

Fig. 2. Fractionation of nasal wash (A) and serum (B) samples from representative participants on Superose 6 columns. Quantification ($\mu\text{g/ml}$) of IgA (open circles), IgG (open squares), or IgM (open triangles) antibody levels and the absorbance at 280 nm (mAu, broken line) are shown. The grey zones in the upper part of the curves indicate the positions of the molecular weight markers [thyroglobulin (669 kD), apoferritin (443 kD), β -amylase (200 kD), and bovine serum albumin (66 kD)].

(Fig. 2B). Serum IgA (which showed a lower peak at about 360 kD in addition to a peak at about 150 kD) appeared to comprise both monomeric and dimeric IgA.

Taken together, the results of the fractionation analysis suggests that highly polymeric IgA is the predominant nasal antibody, and can be separated from nasal IgG and IgM. By contrast, the monomeric forms of IgG are the major component of total serum antibodies.

Neutralization Activity of the IgA and IgG Antibodies in The Nasal Wash and Serum Samples

To determine the isotype of the antibodies responsible for the neutralization activity induced by intranasal administration of the inactivated vaccine, nasal wash and serum samples from participant P1, who showed relatively high neutralization titres after the fifth vaccination, were separated on a Superose 6 column and the neutralization titre of the resulting

antibody fractions assayed. The nasal polymeric IgA fraction (No. 27) showed a neutralization titre of 1:10, whereas the nasal monomeric IgG fraction (No. 33) showed a reciprocal neutralization titre of <1:10. However, the serum dimeric IgA fraction (No. 30) showed a neutralization titre of <1:10, whereas the serum peak monomeric IgG fraction (No. 33) showed a neutralization titre of 1:10 (Table IV). The respective peak fractions in the nasal wash were then concentrated to 100 $\mu\text{g/ml}$, and the neutralization activity of the nasal IgA antibodies (a mixture of fractions 26 and 27) was compared with that of the nasal IgG antibodies (a mixture of fractions 33 and 34). The nasal IgA fractions showed a neutralization titre of 1:40, whereas the nasal monomeric IgG fractions showed a neutralization titre of 1:10. Similarly, the neutralization activity of the serum IgA antibodies (100 $\mu\text{g/ml}$; a mixture of fractions 30 and 31) was compared with that of serum IgG antibodies (a mixture of fractions 33 and 34). The serum IgA fractions showed a neutralization titre of <1:10, whereas the serum

TABLE IV. Neutralization Titre of the IgA and IgG Fractions From the Nasal Wash and Serum Samples Following Separation on Superose Columns

	Neutralization titre ^a			
	Nasal wash		Serum	
	Polymeric IgA	IgG	Dimeric IgA	IgG
A/Uruguay (A/H3N2)				
Peak fraction: Separated on Superose column	10 (0)	<10 (<0)	<10 (<0)	10 (0)
Concentrated fraction (100 $\mu\text{g/ml}$)	40 (2)	10 (0)	<10 (<0)	10 (0)

The samples were collected from a representative subject vaccinated five times with an interval of 3 weeks between vaccinations.

^aRespective values are a reciprocal titre and a geometric titre (10×2^n) in a parenthesis.

IgG fractions showed a neutralization titre of 1:10 (Table IV).

The peak polymeric IgA fraction (about 600 kD) from the nasal wash samples, as measured using an IgA ELISA, contained no IgG antibodies when measured using an IgG ELISA; however, the peak monomeric IgG fractions (about 150 kD) from the nasal wash comprised about 1/4 of IgA (data not shown). By contrast, about 1/10 of the peak dimeric IgA (about 380 kD) from the serum samples comprised IgG antibodies, whereas about 1/10 of the peak monomeric IgG fractions from the serum comprised IgA (data not shown). This suggests that nasal polymeric IgA is responsible for the neutralization activity observed in the peak polymeric IgA fractions (about 600 kD) from the nasal wash samples. Serum monomeric IgG appears to be responsible for the neutralization activity observed in the peak monomeric IgG fractions (about 150 kD) from the serum, because the IgA content of the IgG fractions was very small. In those nasal monomeric IgG fractions that contained a relatively high amount of IgA, both IgG and IgA may be responsible for the neutralization activity. Taken together, these results show that the main neutralizing antibody in the nasal mucus is highly polymeric IgA, while the main neutralizing antibody in the serum is monomeric IgG.

DISCUSSION

In the present study, neutralizing antibody responses and their properties were examined in nasal and serum samples from healthy adults after intranasal administration of a concentrated, inactivated split A/Uruguay (H3N2) vaccine (containing 45 µg HA per dose). The first intranasal administration of a concentrated split vaccine in young adults was conducted by Kuno-Sakai et al. [1994] and showed that both serum HI- and nasal HA-specific IgA antibodies were induced after two aerosol vaccinations, which protected against a challenge infection with a cold-adapted live virus vaccine. In the present trial, neutralizing antibody responses were examined in both serum and nasal wash samples obtained from adults given five doses of vaccine, with an interval of 3 weeks between doses. The nasal wash samples were concentrated to ensure that nasal and serum neutralization titres were assayed at equivalent levels (Table I).

To measure the concentration of IgA and IgG antibodies in the concentrated nasal wash samples, the standardized nasal wash samples were adjusted to 1 mg/ml of total protein, and contained about 1/10 amount of IgA and IgG found in natural nasal mucus [Kurono and Mogi, 1987]. Previous studies show that the total amounts of IgA and IgG increase between pre-vaccination and post-vaccination in BALB/c mice [Tamura et al., 1990, 2010]; however, the results of the present study show that the amount of total IgA (and other antibodies) recovered from the nasal

mucus showed small variations at each sampling time, although this was not related to vaccination status (data not shown). Even allowing for small variations in the recovery of total IgA and IgG from the nasal mucus of each subject, the neutralization titres in the standardized nasal wash samples after vaccination appeared to be a reasonable reflection of the absolute antibody titre in the nasal mucus.

A ≥ 4 -fold increase in the nasal neutralization titre was observed after the second vaccination in the four younger subjects, whereas a rise in the serum neutralization titre was observed only after the fifth vaccination in the three younger subjects (Table II and Fig. 1). Intranasal administration of a vaccine tends to induce inferior serum antibody responses, but superior nasal IgA responses, compared with intramuscular injection [Atmar et al., 2007]. The present study also showed that neutralization titres correlated well with HI titres, although the HI titres were lower than the corresponding neutralization titres (Table III). This result confirms the work of Okuno et al. [1990], who showed that HI titres are sometimes lower than the corresponding neutralization titres, depending on the strain of influenza A or B virus used in the HI assay.

Healthy adults who had already acquired immunity to influenza viruses due to previous natural infections or vaccinations (seropositive adults) showed both nasal and serum antibody responses induced by the nasal vaccine (Tables II and III, and Fig. 1). Clinical trials show that intranasal administration of inactivated vaccines induces both mucosal and systemic antibody responses in seropositive adults [Kuno-Sakai et al., 1994; Hashigucci et al., 1996; Muszkat et al., 2000; Greenbaum et al., 2002; Durrer et al., 2003; Treanor et al., 2006; Atmar et al., 2007]. The induction of antibody responses in seropositive people by the nasal vaccine can be explained by the notion that the seropositive people have immunological memory for influenza viruses. Previous reports show that administration of an intranasal split vaccine plus adjuvant induces both local and systemic antibody responses in naive mice, and that the adjuvant is not required for a booster dose to induce an enhanced anamnestic immune response 4 weeks later [Tamura et al., 1989, 1992]. Administration of an adjuvant together with the vaccine stimulates innate immunity via several classes of pattern-recognition receptors (such as Toll-like receptors), which leads to the acquisition of specific immune responses, including immunological memory [Tamura et al., 1991, 2005; Tamura and Kurata, 2004].

Analysis of nasal wash and serum samples after passage through Superose 6 columns showed that the major component of nasal mucus antibodies was highly polymeric IgA, while that of serum antibodies was IgG (Fig. 2). In those subjects that received five doses of the intranasal A/Uruguay (H3N2) vaccine, the highly polymeric nasal IgA fractions were responsible for the majority of the neutralizing activity, whereas

the serum IgG fractions were responsible for the majority of the neutralizing activity in the serum (Table IV). These data are in agreement with those obtained in a previous mouse model experiment, in which IgA antibodies with neutralizing activity purified from the respiratory tract of mice immunized intranasally with HA molecules from the A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus were polymeric, whereas the purified IgG antibodies with neutralizing activity were monomeric [Tamura et al., 1990]. Further study of the detailed structure of IgA, which has higher MW than expected for dimeric IgA [Song et al., 1995] remains to be performed.

Previous studies show that IgA in the respiratory tract is more cross-reactive with variant influenza viruses than IgG [Tamura et al., 1990, 1991]. This cross-reactivity seems to depend on the polymeric nature of IgA [Taylor and Dimmock, 1985; Palladino et al., 1995]. Taken together, these data suggest the potential for intranasally administered inactivated vaccines to induce cross-protection against antigenic variants of viruses in pre-immunized adults.

Both serum and mucosal HA-specific ELISA antibody responses after nasal vaccination need to be examined and compared with the corresponding neutralization and HI titres. In addition, neutralizing antibody responses to other influenza vaccines (from different strains, different subtypes or types of viruses, and from different forms of vaccines such as subvirion and whole virus vaccines) after nasal vaccination remain to be examined to compare the efficacy of nasal vaccines with that of the parenteral vaccine. Some of these studies are ongoing.

In conclusion, intranasal administration of an A/Uruguay split vaccine containing 45 µg HA resulted in induced nasal and serum neutralizing antibody responses in four out of five healthy adult subjects, with a neutralization titre of >1:40 after the second and the fifth administrations, respectively. These neutralizing antibody responses were largely due to the induction of nasal polymeric IgA and serum monomeric IgG.

ACKNOWLEDGMENTS

We express our appreciation to all the study participants and thank the authors whose work is cited in this paper. We would also like to thank Mr Patrick Costigan for proofreading.

