。

—核酸ワクチンアジュバントは従来からあるワクチンに比べてどのような利点があるのでしょうか。

石井 一番の利点と言うか臨床開発するうえで有利なのは、メカニズムがはっきりしている点です。これまでのアジュバントは、なぜ効くかといったメカニズムが分かりませんでした。それに比べ核酸は、受容体とシグナルの関係とい

う、生体で何が起こるかということがこれまでの基礎研究の結果からよく分かっています。核酸だから扱いやすいという以上のものがあると思います。もちろん効果が強すぎて副作用が出るようであれば利点にはなりません。これまでのアジュバントがアルミニウムゲルや完全フロイントアジュバントのように何をやっているのか分からないようなものでしたから、そういう点から比較しても非常にシンプルで扱いやすいアジュバントであり、薬事法も含め臨床開発上でも非常に有利です。これまで経験則に基づいて作られてきたワクチンを、少し上のレベルに上げられると思っています。

—臨床応用についてはどのような状況ですか。

石井 現在、大阪大学微生物病研究所の堀井俊宏先生と一緒にマラリアワクチンのアジュバントとして臨床開発を進めています。実際には阪大微生物病研究会と株式会社ジーンデザインと一緒に、阪大病院で未来医療開発部とアレル

ギー内科の先生方が中心になり、医師主導型の治験を2012年度中に開始しようと思っています。まだ薬にはなっていませんが、少なくとも日本初の免疫核酸医薬になります。なお、マラリアですので将来の治験は東南アジアやアフリカで行うことになります。

—マラリアには耐性の問題がありますが、その辺はどのようにお考えですか。

石井 ワクチンはマラリア原虫の生活環に基づいて、赤血球期に発現しているタンパク質をターゲットにしています。今までワクチンのなかった領域ですので、いろいろなワクチンができると思います。今は日本の蚊帳がマラリア対策で役に立っているようですが、いずれこのワクチンが蚊帳に取って代わるものと期待しています。

—ワクチンと言えば感染症の予防、治療というイメージですが、免疫反応がかかわるような自己免疫疾患などにも使えるのでしょうか。

石井 自己免疫疾患に対してという縛りはないと思います。私のやっているのはアジュバント研究なので、体からなくしたいと思う疾患のターゲット分子の原因物質あるいは病態悪化物質が分かれば、それに対するワクチン療法は可能と考えます。つまり抗原とアジュバントを入れればワクチン療法で体からそういった物質を除去、もしくは機能を阻害できます。感染症という籠が外れて、ありとあらゆる疾患に対してワクチン療法が使用可能な時代に突入しました。実際、がんワクチンはすでに実用化に近いとされていますし、それ以外にもアルツハイマー病、高血圧、アレルギー、ニコチン中毒、避妊、肥満に対するワクチンの臨床開発が進んでおり、抗体医薬のようになってきました。今後も単純に進むとは思いませんが、抗体医薬で治るような病気はワクチンで抗体を作らせることで治る時代が来るかもしれません。いずれの疾患でも治療コンセプトは同じなので、一番の鍵となる分子はアジュバントです。つまりターゲット物質は疾患で変わりますが、アジュバントは横糸で一緒です。核酸アジュバントはモノがはっき

りしていて、誘導できる免疫もほかのアジュバントと違うのでいろいろ使えます。現在マラリアワクチンの治験を進めているところですが、がんワクチンやほかのワクチンでも共同研究が始まっています。感染症や小児科の先生しか興味のないワクチンが、今では子宮頸がんワクチンとか、これまでワクチンを使ったことのない診療科の先生もワクチンを打つようになっています。このように広がりある分野なので、製薬企業も含めて盛り上がっていますが、副作用としての自己免疫が起こることも考えられます。強いワクチンアジュバントを入れれば入れるほど、自己免疫から自己炎症性疾患といった副作用を起こす可能性もあるので、安全性の研究が今後の一番の課題になりますね。

—過剰な免疫反応をコントロールする方法はないのですか。

石井 核酸アジュバントでもエンドトキシンでも、体に大量に入れば副作用を起こしますが、ワクチン効果を出す細胞だけにきちんと輸送する、アジュバントとドラッグデリバリーシステムを組み合わせることによって、特異性を上げ副作用を下げる方法が考えられます。樹状細胞だけをねらうといったことも進められ、技術的に競争の盛んな分野です。経験則のワクチン開発から、分子生物学や免疫学といった最先端の技術でワクチンを作れる時代になりました。

—2011年のノーベル生理学・医学賞は自然免疫に関する研究でした。審良先生が取れなかったのは残念ですが、自然免疫はいま非常に注目されている分野ですね。

石井 我々にとっては一番大事なノーベル賞であり、それが世に役立つとすればワクチンやアジュバントになります。その研究成果を還元していくのが我々の役目と思っています。そういった創業をするために、阪大からここに移ってきました。まさに基礎研究と医学の結び付くトランスレーショナルリサーチをしています。

—研究を進めるうえで一番大切にしていることはどのようなことでしょうか。

石井 実験をするうえで以外に面白いと思っ

たキーワードはコントロールです。私は PhD のトレーニングを米国で受けたので、米国式の研究手法を学んだつもりですが、そのときにボスにしつこく言われたのが、コントロールをきちんと取れということでした。コントロールを取って、取って、取りまくると、本当に見たいところは実験の1割くらいになりますが、それで物の本質が見えてきます。したがって、コントロールをきちんと取ることが研究を進めていくうえで一番大事にしていることです。もう1つは、独りよがりにならないことです。米国でも研究室にいる人たちとよくディスカッションしました。ディスカッションして人に批判してもらうことが自分のためになります。もう1点はチームワークです。今の研究は一人ではできません。でも仲良しグループではだめです。研究ではプロフェッショナルな関係が大事であり、けんかするくらいディスカッションして、あとはきれいさっぱりといった関係が必要だと思います。

—これまで研究を進めていくうえで大変だったことや面白かったことはどんなことでしょうか。

石井 大変だったことと面白かったことはいつもペアでした。実験結果が予想と逆のときはボスの意向に反することになるわけですが、私の研究で面白かったのはすべてそういう案件でした。ボスに「そんなつまらない逆のことなんかやめろ」と言われたことが現在のライフワークになっています。ボスの意向と反対のデータが出たときは大変でしたが、いま考えるとそれが一番面白かったことでした。

—最近、臨床研究の必要性が言われていますが、先生のお考えは。

石井 クリニカルサンプルを使った臨床研究は必須です。免疫学は米国も日本も今はヒト免疫学一色です。裏返せば、マウス免疫学は免疫とは何かということにすごく貢献しましたが、免疫にかかわる病気の診断や治療には、マウスで得られた知識はあまり役に立ちません。マウスとヒトでは免疫システムが全く違うというこ

とを考えた場合、ヒトのサンプルで研究しないと全く役に立たないということを、免疫学から学びました。

—話は変わりますが、趣味や休日はどのようにお過ごしですか。

石井 休日は家族サービスです。キャンプのようなアウトドアアクティビティーも好きです。趣味は読書で、いろいろな分野の本を雑多に読んでいます。

—今後、どのようなことにチャレンジしたいですか。

石井 他人のやらない、流行らないけれども、個人的に重要だと思うことを見つけて、それに専念し、チャレンジしたいと思っています。流行っている研究をしないと研究費が取れませんが、私が運が良かったのは、ワクチンの研究を始めた頃はつまらない研究だったのが、今は流行のど真ん中で研究費も頂いています。今後も人のやらない、流行らないことでも、重要なところにチャレンジしたいと思っています。

—最後に若い人たちに伝えたいことをお願いします。

石井 最近、意外なキャリアが将来役に立つということを感じています。私の場合は、麻酔科の医師なのにワクチンの研究をしなけりなならなかったのが本当は嫌でした。また、留学先もハーバードやケンブリッジなどに行って箔を付けて帰らなかったのですが、FDA で医薬品の審査でした。でも今となってはその2つが私をオンリーワンのキャリアにしてくれています。初めは嫌と思っていることでも、いつか役に立つことがあります。私の知っている後輩も含めて臨床の先生は忙しくてつらいと思います。研究費で苦勞され、臨床研究など日々の業務にも追われています。でも一生懸命やっていたら、いつかどこかで花が咲くと思います。人間万事塞翁が馬ということですね。