REFERENCES

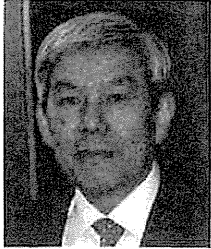
- Asahi Y, Yoshikawa T, Watanabe I, Iwasaki T, Hasegawa H, Sato Y, Shimada S, Nanno M, Matsuoka Y, Ohwaki M, Iwakura Y, Suzuki Y, Aizawa C, Sata T, Kurata T, Tamura S. 2002. Protection against influenza virus infection in polymeric Ig receptor knockout mice immunized intranasally with adjuvant-combined vaccines. *J Immunol* 168:2930–2938.
- Asahi-Ozaki Y, Yoshikawa T, Iwakura Y, Suzuki Y, Tamura S, Kurata T, Sata T. 2004. Secretory IgA antibodies provide cross-protection against infection with different strains of influenza B virus. *J Med Virol* 74:328–335.
- Atmar RL, Keitel WA, Cate TR, Munoz FM, Ruben F, Couch RB. 2007. A dose-response evaluation of inactivated influenza vaccine given intranasally and intramuscularly to healthy young adults. *Vaccine* 25:5367–5373.
- Belshe RB, Gruber WC, Mendelman PM, Mehta HB, Mahmood K, Reisinger K, Treanor J, Zangwill K, Hayden FG, Bernstein DI, Kotloff K, King J, Piedra PA, Block SL, Yan L, Wolff M. 2000. Correlates of immune protection induced by live, attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine. *J Infect Dis* 181:1133–1137.
- Brandtzag P, Krajci P, Lamm ME, Kaetzel CS. 1994. Epithelial and hepatobiliary transport of polymeric immunoglobulins. In: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, McGee JR, Bienenstock J, editors. *Handbook of mucosal immunology*. San Diego: Academic Press, pp 113–126.
- Davenport FM, Hennessy AV, Brandon FM, Webster RG, Barrett CD Jr, Lease GO. 1964. Comparisons of serologic and febrile responses in humans to vaccination with influenza A viruses or their hemagglutinins. *J Lab Clin Med* 63:5–13.
- Durrer P, Gluck U, Spyr C, Lang AB, Zurbriggen R, Herzog C, Gluck R. 2003. Mucosal antibody response induced with a nasal virosome-based influenza vaccine. *Vaccine* 21:4328–4334.
- Greenbaum E, Furst A, Kiderman A, Stewart B, Levy R, Schlesinger M, Morag A, Zakay-Rones Z. 2002. Mucosal (SIgA) and serum [IgG] immunologic responses in the community after a single intra-nasal immunization with a new inactivated trivalent influenza vaccine. *Vaccine* 20:1232–1239.
- Hashiguchi K, Ogawa H, Ishidate T, Yamashita R, Kamiya H, Watanabe K, Hattori N, Sato T, Suzuki Y, Nagamine T, Aizawa C, Tamura S, Kurata T, Oya A. 1996. Antibody responses in volunteers induced by nasal influenza vaccine combined with *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin B subunit containing a trace amount of the holotoxin. *Vaccine* 14:113–119.
- Hierholzer JC, Suggs MT, Hall EC. 1969. Standardized viral hemagglutination and hemagglutination-inhibition tests. II. Description and statistical evaluation. *Appl Microbiol* 18:824–833.
- Ito R, Ozaki YA, Yoshikawa T, Hasegawa H, Sato Y, Suzuki Y, Inoue R, Morishima T, Kondo N, Sata T, Kurata T, Tamura S. 2003. Roles of anti-hemagglutinin IgA and IgG antibodies in different sites of the respiratory tract of vaccinated mice in preventing lethal influenza pneumonia. *Vaccine* 21:2362–2371.
- Kadowaki S, Chen Z, Asanuma H, Aizawa C, Kurata T, Tamura S. 2000. Protection against influenza virus infection in mice immunized by administration of hemagglutinin-expressing DNAs with electroporation. *Vaccine* 18:2779–2788.
- Kuno-Sakai H, Kimura M, Ohta K, Shimojima R, Oh Y, Fukumi H. 1994. Developments in mucosal influenza virus vaccines. *Vaccine* 12:1303–1310.
- Kurono Y, Mogi G. 1987. Secretory IgA and serum type IgA in nasal secretion and antibody activity against the M protein. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 96:419–424.
- Lu BL, Webster RG, Hinshaw VS. 1982. Failure to detect hemagglutination-inhibiting antibodies with intact avian influenza virions. *Infect Immun* 38:530–535.
- Murphy BR. 1994. Mucosal Immunity to Viruses. In: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, McGee JR, Bienenstock J, editors. *Handbook of mucosal immunology*. San Diego: Academic Press, pp 333–343.
- Murphy BR, Clements ML. 1989. The systemic and mucosal immune response of humans to influenza A virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 146:107–116.
- Murphy BR, Webster RG. 1996. Orthomyxoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, M HP, Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields virology*. 3rd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp 1397–1445.
- Muszkat M, Yehuda AB, Schein MH, Friedlander Y, Naveh P, Greenbaum E, Schlesinger M, Levy R, Zakay-Rones Z, Friedman G. 2000. Local and systemic immune response in community-dwelling elderly after intranasal or intramuscular immunization with inactivated influenza vaccine. *J Med Virol* 61:100–106.
- Okuno Y, Tanaka K, Baba K, Maeda A, Kunita N, Ueda S. 1990. Rapid focus reduction neutralization test of influenza A and B viruses in microtiter system. *J Clin Microbiol* 28:1308–1313.
- Palladino G, Mozdzanowska K, Washko G, Gerhard W. 1995. Virus-neutralizing antibodies of immunoglobulin G (IgG) but not of IgM or IgA isotypes can cure influenza virus pneumonia in SCID mice. *J Virol* 69:2075–2081.
- Ramphal R, Cogliano RC, Shands JW Jr, Small PA Jr. 1979. Serum antibody prevents lethal murine influenza pneumonitis but not tracheitis. *Infect Immun* 25:992–997.

- Renegar KB, Jackson GD, Mestecky J. 1998. In vitro comparison of the biologic activities of monoclonal monomeric IgA, polymeric IgA, and secretory IgA. *J Immunol* 160:1219–1223.
- Renegar KB, Small PA Jr, Boykins LG, Wright PF. 2004. Role of IgA versus IgG in the control of influenza viral infection in the murine respiratory tract. *J Immunol* 173:1978–1986.
- Rowe T, Abernathy RA, Hu-Primmer J, Thompson WW, Lu X, Lim W, Fukuda K, Cox NJ, Katz JM. 1999. Detection of antibody to avian influenza A (H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays. *J Clin Microbiol* 37:937–943.
- Song W, Vaerman JP, Mostov KE. 1995. Dimeric and tetrameric IgA are transcytosed equally by the polymeric Ig receptor. *J Immunol* 155:715–721.
- Tamura S, Funato H, Hirabayashi Y, Kikuta K, Suzuki Y, Nagamine T, Aizawa C, Nakagawa M, Kurata T. 1990. Functional role of respiratory tract haemagglutinin-specific IgA antibodies in protection against influenza. *Vaccine* 8:479–485.
- Tamura S, Funato H, Hirabayashi Y, Suzuki Y, Nagamine T, Aizawa C, Kurata T. 1991. Cross-protection against influenza A virus infection by passively transferred respiratory tract IgA antibodies to different hemagglutinin molecules. *Eur J Immunol* 21:1337–1344.
- Tamura S, Hasegawa H, Kurata T. 2010. Estimation of the effective doses of nasal-inactivated influenza vaccine in humans from mouse-model experiments. *Jpn J Infect Dis* 63:8–15.
- Tamura S, Kurata H, Funato H, Nagamine T, Aizawa C, Kurata T. 1989. Protection against influenza virus infection by a two-dose regimen of nasal vaccination using vaccines combined with cholera toxin B subunit. *Vaccine* 7:314–320.
- Tamura S, Kurata T. 2004. Defense mechanisms against influenza virus infection in the respiratory tract mucosa. *Jpn J Infect Dis* 57:236–247.
- Tamura S, Tanimoto T, Kurata T. 2005. Mechanisms of broad cross-protection provided by influenza virus infection and their application to vaccines. *Jpn J Infect Dis* 58:195–207.
- Tamura SI, Asanuma H, Ito Y, Hirabayashi Y, Suzuki Y, Nagamine T, Aizawa C, Kurata T, Oya A. 1992. Superior cross-protective effect of nasal vaccination to subcutaneous inoculation with influenza hemagglutinin vaccine. *Eur J Immunol* 22:477–481.
- Taylor HP, Dimmock NJ. 1985. Mechanism of neutralization of influenza virus by secretory IgA is different from that of monomeric IgA or IgG. *J Exp Med* 161:198–209.
- Tobita K, Sugiura A, Enomote C, Furuyama M. 1975. Plaque assay and primary isolation of influenza A viruses in an established line of canine kidney cells (MDCK) in the presence of trypsin. *Med Microbiol Immunol* 162:9–14.
- Treanor J, Nolan C, O'Brien D, Burt D, Lowell G, Linden J, Fries L. 2006. Intranasal administration of a proteosome-influenza vaccine is well-tolerated and induces serum and nasal secretion influenza antibodies in healthy human subjects. *Vaccine* 24:254–262.