—本日はありがとうございました。

(とき：平成24年11月7日 ところ：医薬基盤研究所)

特集 最新の免疫学 ～自然免疫・獲得免疫～

7. ワクチン (アジュバント) デザインの新展開

大西元康*¹⁾・石井 健*²⁾

感染症ワクチン、がんワクチンの分野において、アジュバントの有用性が注目され、さまざまな角度からアジュバント研究が行われるようになった。さらに自然免疫の解明に伴い、アジュバントの作用機序を分子レベルで理解できるようになり、得られた知見をベースにプロトタイプのアジュバントが改良され、効果および安全性がより一層高いアジュバントの創製が展開されてきた。本稿では獲得免疫におけるアジュバントの役割を概説するとともに、近年明らかにされつつあるアジュバントのメカニズムや合成アジュバント開発の取り組みについて、自然免疫の受容体、細胞内および細胞外のシグナル伝達の観点から述べる。

1. アジュバント開発における最近の動向

2009年の新型インフルエンザ (A [H1N1] pdm09 ウイルス) のパンデミック問題から, Arepanrix¹⁾ (アジュバント: AS03) および Celtura²⁾ (アジュバント: MF59) といった, アジュバント含有のインフルエンザワクチンが特例承認された。(表1)。また, 同年にヒトパピローマウイルス (HPV) による子宮頸がん予防のワクチンとして, Cervarix³⁾ (アジュバント: AS04) が国内で販売された。一方, がんワクチンの分野では, アジュバントを含有するさまざまなワクチンが国内外で開発され, アジュバントの有効性が重要視されるようになってきた。(表2)。このように, 新しいアジュバントを含んだワクチンが次々と導入, 開発され, その効果や安全性について注目が高まってきている。

2. 獲得免疫におけるアジュバントの役割

アジュバントとは, ワクチン抗原とともに投与して抗原に対する免疫原性を増強させることを目的に使用される製剤の呼称であり, 接種回数の軽減や抗体産生の誘導, さらには細胞傷害性 T 細胞の誘導など, さまざまな効果を発揮するものである。一方, 自然免疫とは病原体などの外来異物に対して早期に作用する免疫応答反応のことであり, これまでの研究から病原体由来の核酸や細胞外成分などが Toll-like receptors (TLRs), Retinoic acid-inducible gene (RIG)-like receptors (RLRs), Nucleotide-binding oligomerization domain protein (NOD)-like receptors (NLRs) および C-type lectin receptors (CLRs) などの自然免疫受容体により特異的に認識され, アゴニスト作用として細胞内の複雑なシグナル伝達を活性

*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

¹⁾ (おおにし・もとやす)

²⁾ プロジェクトリーダー (いしい・けん) [大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学・特任教授]

— 特集・最新の免疫学 ～自然免疫・獲得免疫～ —

表1 近年国内に導入された感染症ワクチンに含まれるアジュバント

各アジュバントの主成分と、それを含有するワクチンを示している。

アジュバント	主成分	ワクチン (販売元)
AS03	スクワレン+ DL- α トコフェロール+ポリソルベート 80	Arepanrix (GSK)
AS04	アルミニウム塩+ Monophosphoryl lipid A (MPL)	Cervarix (GSK)
MF59	スクワレン+ポリソルベート 80, トリオレイン酸ソルビタン, クエン酸ナトリウム二水和物, クエン酸一水和物	Celtura (Novartis)

(筆者ら作成)

表2 開発中のがんワクチンに含まれるアジュバント

各企業がどのようなアジュバントを用いてがんワクチンを開発しているのかを示している。

開発企業	開発品	アジュバント	適応	臨床 ステージ
Apthera GSK	NeuVax	GM-CSF	乳がん	III
	MAGE-A3	AS15 (QS-21, MPL, CpG)	皮膚がん	III
Immatics Biotechnologies	IMA901	GM-CSF, Imiquimod	腎細胞がん	III
Oncothyreon	Stimuvax	MPL	非小細胞がん	III
Pharmexa	GV1001	GM-CSF, Imiquimod	膵臓がん	III
Cytos Biotechnology	CYT004-MelQbG10	QbG10	皮膚がん	II
塩野義製薬	S-288310, S-488410	Montanide	膀胱がん, 食道がん	II

(Nature biotechnology 27: 129-139, 2009 より一部改変)

化させることが明らかとなった⁴⁾⁵⁾。そして、シグナル伝達が活性化された結果、樹状細胞を主とした抗原提示細胞が活性化され、Major histocompatibility complex (MHC) 上に抗原由来のペプチドを提示し、それを T 細胞が T cell receptor (TCR) を介してシグナルを認識することで、T 細胞が活性化される。T 細胞の活性化には MHC-ペプチドによるシグナル1と、CD86/CD28 によるシグナル2の両方が必要であると考えられている。また、これらのような抗原提示細胞の補助刺激因子群だけでなく、周囲の細胞や抗原提示細胞自身から産生されるサイトカインも重要であり、強度や種類が T 細胞応答の方向性 (Th1, Th2, Th17 および細胞傷害性 T 細胞の誘導など) や、獲得免

疫に影響を及ぼすと考えられている^{6)~8)}。このように、ワクチンの抗原に由来するシグナル1、アジュバントに由来するシグナル2および抗原提示細胞から産生されるサイトカインが獲得免疫に重要であると言える。(図1)。

3. Alum のメカニズム

アジュバントは臨床で長年使用されているにも関わらず、メカニズムが十分に解明されていないものが多い。その中の一つが1920年代から世界中で広く使用され続けている Aluminum-based adjuvant (Alum) である。Alum はアルミニウムに吸着された抗原が徐々に体内に放出されること(徐放作用)でアジュバント効果を示していると長

TLRs : Toll-like receptors, RIG : Retinoic acid-inducible gene

RLRs : Retinoic acid-inducible gene (RIG)-like receptors

NOD : Nucleotide-binding oligomerization domain protein

NLRs : Nucleotide-binding oligomerization domain protein (NOD)-like receptors

CLRs : C-type lectin receptors, MHC : Major histocompatibility complex, TCR : T cell receptor

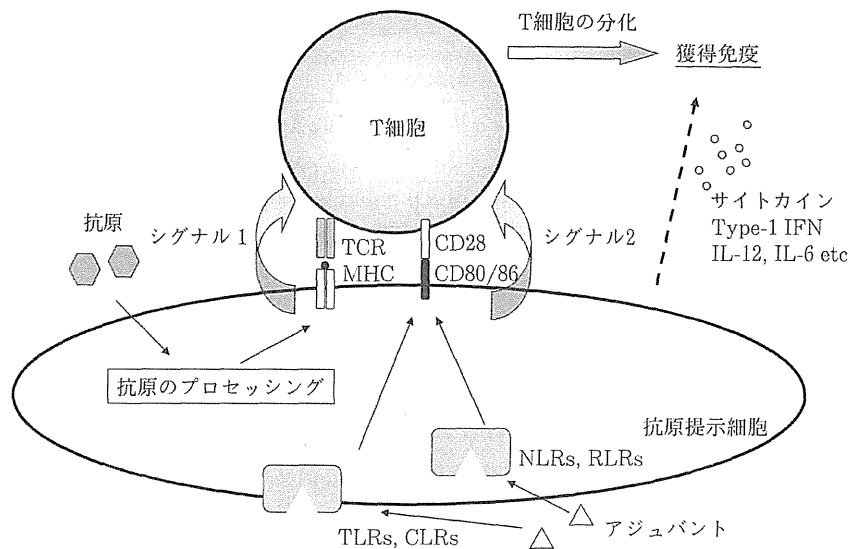


図1 ワクチン・アジュバントによる獲得免疫誘導

抗原由来のシグナル1, アジュバント由来のシグナル2, そしてアジュバントの刺激により抗原提示細胞から分泌されるサイトカインがT細胞の分化や獲得免疫に影響を与える。

TCR : T cell receptor, MHC : Major histocompatibility complex

IFN : Interferon, IL : Interleukin, TLRs : Toll-like receptors

CLRs : C-type lectin receptors

NLRs : NOD (Nucleotide-binding oligomerization domain protein)-like receptors

RLRs : RIG (Retinoic acid-inducible gene)-like receptors

(筆者ら作成)