インフルエンザワクチン

—その特徴と効果

Influenza vaccine : Its features and effectiveness



庵原 俊昭

Toshiaki IHARA

国立病院機構三重病院

◎現在、季節性インフルエンザ対策に使われているワクチンの剤型はスプリットワクチンであり、プライミング効果は劣るものの、優れたブースティング効果が認められている。注射で接種したワクチンで誘導される免疫の主体は血中IgG抗体であり、粘膜にしみ出ることによって感染防御に働いている。赤血球凝集抑制抗体40倍は50%の成人の発症を予防する抗体価である。IgG抗体は変異したインフルエンザウイルスに対する反応がIgA抗体や細胞性免疫よりも劣る欠点がある。インフルエンザワクチンの効果が低いのは小児と高齢者である。今シーズン(2011/12)から小児への免疫原性を高めるために、接種量が世界標準量に増加した。アメリカでは高齢者の免疫原性を高めるために、成人接種量の4倍量のヘマグルチニンを含むインフルエンザワクチンが使用されている。インフルエンザ発症予防のためには、高い血中抗体価を誘導しておくことが大切である。



インフルエンザ、インフルエンザワクチン、スプリットワクチン、免疫原性、パンデミック

インフルエンザウイルスは、核蛋白の抗原性からA型、B型、C型に分類される。A型インフルエンザウイルスの自然宿主はカモであり、多くの鳥類や哺乳類に感染するが、B型とC型はヒトのウイルスである。突然の高熱、頭痛、筋肉痛、関節痛などのインフルエンザ様症状(influenza like illness: ILI)を示すのはA型とB型である。B型はヤマガタ系とビクトリア系に大別される。

A型インフルエンザウイルスにはエンペロープ上に2種類の構造蛋白〔ヘマグルチニン(HA)とノイラミニダーゼ(NA)]が存在する。HAは16種類、NAは9種類あるため、A型インフルエンザウイルスは理論上144種類の亜型が存在する。現在ヒトの間で流行している亜型はA(H1N1)とA(H3N2)である。2009年にパンデミックを起こしたウイルスはA旧ソ連型と免疫原性が大きく異なるA(H1N1)亜型である。毎年ヒトの間では規模の大小はあるもののA(H1N1)、A(H3N2)、B型が流行してILIを発症させるため、毎年のインフルエンザワクチン接種が勧められている。本

稿では、インフルエンザワクチンの特徴と効果について解説する。

インフルエンザワクチンの剤型(表1)

インフルエンザワクチンには毎年のインフルエンザ流行に備える季節性インフルエンザワクチンと、現在ヒトの間で流行しているA型インフルエンザウイルス亜型と異なる亜型が出現したときに備えて準備しているプロトタイプワクチンとがある。わが国で現在使用している季節性インフルエンザワクチンの剤型は発育鶏卵で増殖したインフルエンザウイルス全粒子を精製、不活化した後、接種局所の副反応や発熱に関与しているエンペロープをエーテル処理で取り除いたスプリットワクチンである。感染防御抗原(「サイドメモ1」参照)であるHAを分離精製していることからHAワクチンともよばれている。皮下注射で接種する。

スプリットワクチンは全粒子ワクチンに比べプライミング効果は劣るが、ブースティング効果は認められている(「サイドメモ2」参照)。現在カイ

表 1 インフルエンザワクチンの剤型と免疫効果

剤型	各インフルエンザウイルスの HA 量(μg/dose)	免疫効果	
		プライミング	ブースティング
季節性インフルエンザワクチン			
不活化ワクチン			
全粒子ワクチン	15	+	+
スプリットワクチン			
通常量ワクチン	15	±	+
高用量ワクチン*	60	±	++
皮内接種用ワクチン*	9	±	+
サブユニットワクチン†	開発中	-?	+
ピロゾーマルワクチン†	15	+	+
生ワクチン	15	++	+
プロトタイプワクチン(不活化ワクチン)			
全粒子ワクチン	15	+	+
アルミアジュバント加全粒子ワクチン	15	++	+
スクワレン系アジュバント加スプリットワクチン	15/7.5 ‡	+++	++

HA 量：インフルエンザワクチンに含まれる各コンポーネントの HA(ヘマグルチニン)量。

*：日本では認可されていないが、アメリカで認可されている。

†：サブユニットワクチンは培養細胞で HA 蛋白を増幅させて製造されたワクチン、ピロゾーマルワクチンはピロゾームに HA とノイラミニダーゼ(NA)を付着させたワクチンでヨーロッパで使用。

‡：MF59 を用いているノバルティスの HA 量は 15μg/dose, AS03 を用いているグラクソスミスクラインの HA 量は 7.5μg/dose。

コ由来細胞に HA 遺伝子を挿入して増生させた HA を精製したサブユニットワクチンの開発が行われている¹⁾。サブユニットワクチンのプライミング効果も不十分である。

皮内接種は少ない抗原量で皮下接種や筋肉接種と同等の免疫原性が認められている。アメリカでは 2011/12 シーズンから、スプリットワクチンを用いた皮内接種用インフルエンザワクチンが認可された²⁾。接種抗原量は 9μg である。0.1 mL 皮内接種する。

アメリカやロシアでは経鼻接種するインフルエンザ生ワクチンが使用されている。3 種類の温度変異株(「サイドメモ 3」参照)を親株とし、HA と NA をそのシーズンのワクチン株に組み換えて製

造する。インフルエンザの免疫がない小児に接種すると感冒様症状が出現するリスクが高く、成人

サイド
メモ
1

感染防御抗原

感染防御抗原とは、ウイルスが細胞に感染するとき中心的役割を果たすウイルス蛋白のことであり、これらの蛋白に対する抗体が感染防御の中心的役割を担っている。インフルエンザウイルスのヘマグルチニン(HA)、B 型肝炎ウイルスの HBs 抗原、麻疹ウイルスの H 蛋白と F 蛋白などが代表である。

サイド
メモ
2

プライミングとブースティング

免疫に関与する細胞群として抗原提示細胞、免疫未熟細胞、免疫記憶細胞、免疫実行細胞がある。抗原提示細胞は生体に入った異物を認識し、免疫未熟細胞に情報を提示する細胞群で、樹状細胞、Langerhans 細胞などのマクロファージ系の細胞である。免疫情報の提示を受けた免疫未熟細胞(Th0 細胞、Bo 細胞)は、成熟して免疫記憶細胞(Th1 細胞、Th2 細胞、B 細胞)になる。免疫記憶細胞は免疫実行細胞(形質細胞、キラー T 細胞)を誘導し抗体を産生させる。免疫記憶細胞をおよび免疫実行細胞を誘導することをプライミングといい、誘導された免疫実行細胞の数を増加させ、免疫を高めることをブースティングという。生ワクチンでは一度に大量の免疫実行細胞を誘導することができるが、不活化ワクチンでは 2 回以上接種してまずプライミングし、4~6 カ月後以降にブースティングする。一度誘導された免疫記憶細胞は消失しないので、免疫記憶細胞が誘導されていると 4~6 カ月後以降ならばいつでもブースティングが認められる。なお、キラー T 細胞は生きたウイルスでないと誘導できない。

表 2 インフルエンザワクチンと麻疹ワクチンの比較

項目	インフルエンザ	麻疹
発症させるウイルス	A(H1N1), A(H3N2), B	1種類
ウイルスの変異	連続変異しやすい 不連続変異あり	ゆっくりと変異 不連続変異なし
感染症の病態	局所性ウイルス感染症	全身性ウイルス感染症
感染予防	sIgA 抗体, 血中抗体, CMI	血中抗体, CMI*
発症予防抗体価		
50% 予防	HI 抗体 40 倍	
90% 予防	HI 抗体 160 倍	120 mIU/mL [†]
感染予防抗体価	発症予防抗体価と同じ	800 mIU/mL [†]
ワクチン		
剤型	スプリットワクチン(HA) [‡]	生ワクチン
抗体価の半減期	半年	約3年
接種後の発症予防抗体価	≥70% ^{**}	≥95%
接種回数	毎年1回	生涯2回

sIgA: 分泌型 IgA, CMI: 細胞性免疫, HI: 赤血球凝集抑制, HA: ヘマグルチニン.

*: 麻疹では, CMI は感染からの回復に重要な役割を果たしている.

[†]: 国際単位, ≥120 mIU/mL は中和抗体で≥4 倍, ≥750 mIU/mL は中和抗体で≥32 倍.

[‡]: エーテル処理によりウイルスの立体構造をこわし, HA を分離精製している.

** : ヨーロッパ医薬品庁が定めるインフルエンザワクチン評価基準における抗体陽性率, HI 抗体 40 倍以上の割合.

ではスプリットワクチンと比べてブースティング効果が劣っている。なお、生ワクチンでは分泌型 IgA (sIgA) 抗体と細胞性免疫が賦活されるため、ウイルスの変異に対する対応力が優れている^{3,4)}。アメリカでは 2~49 歳が接種対象者である。

多くの方が免疫をもたない新型インフルエンザウイルス対策用にわが国で準備されているプロトタイプワクチンの剤型は、発育鶏卵で増殖させたウイルス全粒子をアルミアジュバントと反応させたワクチンである(アルミアジュバント加全粒子ワクチン)⁵⁾。現在培養細胞で増殖させたウイルス

を用いたプロトタイプワクチンの開発が行われている。

一方、ヨーロッパではスプリットワクチンにスクワレン系アジュバントを加えたインフルエンザワクチンを、アメリカでは Vero 細胞で増殖させたインフルエンザウイルスを用いた全粒子ワクチンをプロトタイプワクチンとして準備している。いずれのワクチンもプライミング効果とブースティング効果、さらにブースティングによる交差免疫の誘導が認められている。

● インフルエンザの病態と発症予防(表 2)

インフルエンザは気道にウイルスが感染して症状が出現する局所性ウイルス感染症であり、ウイルス血症は認められない。局所性ウイルス感染症でワクチンが開発されているのはインフルエンザだけである。

インフルエンザの発症予防および回復には、sIgA 抗体, 血中 IgG 抗体, 細胞性免疫が関与している。血中 IgG 抗体はほぼ同じ濃度が気道粘膜に滲み出る。血中赤血球凝集抑制(hemagglutination inhibition: HI)抗体が高いほど、発症予防効果が優れている。全身性ウイルス感染症の発症予防レベルは 90% 以上のヒトの発症を予防する抗

サイト
メモ
3

温度変異株(ts mutant)

一般にヒトに感染するウイルスは 37℃ で効率よく増殖し、高温(39℃)でも比較的よく増殖する。温度変異株とは野生株と比べて高温での増殖が低下した株であり、麻疹ワクチン株である AIK-C 株が代表である。多くの生ワクチン株は温度変異性をもっている。インフルエンザ生ワクチンの製造に使用される 3 種類の親株(ワクチン製造の鋳型になる株)はいずれも上気道の温度である 33℃ で増殖効率がよく、37℃ では増殖効率が劣る温度変異株である。

表 3 不活化インフルエンザワクチンの有効率⁸⁾

年齢群	診断基準	有効率(%)	
		日本	欧米
小児 6歳未満	ウイルス学的		58
	ILI	22~25	28
6歳以上	ウイルス学的		65~78
	ILI	24~40	28
成人	ILI		70~90
	入院回避		90
高齢者	ILI	34~55	30~40
	入院回避		50~60
	死亡回避	≥80	80

ILI: インフルエンザ様疾患, ウイルス学的診断:
ウイルス分離, 血清診断などを用いた実験室診断.

抗体価であるが, インフルエンザの発症予防抗体価である HI 抗体 40 倍は 50% の成人の発症を予防する抗体価である⁶⁾.

インフルエンザウイルスは変異が早いウイルスであり, シーズンごとに接種される 3 種類のワクチン株のいずれかが通常毎年更新されること, 一度接種したとしてもインフルエンザワクチン後の抗体陽性率 (HI 抗体 ≥ 40 倍) は麻疹と比べて低率であり, しかも抗体価は半年で 1/2 に低下することから, 毎年流行前に 1 回の接種が勧められている.

● インフルエンザワクチンの効果 (表 3)

インフルエンザワクチンの効果は主として, 流行時のインフルエンザ発症予防で評価される. インフルエンザ流行中に ILI を発症したとしても, すべての原因はインフルエンザウイルスとは限らないため, インフルエンザの診断を臨床診断で行うと, ウイルス学的に診断したときと比べインフルエンザワクチンの有効率が低下する⁷⁾. また, 流行株とワクチン株の抗原性が一致すると有効率が高く, 抗原性が変異すると有効率は低下する. HA の抗原性が 4 倍以上変異したとき, ワクチン株と流行株に変異があったと診断する. ILI を指標としたときの成人のインフルエンザワクチンの有効率は 70~90% であり, ワクチン株と流行株の抗原性が異なると成人の有効率は 60% 程度に低下する³⁾.

インフルエンザワクチンの有効率が低いのは, 乳幼児と高齢者である. 高齢者では加齢により免

疫応答が低下するためである. 高齢者の免疫応答を高めるためには, 3~4 週間隔で 2 回接種するよりも 1 回に多量接種する方が優れている. アメリカでは高齢者用に成人に接種する 4 倍量の HA が含まれたインフルエンザワクチンが使用されている²⁾.

乳幼児でインフルエンザワクチンの効果が劣る原因として, 1 歳未満の乳児は 1 歳以上の子どもよりも抗体反応が低いことや, 細胞性免疫が弱いために発症予防には成人よりも高い抗体価が必要なのが示唆されている^{8,9)}. 2011/12 シーズンから小児の抗体反応を高めるために, わが国小児のインフルエンザワクチン接種量が WHO 推奨量に増量された. WHO 推奨量で接種したときの抗体反応を表 4 に示した¹⁰⁾. 1 歳未満児ではいずれの型に対しても抗体陽性率が低かったが (ヨーロッパ医薬品庁 (EMA) 基準 ≥ 70%), A/H1N1 および A/H3N2 に対しては抗体陽転率 (EMA 基準 ≥ 40%) および幾何平均抗体価 (GMT) 上昇率 (EMA 基準 ≥ 2.5 倍) とともに EMA の基準を満たしていた.

小児におけるインフルエンザワクチン接種回数に関しては, B 型インフルエンザウイルスに対する抗体反応を期待するならば, 13 歳未満は 2 回接種が勧められる. なお, 今回接種量を増量させたのは 2 回接種によるプライミング時の抗体反応, または 1 回追加接種によるブースティング効果を高めるためであり, 接種量が増加してもプライミングが必要な人は 2 回接種が必要である.

● インフルエンザワクチンの集団免疫効果

インフルエンザはヒトからヒトに感染する感染症であり, 基本再生産数は 1.5~2.4, 集団免疫率 50% 程度である (「サイドメモ 4」参照). インフルエンザワクチンを高齢者施設や障害者施設の職員に接種すると, 接種率が低い施設と比べて接種率が高い施設では入所者のインフルエンザ発症率やインフルエンザ流行期間中の死亡率が低下する¹¹⁾. また, 小児にインフルエンザワクチンを接種すると同居している高齢者のインフルエンザ発症率が 61% 低下するなど¹²⁾, インフルエンザワクチンの集団免疫効果が示されている.

表 4 小児におけるインフルエンザワクチンの免疫原性(阪大微生物病研究会)¹⁰⁾

年齢 (人数)	ワクチン	A/H1N1			A/H3N2			B		
		陽転率	GMT 増加率	陽性率	陽転率	GMT 増加率	陽性率	陽転率	GMT 増加率	陽性率
6カ月<1歳 (17)	1回後	5.9	1.6	5.9	11.8	2.1	11.8	0.0	1.0	0.0
	2回後	41.2	3.8	41.2	58.8	6.0	58.8	23.5	2.4	23.5
1歳<3歳 (17)	1回後	47.1	5.3	52.9	64.7	9.4	64.7	52.9	4.3	52.9
	2回後	76.5	7.7	76.5	94.1	13.6	94.1	64.7	6.5	64.7
3歳<6歳 (18)	1回後	61.1	6.6	66.7	88.9	6.3	94.4	66.7	5.2	77.8
	2回後	72.2	7.1	72.2	94.4	7.4	94.4	77.8	5.9	83.3
6歳<13歳 (16)	1回後	87.5	9.1	87.5	81.3	7.3	100	18.8	5.5	37.5
	2回後	87.5	9.1	87.5	81.3	7.3	100	31.3	3.4	50.0

EMAの基準：抗体陽転率(≧40%)，GMT増加率(≧2.5倍)，抗体陽性(HI抗体≧40倍)率(≧70%)。

基礎疾患のある人への接種

糖尿病，肝硬変，慢性腎不全などの慢性基礎疾患をもつ人は，インフルエンザに罹患すると重症化するリスクが高い人である。基礎疾患のある人は高齢者と同様にインフルエンザワクチンに対する免疫応答が低下した人である。免疫低下者の抗体反応を高めるためには，理論上高齢者と同様に接種する抗原量を高める必要がある。

妊婦がインフルエンザを発症すると肺炎を合併する頻度が高いため，妊娠期間中がインフルエンザ流行と重なる妊婦にはインフルエンザワクチン接種が勧められている。インフルエンザワクチンは妊娠時期にかかわらず接種が推奨されている。母乳を与えている母親へのインフルエンザワクチン接種も安全性が確認されている。

第三三半期の妊婦にインフルエンザワクチンを

接種すると，妊婦が発熱性呼吸器疾患に罹患する率が29%減少し，生まれた生後6カ月未満の子どもも発熱性呼吸器疾患を発症する率が36%減少する¹³⁾。インフルエンザ抗体は3種類ともほぼ同じ濃度で児に移行する¹⁴⁾。生後6カ月未満の子どもをインフルエンザから予防するために，妊婦にインフルエンザワクチンを接種する対策が検討されている。

インフルエンザワクチンの副反応と卵アレルギー児への接種

インフルエンザワクチン接種後約30%に注射部位の紅斑や疼痛が認められる。発熱はまれである。1976年のブタインフルエンザ騒動時に用いられたインフルエンザワクチンでは Guillain-Barr 症候群(GBS)の出現率が高かったが，近年用いられているインフルエンザワクチンでは GBS の有意な増加は認められていない³⁾。GBS 既往者はインフルエンザワクチンの接種不相当者である。

現行のインフルエンザワクチンは発育鶏卵を用いて製造されるため，欧米では卵を食べてアナフィラキシーを起こす人は接種不相当者とされている。インフルエンザワクチン接種によりアナフィラキシーを引き起こすオボアルブミン量は600~700 ng/dose 以上である^{2,15)}。一方，わが国のインフルエンザワクチンに含まれるオボアルブミン濃度は1 ng/mL 程度である¹⁶⁾。わが国のワクチンを卵アレルギー児に接種したとしても，理論上オボアルブミンによるアナフィラキシーは起こらないと判断されている。

サイド
メモ
4

基本再生産数(R_0)と 集団免疫率(H_0)

基本再生産数(R_0)とはひとりの感染者が周囲の免疫のない人に感染させる数で，この数字が高いほど感染力が強いことを示している。 R_0 は感染症ごとに異なっており，一番感染力が強い感染症は麻疹と百日咳で16~21である。

集団免疫率(H_0)とは，ある集団でヒトからヒトに感染する感染症の流行を阻止するために必要な免疫率のことである。 $H_0 = (1 - 1/R_0) \times 100$ の関係がある。この率も感染症ごとに異なっており，麻疹の集団免疫率は90~95%である。

● プロトタイプワクチンの製造と接種計画

WHOは2009年のパンデミック後も多くの人が免疫をもたないインフルエンザウイルス(新型インフルエンザウイルス)の流行を危惧している。新型インフルエンザウイルスの出現を予測して準備するワクチンがプロトタイプワクチンであり、新型インフルエンザウイルスがパンデミックを起こしたとき、パンデミック株を用いて製造するのがパンデミックワクチンである。パンデミックワクチンの剤型は出現した亜型により異なってくる。2009年のパンデミックではスプリットワクチンが用いられた。H1, H2, H3以外の亜型が出現した場合はプロトタイプワクチンの剤型が用いられる。

わが国ではA/H5N1亜型の出現を危惧して毎年1,000万人分のプロトタイプワクチンの備蓄を行っている。現在インフルエンザウイルスの増殖に発育鶏卵を用いているが、高病原性A/H5N1がパンデミックを起こしたときは発育鶏卵でのインフルエンザウイルス増殖が不可能であること、発育鶏卵の数に制限があり、急いでワクチンを製造することが困難であることなどの理由で、培養細胞を用いたインフルエンザワクチンの開発が進んでいる¹⁾。

現在のところ、新型インフルエンザウイルスとして予測されているのは、①現在流行しているA/H3N2香港型およびA/H1N1 pdm 09と大きく抗原性が異なるA/H3N2亜型またはA/H1N1亜型の出現②、A/H2N2亜型の再燃、③H1, H2, H3以外のHA亜型をもつインフルエンザウイルスの出現の3パターンである。2009年パンデミック時の経験から、現在流行しているA(H3N2)やA(H1N1)と免疫原性が大きく異なる同じ亜型のインフルエンザウイルスが出現した場合、乳幼児を除く多くの人は抗体が陰性でもこれらのウイルスに対して免疫記憶をもっているため、1回の接