年考えられていた。しかし、近年の研究から、Alumは①可溶性抗原と数 μm の結晶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、抗原取り込み率が上昇することや⁹⁾②抗原提示細胞において自然免疫受容体であるNACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3 (NALP3)を介してインフラマゾームと呼ばれる炎症反応を活性化させることが分かってきた¹⁰⁾。またAlumはTh2応答を強く誘導し、Immunoglobulin E (IgE)産生も誘導することが知られている。Th2応答の誘導メカニズムに関しては、①Alum作用後に非受容体型チロシンキナーゼであるSykを介してプロスタグランジンE2などが誘導され、結果としてTh2の誘導が起こることや¹¹⁾、

②Alum接種による組織障害により宿主由来のDeoxyribonucleic acid (DNA)が放出されTANK-Binding Kinase 1 (TBK1), Interferon regulatory factor 3 (IRF3)を介してIgE産生が誘導されることなどが分かっている¹²⁾。このように、アジュバント作用に関してさまざまなメカニズムが明らかになりつつある。そのため、解析から得られた知見を基盤に効果と安全性がより一層高い次世代のアジュバントが創製されることを期待したい。

4. 合成アジュバントの開発

近年、病原体由来のさまざまな天然物が自然免疫の受容体のアジュバントであることが分かり、

■特集・最新の免疫学～自然免疫・獲得免疫～

表3 自然免疫受容体とアジュバント

天然物および合成アジュバントが、どの受容体に作用するのかを示している。

受容体	細胞内局在	天然物アジュバント	合成アジュバント	
TLRs	TLR1/2	細胞膜	細菌の細胞膜トリアシル化リポペプチド	Pam3CSK4
	TLR2/6	細胞膜	ジアシルリポペプチド	Macrophage-activating lipopeptide 2
	TLR3	エンドソーム	二本鎖 RNA	PolyI : C, PolyI : C ₁₂ U, PolyICLC
	TLR4	細胞膜	グラム陰性菌のリポ多糖体 (LPS)	Monophosphoryl lipid A (MPL)
	TLR5	細胞膜	細菌の鞭毛成分 (フラジェリン)	フラジェリン-抗原複合体 (VAX128)
	TLR7/8	エンドソーム	一本鎖 RNA	Imiquimod, Resiquimod, 3M-052
	TLR9	エンドソーム	非メチル化 CpG DNA	CpG-ODNs (CpG7909, K3, D35)
	TLR11	細胞膜	プロフィリン様蛋白質	不明
RLRs	RIG-I	細胞質	5'triphosphate 平滑末端の一本鎖または二本鎖 RNA	不明
	MDA-5	細胞質	二本鎖 RNA	Poly I : C
	DDX41	細胞質	不明	AT-rich B DNA
	LRRFIP1	細胞質	不明	dsDNA, dsRNA, AT-rich B DNA, GC-rich Z-DNA
NLRs	NOD1	細胞質	ペプチドグリカン, γ -D-グルタミルジアミノピメリン酸	FK156, FK565
	NOD2	細胞質	ペプチドグリカン, グルコサミニルムラミルジペプチド	ムラムルジペプチド
	NLRP3	細胞質	細胞ストレス	アルミニウム塩, 尿酸, シリカ
	NAIP5	細胞質	細菌の鞭毛成分 (フラジェリン)	不明
CLRs	Dectin-1	細胞膜	β -1,3 グルカン	Curdlan, Lentinan, Schizophyllan
	Dectin-2	細胞膜	High mannose carbohydrates, α -mannose	Man9GlcNAc2
	DC-SIGN	細胞膜	High mannose carbohydrates	不明
	Mincle	細胞膜	α -mannose, Trehalose-6,6-dimycolate (TDM)	Trehalose-6,6-dibehenate (TDB)

TLRs : Toll-like receptors, RLRs : RIG (Retinoic acid-inducible gene)-like receptors

NLRs : NOD (Nucleotide-binding oligomerization domain protein)-like receptors

CLRs : C-type lectin receptors

(筆者ら作成)