種で十分である。A(H2N2)が出現した場合は、1968年以前に生まれた人は免疫記憶を有しているため1回接種、それ以降の人は2回接種が必要である。これらの亜型以外のHA亜型が出現した場合は、全員2回接種が必要である。

● おわりに

インフルエンザワクチンの剤型および有効性について解説した。現在流行しているインフルエンザウイルスと抗原性が異なるインフルエンザウイルスが出現したとしてもインフルエンザウイルスがヒトに感染して発症する臨床像はILIである。しかし、WHOは高病原性A/H5N1によるパンデミックのリスクをいぜん考えている。このためわが国では、季節性インフルエンザ対策と新型インフルエンザウイルスによるパンデミック対策を考えたインフルエンザワクチン製造および開発を行っている。

文献

- 1) 横内正人：インフルエンザ，**12**：180-184，2011.
- 2) CDC：*Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*，**60**：1128-1132，2011.
- 3) CDC：*Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*，**59**(RR-8)：1-61，2010.
- 4) Hoft, D. F. et al.：*J. Infect. Dis.*，**204**：845-853，2011.
- 5) 庵原俊昭：ウイルス，**60**：69-78，2010.
- 6) Plotkin, S. A.：*Clin. Infect. Dis.*，**47**：401-409，2008.
- 7) 庵原俊昭：化学療法の領域，**27**：2684-2693，2011.
- 8) Walter, E. B. et al.：*Vaccine*，**28**：4376-4383，2010.
- 9) Black, S. et al.：*Ped. Infect. Dis. J.*，**30**：1081-1085，2011.
- 10) 医事新報編集部：医事新報，**4561**：17，2011.
- 11) Lemaitre, M. et al.：*J. Am. Geriatr. Soc.*，**57**：1580-1586，2009.
- 12) Loeb, M. et al.：*JAMA*，**303**：943-950，2010.
- 13) Zaman, K. et al.：*N. Engl. J. Med.*，**359**：1555-1564，2008.
- 14) 二井立恵・他：小児科臨床，**63**：2329-2336，2010.
- 15) Erlewyn-Lajeunesse, M. et al.：*BMJ*，**339**：912-915，2009.
- 16) 庵原俊昭：小児科臨床，**63**：1855-1867，2010.

* * *

3. 沈降インフルエンザワクチンの評価と インフルエンザ A (H1N1) 2009 ワクチンの今後

庵原 俊昭

国立病院機構三重病院小児科

H5N1 パンデミックに備え、世界各国でプライミング効果に優れたプロトタイプワクチンが開発された。本邦の沈降インフルエンザワクチン H5N1 は、水酸化アルミニウムをアジュバントとする全粒子ワクチンで、初回の2回接種により優れたプライミング効果を認め、2年後に行った異なる株の追加接種により良好なブースティングと幅広い交差免疫が誘導され、副反応は容認される範囲であった。しかし、2009年4月以来パンデミックをおこしたのは、Aソ連型と抗原性が大きく異なる H1N1 であった。スプリットタイプの A(H1N1)2009 ウイルス単味ワクチンの1回接種により効果的なブースティングが認められ、多くの成人はこのウイルスに対する免疫記憶があることが示された。この結果から世界各国では季節性インフルエンザワクチンと同じ接種方式でこのワクチンの接種が行われた。なお今後の流行予測から2010/11シーズンの季節性インフルエンザワクチンに、A(H1N1)2009 ウイルス由来株が含まれることになった。

はじめに

2009年4月にメキシコで A (H1N1) 亜型であるブタ由来インフルエンザウイルス (swine-origin influenza virus, S-OIV) が出現しパンデミックを引き起こすまでは、人の間で流行している A (H1N1) および A (H3N2) 以外の A 型インフルエンザウイルス亜型が新型インフルエンザウイルスとして出現すると予測されていた¹⁻⁴⁾。当時予測されていた亜型は、A (H2N2), A (H5N1), A (H7N7), A (H9N2) などであり、なかでもニワトリからヒトに感染したときの死亡率が高い A (H5N1) の出現が恐れられていた。

新型インフルエンザウイルス出現によるパンデミック対策として、種々の社会的対策や医学的対策があるが、ワクチンは効果的な医学的対策の一つである。本邦で (H5N1)

対策として開発された沈降インフルエンザワクチン H5N1 と、S-OIV (インフルエンザ A (H1N1) 2009 ウイルス) 対策として用いられたインフルエンザ A (H1N1) 2009 単味ワクチンの開発コンセプト、評価、今後について解説する。

1. ワクチンと免疫 (図1)

ワクチンを接種するとまず抗原提示細胞がワクチン抗原を認識し、その情報を免疫未熟細胞に伝えると同時に活性化させ、免疫記憶細胞へと誘導させる。誘導された免疫記憶細胞は、免疫実行細胞を活性化させるとともに数を増加させ、最終的に免疫実行細胞の一つであるプラズマ細胞が抗体を産生し、同時に CD8+ 細胞は細胞傷害性 T リンパ球として働き、感染からの回復や感染防御に働いている。なお CD8+ 細胞が誘導できるのは、MHC クラス I による抗原提示が誘導できる生ワクチンだけである⁵⁾。

一度誘導された免疫記憶細胞は消失しないが、免疫実行細胞は適切な抗原刺激が続かないと数が減少し、時に抗体が検出されなくなる。抗体が陰性でも免疫記憶細胞が誘導されていると、1回の軽い刺激で免疫が増強される。免疫記憶がない状態 (ナイーブ) から免疫記憶細胞や免疫実行細胞を誘導することがプライミングであり、一度誘導されている免疫記憶細胞や免疫実行細胞を再活性化させることがブースティングである。不活化ワクチンでは最初に2ま

連絡先

〒514-0125

津市大里窪田町 357

国立病院機構三重病院小児科

TEL: 059-232-2531

FAX: 059-232-5994

E-mail: ihara@mie-m.hosp.go.jp

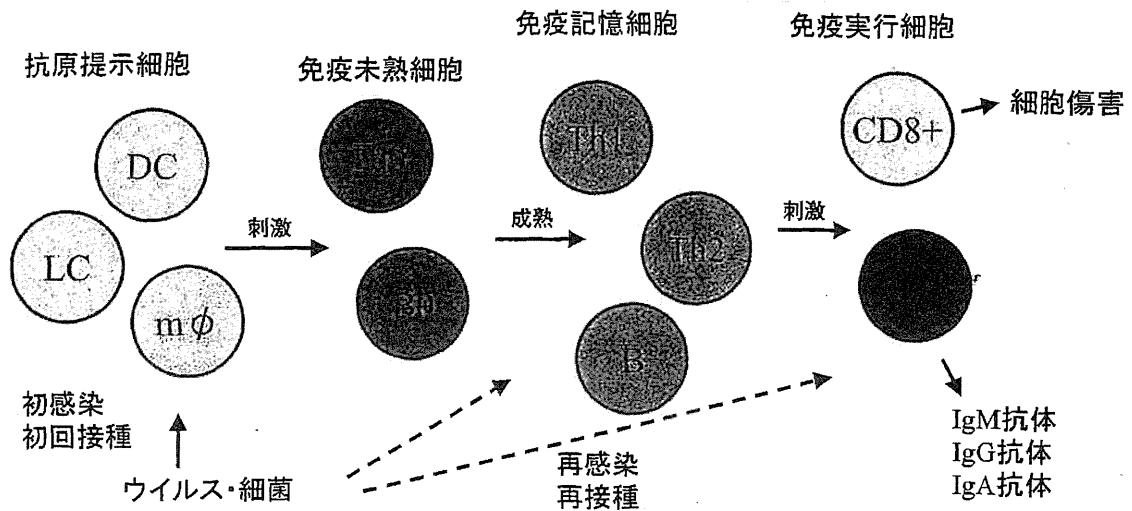


図1 感染・ワクチンと特異免疫の誘導

DC：樹状細胞，LC：ランゲルハンス細胞，mφ：マクロファージ，P：プラズマ細胞

- 1) ウイルス増殖量が多いほど症状が重く，強い特異免疫力を誘導する
- 2) 一度免疫記憶細胞が誘導されると，抗体価が陰転化しても1回の接種で二次免疫応答がおこる
- 3) 記憶B細胞の誘導には4-6か月が必要なため，追加接種（ブースティング）は初回接種後4-6ヶ月以降に行う

たは3回接種して免疫をプライミングさせ，4～6ヵ月後以降に再接種して免疫力を高めることが感染防御に大切である。不活化ワクチンを複数回接種して免疫を高めることをprime-boostと呼んでいる。

2. インフルエンザワクチンの種類

1) ワクチンの剤形

世界で使用されているインフルエンザワクチンには不活化ワクチンと生ワクチンがある。生ワクチンは，骨格となる温度変異株(ts mutant)に流行株のhemagglutinin (HA)とneuraminidase (NA)をリアソートさせて製造される。ロシアや米国で使用されている。

不活化ワクチンは全粒子ワクチン，スプリットワクチン，サブユニットワクチン，ピロゾームワクチンに分類される。不活化したウイルス粒子を精製したワクチンが全粒子ワクチンであり，スプリットワクチンやサブユニットワクチンよりも免疫原性は優れているが，局所反応などの副反応の出現率が高い欠点がある。全粒子ワクチンの副反応に関与しているエンベロープ中の脂質層をエーテル処理にて取り除いたのがスプリットワクチンである。サブユニットワクチンは，ウイルス全粒子をデITERジェント処理後，またはHA遺伝子を組み込んだ培養細胞で作らせたHAを精製したワクチンである。ピロゾームに精製されたHAとNAを吸着させたのがピロゾームワクチンである。本邦で使用されているHAワクチンはスプリットワクチンである。

2) インフルエンザウイルス増殖方法

以前はインフルエンザウイルスの増殖に発育鶏卵が用いられていたが，近年サル腎臓由来Vero細胞やイヌ腎臓由来MDCK細胞がインフルエンザウイルス増殖に用いられるようになっている^{6,7)}。

3) インフルエンザワクチンとアジュバント

主としてブースティングを期待する季節性インフルエンザワクチンには，一般的にアジュバントを含まない不活化ワクチンが使用されているが，ヨーロッパの一部の国は成人と比べ抗体反応が弱い高齢者に対し，MF59を含むスプリットワクチンを用いている。

多くの免疫学的にナイーブな人に接種するA (H5N1) 対策用ワクチン（プロトタイプワクチン）には，プライミング効果を高めるためアジュバントが含まれている。日本，中国，オーストラリア，ハンガリーなどで開発されたワクチンには，アルミ系アジュバントが使用されている⁸⁻¹⁴⁾。前もってアルミ系アジュバントに抗原を吸着させておかないとプライミング効果は認められない^{6,15,16)}。一方，グラクソスミスクライン (GSK) やノバルティスが開発したA (H5N1) 対策用ワクチンにはAS03やMF59などのスクワレン系アジュバントが含まれている¹⁷⁻¹⁹⁾。

3. A (H5N1) 対策用プロトタイプワクチン

1) 開発戦略

プロトタイプワクチンは多くの免疫を持たないヒトに接

表1 インフルエンザワクチン免疫原性の評価基準 (EMEA)

	18-60 歳	≥ 60 歳
抗体陽転率(seroresponse rate)	≥ 40 %	≥ 30 %
抗体増加率(GMT ratio)	≥ 2.5 倍	≥ 2 倍
抗体陽性率(seropositive rate)	≥ 70 %	≥ 60 %

GMT: geometric mean titer (幾何平均抗体価)

- 1) 抗体陽転率: 「接種前 <10 倍かつ接種後 ≥ 40 倍」または「変化率が 4 倍以上」の割合
- 2) 抗体増加率 (抗体価変化率): 接種前後の幾何平均抗体価(GMT)の増加倍率
- 3) 抗体陽性率: 抗体価 ≥ 40 倍の割合
 - ・季節性インフルエンザワクチンでは少なくとも一項目以上満たすこと(EMEA)
 - ・プロトタイプワクチンでは, EMEA は三項目とも満たすこと, FDA は少なくとも一項目満たすことが条件

表2 株ごとの初回接種による免疫原性の評価*

		V 株 (1)		V 株 (2)		A 株	I 株
		L 群	H 群	L 群	H 群	H 群	H 群
抗体陽転率 (%)	V 株	44.7	70.9	65.1	80.5	1.0	20.0
	A 株	nt	nt	nt	nt	94.0	54.0
	I 株	nt	nt	nt	nt	12.0	87.0
抗体増加率 (倍)	V 株	2.6	4.7	3.7	5.1	1.4	2.0
	A 株	nt	nt	nt	nt	11.4	3.1
	I 株	nt	nt	nt	nt	1.6	9.4
抗体陽性率 (%)	V 株	56.7	85.1	25.5	52.3	0.0	15.0
	A 株	nt	nt	nt	nt	77.0	55.0
	I 株	nt	nt	nt	nt	3.0	74.0

*2 回目接種 21 日後

V: ベトナム, A: 安徽, I: インドネシア, nt: not tested

L 群: HA 蛋白量 5 μg を接種, H 群: HA 蛋白量 15 μg を接種

種し, 発症を予防するまたは軽症化させることを目的としているため, 開発に当たり考慮すべき条件として, ①初回接種で効果的な免疫記憶と高い抗体価の誘導が可能なこと, ②ワクチン株とパンデミック株とは一致しないことが予測されるため, ワクチン接種により幅広い交差免疫の誘導が可能なこと, ③短期間に製造される抗原量が少ないので, 少ない抗原量で効果的な免疫が誘導されること, などである³⁾.

2) 世界の開発状況

今までの開発状況をまとめると, ①アジュバントを添加せずに高い免疫原性を得るためには全粒子の方が優れており, スプリットワクチンでは 1 回 45 μg 以上の HA 蛋白量が必要なこと^{15,16,20,21)}, ②アルミ系アジュバントを用いるときは, 前もってウイルス抗原をアジュバントに吸着させること⁸⁻¹⁴⁾, ③アルミ系アジュバントを用いると抗原量を減らすことができること^{10,12,13)}, ④スクワレン系アジュバントは油性のためデITERジェントが入っており全粒子が用いられないこと, ⑤スクワレン系アジュバントでは注射

時に混合してもアジュバント効果を認め, 抗原量を減らすことができること^{7,17-19)}, ⑥アルミ系アジュバントおよびスクワレン系アジュバントを用いると, プライミング時でも交差免疫を誘導できるが, 異なるクレード, サブクレードの株に対する抗体価は低いこと^{12,13,18)}, ⑦prime-boost で接種すると高い抗体価と幅広い交差免疫が誘導できること^{22-26,27,28)}, などである.

プロトタイプワクチンの免疫原性の評価には, ヨーロッパ共同体で季節性インフルエンザワクチンに用いられている評価基準が準用されている (表1)²⁹⁾. なお, 季節性インフルエンザワクチンの免疫原性評価には広く赤血球凝集抑制 (HI) 法が用いられているが, プロトタイプワクチンでは HI 抗体測定方法が確立していないため, マイクロ中和 (MN) 法による免疫原性の評価が行われている.

3) 日本のプロトタイプワクチン (沈降インフルエンザワクチン H5N1) の開発

日本で開発された沈降インフルエンザワクチン H5N1 は, 発育鶏卵で増殖させたウイルス全粒子を前もって水酸化ア

表3 沈降新型インフルエンザワクチンの副反応 (%) (ベトナム株 H 群)

種類	皮下接種	筋肉内接種
副反応全体	92.4	75.3
注射部位反応		
紅斑	82.4	14.0
疼痛	69.4	71.3
そう痒感	61.2	8.0
腫脹	53.5	12.7
熱感	45.9	11.3
全身症状		
倦怠感	12.9	12.7
頭痛	2.0*	3.3

* 第 I 相試験

表4 インドネシア株・安徽株追加接種時の免疫原性の評価

ワクチン株	追加接種 7 日後			追加接種 21 日後		
	V 株	A 株	I 株	V 株	A 株	I 株
インドネシア株						
抗体陽転率 (%)	59.8	76.5	75.5	94.1	96.1	96.1
平均抗体価(GMT)	75.8	67.5	48.7	369.1	340.2	242.2
抗体増加率 (倍)	4.7	7.1	7.4	23.1	35.8	36.7
抗体陽性率 (%)	78.4	71.6	65.7	97.1	95.1	92.2
安徽株						
抗体陽転率 (%)	45.4	70.4	43.5	74.1	81.5	66.7
平均抗体価(GMT)	22.9	48.5	15.3	51.4	108.9	34.7
抗体増加率 (倍)	3.4	5.3	2.9	7.6	12.0	6.7
抗体陽性率 (%)	32.4	63.9	23.1	59.3	79.6	51.9

V:ベトナム, A:安徽, I:インドネシア

ルミニウムに吸着させたワクチンである。1回 5 μ g の HA 蛋白量 2 回接種で免疫記憶の誘導は可能であるが、初回接種では抗体価が低値なため、薬事法上 1回 15 μ g の HA 蛋白量で、3 週間隔で 2 回接種することになっている (表 2)^{8,9)}。副反応の面では筋注よりも皮下注の方が局所反応の出現頻度は高かったが、許容される程度と頻度であった (表 3)。

日本では先ずベトナム株 (クレード 1) を用いてプロトタイプワクチンが開発されたが、インドネシア株 (クレード 2.1) および安徽株 (クレード 2.3) を用いて製造されたプロトタイプワクチンも効果的なプライミング効果が認められている (表 2)¹⁰⁾。この結果は、日本のプロトタイプワクチンはパンデミック時にはパンデミック株を用いて製造したとしても、効果的なプライミング効果が期待できることを示している。

4) プロトタイプワクチンと prime-boost

本邦の prime-boost 研究は、ベトナム株接種 2 年後にインドネシア株または安徽株を追加接種して行われた²²⁾。多くの例では、接種前のベトナム株、インドネシア株、安徽株に対する抗体は陰性であったが、接種後 7 日目には抗体は検出され (二次免疫応答, anamnestic response)、接種後 21 日目には更に上昇していた (表 4)。また、初回ベトナム

株 5 μ g 接種群でも二次免疫応答が認められ、パンデミック対策として prime-boost で接種を行うならば、プライミング時の抗原量を節約することが可能と推察された (表 5)。

インフルエンザウイルスは変異しやすいウイルスであり、プロトタイプワクチンに用いる株とパンデミック株とは必ずしも一致しない。このため、プロトタイプワクチンで誘導される抗体には幅広い交差免疫が期待されている。本邦の検討を含め今までの報告によると、初回接種によって誘導される抗体は、交差免疫は認められるもののその抗体価は低値であり^{12,13,17,18)}、追加接種により誘導される抗体は、抗体価が高いうえに交差免疫の幅が広いことである²²⁻²⁸⁾。また、追加接種による交差免疫は、初回接種する株と追加接種する株が同じであっても異なっても誘導できるため、プロトタイプワクチンでプライミングしておき、パンデミック時にパンデミック株を追加接種することで、高い抗体価と幅広い交差免疫の誘導が期待され、実際的である。

5) プロトタイプワクチン H5N1 の今後

prime-boost により幅広い交差免疫が示されたことから、2009 年 4 月までは、希望者に前もって沈降インフルエンザワクチン H5N1 の初回接種を行い、H5N1 パンデミック時にプロトタイプワクチンを追加接種する対策が検討されて

表5 初回接種群別の追加接種後の免疫原性の評価（接種後21日）*

接種株	指標	H群			追加接種21日後		
		V株	A株	I株	V株	A株	I株
インドネシア株							
	抗体陽転率(%)	91.8	93.9	91.8	96.2	98.1	100.0
	抗体増加率(倍)	16.9	27.0	24.5	30.8	30.8	54.0
	抗体陽性率(%)	95.9	91.8	85.7	98.1	98.1	98.1
安徽株							
	抗体陽転率(%)	69.8	77.4	64.2	78.2	85.5	69.1
	抗体増加率(倍)	6.8	10.0	6.0	8.4	14.3	7.3
	抗体陽性率(%)	60.4	71.7	49.1	58.2	87.3	54.5