それらがアジュバントとしてワクチン抗原の有効性を高めることが明らかとなってきた。(表3)。また、天然物アジュバントの効果増強や副作用軽減を目的に、天然物アジュバントをベースに化学修飾などを行い、ワクチンのアジュバントとして開発が進められている。(表4)。開発の実施例を

述べると、TLR3の合成アジュバントとしては PolyI:C₁₂U¹³⁾、Poly-ICLC¹⁴⁾があげられる。これらは、原型の二本鎖 Ribonucleic acid (RNA) である PolyI:C の体内での安定性の低さやショックや腎不全などの副作用の問題を、RNAの構造を変化させることで改善したものである。これらは、

表4 合成アジュバントを含んだワクチン

合成アジュバントがどのようなワクチンに含まれているのかを示している。

受容体	アジュバント	ワクチンの組成	対象疾患
TLR3	PolyI : D ₁₂ U	HER2 + PolyI : D ₁₂ U FLUMIST + PolyI : D ₁₂ U	乳がん インフルエンザウイルス 卵巣がん
	Poly-ICLC	Overlapping long peptides (OLP) + Montanide-ISA-51 + Poly-ICLC	
TLR4	MPL	Cervarix (L1 protein + VLP + AS04 (Alum + MPL)) RTS,S + AS01 (MPL + QS-21) Glycoprotein D + Alum + MPL Her2 protein + AS15 (CpG + QS21 + MPL)	子宮頸がん マラリア 性器ヘルペス 乳がん
TLR5	フラジェリン	VAX128 (フラジェリン-ヘマグルチニン複合体)	インフルエンザウイルス
TLR7/8	3M-052	ヘマグルチニン+ 3M-052	インフルエンザウイルス
TLR9	CpG7909	ウイルス表面抗原+ CpG7909 AMA1 + CpG7909 MelanA MART1 + CpG7909	B型肝炎 マラリア 悪性黒色腫 悪性腫瘍肉腫, 神経膠芽腫
	CpG1018	Htert peptide + GM-CSF + CpG1018	

TLR : Toll-like receptor, MPL : Monophosphoryl lipid A

(筆者ら作成)

がんワクチンや感染症ワクチンのアジュバントとして開発が進められている。

TLR4の合成アジュバントとしては、前述の子宮頸がん予防ワクチンCervarixに組み込まれているMonophosphoryl lipid A (MPL)があげられる¹⁵⁾。これはサルモネラ菌型のLipopolysaccharide (LPS)を原型として化学構造を変換したものであり、炎症誘発などの副作用が軽減されており、性器ヘルペスワクチン、マラリアワクチン、およびがんワクチンに組み込まれ、開発が行われている。

TLR5の合成アジュバントとしては、抗原-アジュバントの結合型ワクチンであるVAX128があげられる¹⁶⁾。これは、細菌の運動性に重要な鞭毛蛋白質であるフラジェリンをベースに、フラジェリンのTLR5結合部位以外の箇所をインフルエンザウイルスの表層蛋白質であるヘマグルチニンの頭部(Globular head domain)に置き換えたものである。抗原とアジュバントの結合体を一度に精製することで、製造コストが抑えられるというメリットがある。現在、インフルエンザワク

チンとしての開発が進められている。

TLR7/8の合成アジュバントについては、低分子アジュバントのImiquimodやResiquimodが知られているが、全身性の炎症性サイトカインの誘導が毒性として懸念されていた。近年、その毒性を改善した3M-052が創製された¹⁷⁾。3M-052はResiquimodの側鎖のlipid tailがリポソームの二重膜層に組み込まれ、さらにoil/water型のエマルジョンに取り込まれているように設計されている。このような設計によって、生体内投与後に徐放作用を示し、全身性の炎症性サイトカインの誘導が抑制されるようになった。現在、3M-052はインフルエンザワクチンのアジュバントとして研究が進められている。

TLR9の合成アジュバントとして核酸のCpG-Oligodeoxynucleotide (CpG-ODN)があげられる。CpG-ODNは人工的に合成された20塩基前後の非メチル化DNAであり、シトシンとグアニンがホスホジエステル結合しているモチーフ(5'-CG-3')を含む。CpG-ODNは配列、骨格および免疫系に対する作用の違いによってクラス分けさ