H群：初回接種をHA15 μ gで2回接種，L群：初回接種をHA5 μ gで2回接種，安徽株接種H群53人，L群55人，インドネシア株接種H群49人，L群53人，追加接種はそれぞれの株をHA15 μ g接種する。

V株：ベトナム株，A株：安徽株，I株：インドネシア株

* マイクロ中和法による抗体価の評価

表6 本邦インフルエンザA(H1N1)2009 ワクチンの免疫原性

	接種量	
	15 μ g* (98人)	30 μ g* (100人)
接種前		
GMT	7.9	6.6
抗体陽性率	8.2%	3.0%
1回接種後		
抗体陽転率	73.5%	87.0%
GMT	73.5	137.4
抗体増加率(倍)	9.3	21.0
抗体陽性率	78.6%	88.0%
2回接種後		
抗体陽転率	71.4%	88.0%
GMT	88.5	116.3
抗体増加率(倍)	8.7	17.8
抗体陽性率	77.6%	88.0%

15 μ g接種群は皮下注，30 μ g接種群は筋注

* HAタンパク量

いたが、一方ではパンデミックをおこすインフルエンザウイルスはH5N1とは限らないことから、沈降インフルエンザワクチンH5N1の接種に慎重な意見もあった³⁰⁾。S-OIVパンデミック後の2010年6月時点では、沈降型インフルエンザワクチンH5N1の事前接種は開始されていない。

4. インフルエンザA(H1N1)2009単味ワクチン (新型インフルエンザH1N1ワクチン)

1) 開発のコンセプト

A(H5N1)ワクチンの開発経験から、初回接種により効果的なプライミングを誘導させるためには、①アルミ系アジュバントに吸着させた全粒子ワクチンを用いるか、②スプリットワクチンにスクワレン系アジュバントを添加するか、③スプリットワクチン単独ならばHAタンパク量45 μ g以上を接種するか、④全粒子ワクチン単独ならばHA蛋白量

15 μ g以上を接種するかである。

S-OIV対策用ワクチンで問題となったのは、今回のパンデミック株が全くの新型であるのか、同じH1N1亜型であるAソ連型と交差免疫があるのかの判断であった。今回のパンデミック株を新型と判断したヨーロッパのメーカーは、(H5N1)ワクチンと同様にスクワレン系アジュバントを含んだA(H1N1)2009単味ワクチンを開発した^{31,32)}。一方、スクワレン系アジュバントを認可していない米国、オーストラリア、中国などはスプリットワクチンの剤形でA(H1N1)2009単味ワクチンを製造した³³⁻³⁷⁾。本邦では、沈降インフルエンザワクチンH5N1は小児への安全性が確立していないこと、H5N1を(H1N1)2009ウイルスに代えると新たな治験が必要なこと、すべてのメーカーで沈降インフルエンザワクチン製造が承認されていないことなどから、単味スプリットワクチンを製造した。

表7 本邦インフルエンザ A(H1N1)2009 ワクチンの安全性の検討

HA タンパク量	1 回接種後		2 回接種後	
	15 μ g (100人)	30 μ g (100人)	15 μ g (100人)	30 μ g (100人)
局所反応				
全体	57 %	33 %	57 %	31 %
発赤	38 %	6 %	37 %	3 %
腫脹	18 %	3 %	22 %	2 %
疼痛	36 %	30 %	36 %	29 %
熱感	23 %	8 %	15 %	6 % ^f
かゆみ	21 %	7 %	24 %	3 %
全身反応				
発熱	1 %	4 %	2 %	4 %
体調変化	27 %	28 %	23 %	23 %
頭痛	12 %	18 %	12 %	12 %
倦怠感	20 %	20 %	12 %	11 %

15 μ g 接種群は皮下注, 30 μ g 接種群は筋注

表8 A(H1N1)2009 スプリットワクチン* の免疫原性 (HI 抗体)

	オーストラリア		中国	イギリス	USA	日本
	18~49歳	50~64歳	18~60歳	18~50歳	18~64歳	20~59歳
接種前						
人数	58	62	660	25	150	98
GMT	18.3	15.0	6.9	7.1	21.9	7.9
抗体陽性率	32.8%	27.4%	4.3%	12.0%	26%	8.2%
1 回接種後						
人数	58	62	660	25	145	98
抗体陽転率	77.6%	71.0%	52%	96%	73.5%	
GMT	277.3	140.4	237.8	95.6	1405	73.5
抗体増加率	15.1	9.4	34.5	13.5	64.3	9.3
抗体陽性率	96.6%	93.5%	97.1%	63%	98%	78.6%
2 回接種後						
人数	55	62	660	25		98
抗体陽転率	83.6%	80.6%		74%		71.4%
GMT	320.0	215.6	212.9	194.3		88.5
抗体増加率	18.0	14.4	30.9	27.4		8.7
抗体陽性率	98.2%	98.4%	97.1%	74%		77.6%

*15 μ g 接種群

(文献 31,33,34,35,37 より作図)

2) 臨床研究のデザイン

臨床研究計画時, A (H1N1) 2009 ウイルスが A ソ連型と交差免疫があれば, 多くの人で A (H1N1) 2009 ウイルスに対する抗体が検出されなくても A ソ連型罹患により免疫記憶が誘導されており, スプリットワクチン 1 回接種で効果的な免疫が誘導できるが, A ソ連型との交差免疫がなければ, スプリットワクチン 15 μ g を 2 回接種しても効果的なプライミングが誘導できないと予測された。この結果多くの国で行われたスプリットタイプの (H1N1) 2009 ワクチン治験は, 1 回量 15 μ g と 30 μ g を 2 回接種し, 免疫原性と安全性をみるものであった。

3) スプリットワクチンの臨床研究

(H1N1) 2009 単味ワクチンを成人に接種した国立病院機

構の研究によると, 15 μ g 接種群では, 接種前の抗体保有率 (HI 抗体 \geq 40 倍の割合) が 8.2% であったのに対して 1 回接種後 78.6%, 30 μ g 接種群では, 接種前の抗体保有率が 3.0% であったのに対して 1 回接種後 88.0% と, いずれの接種量でも 1 回の接種で EMEA の評価基準を満たし, 更に平均抗体増加率, 抗体陽転率も基準を満たしていた。さらに計画通り初回接種 3 週後に 2 回目接種を行ったが, 効果的な免疫賦活は認められなかった (表 6)³⁷⁾。なお, 2 回の接種による副反応は容認される範囲であった (表 7)。

オーストラリア, 中国, 米国などで行われたスプリットワクチンの免疫原性の結果を表 8 に示した^{31,33-35,37)}。本邦の結果と同様に 1 回の接種で効果的な二次免疫応答が認められ, 一部の結果を除き 2 回目接種による効果的な免疫増

表9 アジュバント添加インフルエンザ A(H1N1)2009 ワクチンの免疫原性 (HI 抗体)

HA タンパク量	ノバルテイス				GSK	
	MF59 添加		MF59 なし		AS03 添加	AS03 なし
	3.75 μ g	7.5 μ g	7.5 μ g	15 μ g	5.25 μ g	21 μ g
接種前						
人数	25	26	25	25	56	61
GMT	6.9	6.1	5.1	7.1	10.6	11.7
陽性率 (\geq 1:40)	4%	12%	4%	12%	12.5%	13.1%
1 回接種後						
人数	25	26	25	25	56	61
抗体陽転率	88%	73%	72%	52%	98.2%	95.1%
GMT	199.1	157.4	96.1	95.6	541.7	530.5
抗体増加率	29.7	25.9	18.9	13.5	51.3	45.3
抗体陽性率	92%	77%	72%	63%	98.2%	98.4%
2 回接種後						
人数	25	26	25	25		
抗体陽転率	92%	92%	79%	74%		
GMT	305.4	321.3	116.6	194.3		
抗体増加率	45.6	53.0	22.9	27.4		
抗体陽性率	100%	92%	79%	74%		

GSK : グラクソスミスクライン

(文献 31,32 より作図)

強は認められなかった。スプリットワクチン臨床研究の結果から、多くの成人は A ソ連型罹患により (H1N1) 2009 ウイルスに対する免疫記憶は誘導されており、小児、妊婦、高齢者に対しても季節性ワクチンと同じ接種方式で (H1N1) 2009 ワクチンを接種すると効果的な免疫誘導が期待されると推察された。実際 10 歳以上 (本邦では 13 歳以上) 小児、妊婦、高齢者とも 1 回の接種で効果的な免疫誘導が認められている^{36,38,39)}。

4) スクワレン系アジュバント入りワクチンの臨床研究

スクワレン系アジュバントである AS03 および MF59 入りワクチンの成人における臨床研究では、アジュバントを加えると少ない抗原量で、1 回の接種でブースティングが認められるものの、アジュバントを加えない通常量の HA 蛋白質量で誘導される免疫効果と同等であった (表 9)^{31,32)}。しかし、局所の副反応出現頻度は、アジュバント入りの方がアジュバントを含まないワクチンよりも高い傾向が認められている。なお、HI 抗体価は報告ごとに異なっているが、インフルエンザウイルスに対する標準血清がないため、施設間の抗体価を比較し、論ずることは危険である。

5) (H1N1) 2009 ウイルスの流行と (H1N1) 単味ワクチンの今後

2010 年 6 月現在、(H1N1) 亜型はソ連系が消失しカリフォルニア系が季節性となり、(H3N2) 亜型は香港型が持続し、B 型はビクトリア系とヤマガタ系がシーズンに応じて流行すると予測されている。この結果、WHO が推奨する 2010/11 シーズンの季節性インフルエンザワクチンに、

(H1N1) はカリフォルニア系が、(H3N2) は、昨シーズンに用いた A/ウルグアイ/716/2007 と抗原性が大きく異なる A/Perth /16/2009 類似株が、B 型にはビクトリア系が用いられることになっている。なお、A 香港型出現時、パンデミックをおこした株から大きく変異した株が出現したのは 4 年後である⁴⁰⁾。ウイルス変異の面からは、パンデミック出現後 3 年間はカリフォルニア系のワクチン接種で誘導された抗体は効果が持続すると予測される。また、ワクチン接種で誘導された抗体は数ヶ月間しか持続しないという意見もあるが、(H5N1) ワクチンの研究によると、ブースティングされた抗体は少なくとも 6 ヶ月間以上陽性が維持されている²⁸⁾。現在 (H1N1) 2009 ワクチンにより誘導された抗体の持続についての研究が行われており、結果が待たれている。