—■特集・最新の免疫学～自然免疫・獲得免疫～—

れる。現在, CpG7909¹⁸⁾や CpG1018¹⁹⁾などが感染症ワクチンおよびがんワクチンのアジュバントとして開発が進められている。さらに, CpGの Th1/Th2 バランスの改善作用からアレルギー疾患への適応, 粘膜免疫応答の増強作用から粘膜アジュバントとしての開発も検討されている。また, 研究段階においては, CpGの活性をデリバリーシステムにより増強させる取り組みが実施されており, スエヒロタケ由来の β -1,3 グルカンの一種で, CLRに分類される Dectin-1 受容体に作用する Schizophyllan (SPG) と CpG (K3) の複合体 SPG-CpG が合成され, インフルエンザワクチンの効果を増強することが明らかにされている²⁰⁾。

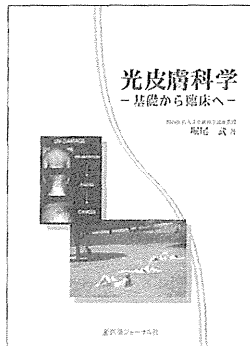
5. おわりに

本稿では獲得免疫におけるアジュバントの役割について概説し, アジュバントのメカニズム研究や合成アジュバントの開発について紹介した。紹介した以外にもさまざまな研究が行われているが, 実際にワクチンのアジュバントとして国民に届けるためには, 臨床開発や承認審査など多くのハードルを越えなければならない上, 莫大な開発費を要する。わが国は海外の先進国と比較してもワクチン開発が遅れていることが指摘され, 研究開発の支援や審査の迅速化が求められている。そのため, 産学官が密に連携を図ることで, ハードルを乗り越え, 次世代のワクチン・アジュバントが創出されることを期待したい。

文 献

- 1) Roman F, et al : Immunogenicity and safety in adults of one dose of influenza A H1N1v 2009 vaccine formulated with and without AS03A-adjuvant : preliminary report of an observer-blind, randomised trial. *Vaccine* **28** (7) : 1740-1745, 2010.
- 2) Schultze V, et al : Safety of MF59 adjuvant. *Vaccine* **26** (26) : 3209-3222, 2008.
- 3) Didierlaurent AM, et al : AS04, an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. *J Immunol* **183** (10) : 6186-6197, 2009.
- 4) Akira S, et al : Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* **124** (4) : 783-801, 2006.
- 5) Kawai T, Akira S : The role of pattern-recognition receptors in innate immunity : update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* **11** (5) : 373-384, 2010.
- 6) Joffre O, et al : Inflammatory signals in dendritic cell activation and the induction of adaptive immunity. *Immunol Rev* **227** (1) : 234-247, 2009.
- 7) Spörri R, Sousa C : Inflammatory mediators are insufficient for full dendritic cell activation and promote expansion of CD4 + T cell populations lacking helper function. *Nat Immunol* **6** (2) : 163-170, 2005.
- 8) Kratky W, et al : Direct activation of antigen-presenting cells is required for CD8 + T-cell priming and tumor vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108** (42) : 17414-17419, 2011.
- 9) Lindblad EB : Aluminium compounds for use in vaccines. *Immunol Cell Biol* **82** (5) : 497-505, 2004.
- 10) Shimada K, et al : Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis. *Immunity* **36** (3) : 401-414, 2012.
- 11) Kuroda E, et al : Silica crystals and aluminum salts regulate the production of prostaglandin in macrophages via NALP3 inflammasome-independent mechanisms. *Immunity* **34** (4) : 514-526, 2011.
- 12) Marichal T, et al : DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. *Nature Medicine* **17** (8) : 996-1002, 2011.
- 13) Brodsky I, et al : Clinical studies with amplitgen (mismatched double-stranded RNA). *J Biol Response Mod* **4** (6) : 669-675, 1985.
- 14) Levine A, et al : Phase I - II trials of poly IC stabilized with poly-L-lysine. *Cancer Treat Rep* **62** (11) : 1907-1912, 1978.
- 15) Gustafson G, et al : Bacterial cell wall products as adjuvants : early interferon gamma as a marker for adjuvants that enhance protective immunity. *Res Immunol* **143** (5) : 483-488,

- 1992.
- 16) Taylor DN, et al : Development of VAX128, a recombinant hemagglutinin (HA) influenza-flagellin fusion vaccine with improved safety and immune response. *Vaccine* **30** (39) : 5761-5769, 2012.
- 17) Smirnov D, et al : Vaccine adjuvant activity of 3M-052 : an imidazoquinoline designed for local activity without systemic cytokine induction. *Vaccine* **29** (33) : 5434-5442, 2011.
- 18) Paul S, et al : Technology evaluation : CpG-7909, Coley. *Curr Opin Mol Ther* **5** (5) : 553-559, 2003.
- 19) Haining W, et al : CpG oligodeoxynucleotides alter lymphocyte and dendritic cell trafficking in humans. *Clin Cancer Res* **14** (17) : 5626-5634, 2008.
- 20) Koyama S, et al : Plasmacytoid dendritic cells delineate immunogenicity of influenza vaccine subtypes. *Sci Transl Med* **2** (25) : 25ra24, 2010.



光皮膚科学

—基礎から臨床へ—

関西医科大学皮膚科学講座教授 堀尾 武 著

B 5 判・上製本 320頁 定価 16,800円 (本体 16,000円+税 5%) 送料実費
ISBN4-7532-2228-4 C3047

◎近年、急速な進展のみられる「光皮膚科学」研究。その第一人者の、30余年にわたる研究成果を結集！

おもな内容

- I. 光物理学、光化学、光生物学の基礎
- II. 太陽光線
- III. 皮膚の光学
- IV. 日光による皮膚の生理的反応
sunburn / suntan / 紫外線による皮膚の肥厚 / スキン (フォト) タイプ / ビタミンDの生合成 / 光老化 / 紫外線発癌 / 皮膚以外への日光の影響 / 日焼けサロンの皮膚傷害
- V. 紫外線の免疫抑制作用 — 光免疫学
免疫臓器としての皮膚 / 紫外線による遅延型過敏反応の抑制 / 免疫抑制の作用波長 / 紫外線の免疫抑制機序 / トレランスの誘導機序 / 紫外線免疫抑制の chromophore / 紫外線免疫抑制と感染症 / 光免疫学の臨床的意義
- VI. 光線過敏症
 1. 内因性光線過敏症
色素性乾皮症 / Cockayne 症候群 / 硫黄欠乏性毛髪發育異常症 / ボルフィリン症 / ペラグラ / 種痘様水痘症 / Smith-Lemli-Opitz 症候群 / 日光蕁麻疹 / 多形日光疹 / 慢性光線性皮膚炎
 2. 外因性 (薬剤性) 光線過敏症
概念 / 歴史 / 光毒性反応と光アレルギー性反応 / 光毒性反応 / 光アレルギー性反応
 3. 光線増悪性疾患
Bloom 症候群 / Rothmund-Thomson 症候群 / Kindler 症候群 / 天疱瘡 / 水疱性類天疱瘡 / 紅斑性狼瘡 / 皮膚筋炎 / 乾癬 / 毛孔性紅色靴糖疹 / 播種状表在性光線性毛孔角化症 / 家族性良性慢性天疱瘡 / Darier 病 / 多形紅斑 / 夏季瘡 / 単純ヘルペス / 水痘 / アトピー性皮膚炎は光線増悪性疾患か？
 4. photo recall 様現象
recall 現象 / 抗腫瘍薬による sunburn の recall / photo recall 様現象 / 発症機序
 5. 光線性爪甲剥離症
爪甲剥離症 / 病型 / 薬剤による光線性爪甲剥離症 / 内因性光線過敏症に伴う爪甲剥離症 / 自発性光線性爪甲剥離症 / 爪甲の光線透過性
- VII. 光線療法
光線療法の発展と原理 / 光線療法の種類 / Goeckerman 療法 / PUVA (光化学) 療法 / UVB 療法 / narrow-band UVB 療法 / UVA 1 療法 / 光力学療法 / エキシマ・レーザー / 医療用紫外線照射装置
- VIII. 光防御
大気の外紫外線防御機構 / 皮膚の外紫外線防御機構 / 人工的光防御