まとめ

本邦で開発された沈降インフルエンザワクチン H5N1 は、優れたプライミング効果があり、prime-boost で接種すると高いブースター効果と幅広い交差免疫が認められているが、H5N1 がパンデミックをおこすことが不確実な時点で、このワクチンを希望者に接種するのは時期尚早であろう。一方、パンデミック (H1N1) 2009 ウイルスは全くの新型ウイルスではなく、多くの人で抗体は検出できないが、多くの人は免疫記憶を持っているウイルスであり、(H1N1) 2009 単味ワクチンを季節性インフルエンザワクチンと同じ方式で接種したところ良好な免疫反応が認められた。

文 献

- 1) Novel swine-origin influenza A (H1N1) virus investigation team: Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 360:2605-15, 2009
- 2) CDC: Updates: Novel influenza A (H1N1) virus infection-Mexico, March-May, 2009. *MMWR* 58:585-589, 2009
- 3) Hayden FG, Howard WA, Palkonyay L, Kieny MP: Report of the 5th meeting on the evaluation of pandemic influenza prototype vaccines in clinical trials: World Health Organization, Geneva, Switzerland, 12-13 February 2009. *Vaccine* 27: 4079-4089, 2009
- 4) Uyeki TM: Human infection with highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus: review of clinical issues. *Clin Infect Dis* 49:279-90, 2009
- 5) 中山哲夫: ワクチンと免疫. *小児科臨床ピクシス* 4:14-17, 2008
- 6) Ehrlich HJ, Muller M, Oh HML, Tambyah PA, Joukhadar C, Montomoli E, Fisher D, Berezuk G, Fritsch S, Low-Baselli A, Vartian N, Bobrovsky R, Pavlova BG, Pollabauer EM, Kistner O, Noel Barrett P: A clinical trial of whole-virus H5N1 vaccine derived from cell culture. *N Engl J Med* 358:2573-84, 2008
- 7) Keitel W, Groth N, Lattanzil M, Praus M, Hibert AK, Borkowski A, Tsai TF: Dose ranging of adjuvant and antigen in a cell culture H5N1 influenza vaccine: safety and immunogenicity of a phase 1/2 clinical trial. *Vaccine* 28:840-848, 2010
- 8) 日本医師会治験促進センター: BK-PIFA の健康成人を対象とした検証的試験治験総括報告書, 2007
- 9) 日本医師会治験促進センター: KIB-PIA02 の健康成人を対象とした検証的試験治験総括報告書, 2007
- 10) 日本医師会治験促進センター: 沈降新型インフルエンザワクチンの持続性及び交叉免疫性に関する臨床試験(JMA-II A00017)試験総括報告書, 2009
- 11) Lin J, Zhang J, Dong X, Hanhua-Fang, Chen J, Su N, Gao Q, Zhang Z, Liu Y, Wang Z, Yang M, Sun R, Li C, Lin S, Ji M, Wang X, Wood J, Feng Z, Wang Y, Yin W: Safety and immunogenicity of an inactivated adjuvanted whole-virion influenza A (H5N1) vaccine: a phase I randomized controlled trial. *Lancet* 368: 991-997, 2006
- 12) Wu J, Fang H, Chen J, Zhou J, Feng Z, Li C, Qiu Y, Liu Y, Lu M, Liu L, Dong S, Gao Q, Zhang X, Wang N, Yin W, Dong X: Immunogenicity, safety, and cross-reactivity of an inactivated, adjuvanted, prototype pandemic influenza (H5N1) vaccine: a phase II, double-blind, randomized trial. *Clin Infect Dis* 48: 1087-1095, 2009
- 13) Fazekas G, Martosne-Mendi R, Jankovics I, Szilvasy I, Vajo Z: Cross-reactive immunity to clade 2 strains of influenza virus A subtype H5N1 induced in adults and elderly patients by Fluval, a prototype pandemic influenza virus vaccine derived by reverse genetics, formulated with a phosphate adjuvant, and directed to clade 1 strains. *Clin Vaccine Immunol* 16: 437-443, 2009
- 14) Nolan TM, Richmond PC, Skeijo MV, Pearce G, Harte G, Formica NT, Hoschler K, Bennet J, Ryan D, Papanoum K, Basser RL, Zambon MC: Phase I and II randomised trials of the safety and immunogenicity of a prototype adjuvanted inactivated split-virion influenza A (H5N1) vaccine in healthy adults. *Vaccine* 26: 4160-4167, 2008
- 15) Bresson J, Perronne C, Launay O, Gerdil C, Saville M, Wood J, Hoschler K, Zambon M: Safety and immunogenicity of an inactivated split-virion influenza A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) vaccine: phase I randomised trial. *Lancet* 367: 1657-1664, 2006
- 16) Keithel WA, Cambell JD, Treanor JJ, Walater EE, Parel SM, He F, Noah DL, Hill HI: Safety and immunogenicity of an inactivated influenza A/H5N1 vaccine given with or without aluminum hydroxide to healthy adults: results of a phase I - II randomized clinical trial. *J Infect Dis* 198: 1309-1316, 2008
- 17) Leroux-Roels I, Borkowski A, Vanwollenghem T, Drame M, Clement F, Hons E, Devaster J, Leroux Roels G: Antigen sparing and cross-reactive immunity with an adjuvanted rH5N1 prototype pandemic influenza vaccine: a randomized controlled trial. *Lancet* 370: 580-589, 2007
- 18) Levie K, Leroux-Roels I, Hoppnbrouwers K, Kervyn A, Vandermeullen C, Forgius S, Leroux-Roels G, Pichot S, Kusters I: An adjuvanted, low-dose, pandemic influenza A (H5N1) vaccine candidate is safe, immunogenic, and induces cross-reactive immune response in healthy adults. *J Infect Dis* 198: 642-649, 2008
- 19) Bernstein DI, Edwards KM, Dekker CL, Belshe R, Talbot HKB, Graham IL, Noah DL, He F, Hill H: Effects of adjuvants on the safety and immunogenicity of an avian influenza H5N1 vaccine adults. *J Infect Dis* 197:667-75, 2008
- 20) Treanor J, Cambell JD, Zangwill KM, Rowe T, Wolff M: Safety and immunogenicity of an inactivated subvirion influenza A (H5N1) vaccine. *N Engl J Med* 354 1343-1351, 2006
- 21) Beigel JH, Voell J, Hugng C, Burbelo PD, Lane C: Safety and immunogenicity of multiple and higher doses of an inactivated influenza A/H5N1 vaccine. *J Infect Dis* 200:501-9, 2009
- 22) 日本医師会治験促進センター: 沈降新型インフルエンザワクチンのブースター効果に関する臨床試験(JMA-II A00018)試験総括報告書, 2009
- 23) Goji NA, Nolan C, Hill H, Wolff M, Noah DL, Williams TB, Rowe T, Treanor JJ: Immune responses of healthy subjects to a single dose of intramuscular inactivated influenza A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) vaccine after priming with an antigenic variant. *J Infect Dis* 196 635-641, 2008
- 24) Stephenson I, Nicholson K, Hoschler K, Zambon MC, Hancock K, DeVos J, Katz JM: Antigenically distinct MF59-adjuvanted vaccine to boost immunity to H5N1. *N Engl J Med* 359: 1631-1633, 2008
- 25) Lin J, Li C, Wang X, Su W, Liu Y, Qiu Y, Yang M, Chen J, Fang H, Dong X, Yin W, Feng Z: Antibody persistence after 2-dose priming and booster response to :

- third dose of an inactivated, adjuvanted, whole-virion H5N1 vaccine. *J Infect Dis* 199: 184-187, 2009
- 26) Zangwill K, Treanor JJ, Cambell JD, Noah DL, Ryea J: Evaluation of the safety and immunogenicity of a booster (third) dose of inactivated subvirion H5N1 influenza vaccine in humans. *J Infect Dis* 197: 580-583, 2008
 - 27) Schwarz TF, Horacek T, Knuf M, Damman H, Roman F, Drame M, Gillard P, Jilg W: Single dose vaccination with AS03-adjuvanted H5N1 vaccines in a randomized trial induces strong and broad immune responsiveness to booster vaccination in adults. *Vaccine* 27:6284-90, 2009
 - 28) Leroux-Roels I, Roman F, Forgius S, Maes C, Boever F, Drame M, Gillard P, van der Most R, Van Mechelen M, Hanon E, Leroux-Roels G: Priming with AS03-adjuvanted H5N1 influenza vaccine improves the kinetics, magnitude and durability of the immune response after a heterologous booster vaccination: an open non-randomised extension of a double-blind randomises primary study. *Vaccine* 28:849-57, 2010
 - 29) 庵原俊昭：沈降インフルエンザワクチン H5N1 の開発と今後。 *インフルエンザ* 11:63-68, 2010
 - 30) 庵原俊昭：わが国におけるプロトタイプワクチン臨床研究の概要。 *日本医師会雑誌* 137: 2077-2080, 2009
 - 31) Clark CW, Pareek M, Hoschler K, Dillon H, Nicholson KG, Groth N, Stephenson I: Trial of 2009 influenza A (H1N1) monovalent MF59-adjuvanted vaccine. *N Engl J Med* 361:2424-35, 2009
 - 32) Roman F, Vaman T, Gerlach B, Markendorf A, Gillard P, Devaster J: 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* 28:1749-45, 2010:
 - 33) Geenberg ME, Lai MH, Hartel GF, Wichems CH, Gittleson C, Bennet J, Dawson G, Hu W, Leggio C, Washington D, Bassler RL: Response to a monovalent 2009 influenza A (H1N1) vaccine. *N Engl J Med* 361: 2405-13, 2009
 - 34) Zhu F, Wang H, Fang H, Yang J, Lin X, Liang X, Zhang X, Pan H, Meng F, Hu Y, Liu W, Li C, Li W, Zhang X, Hu J, Peng W, Yang B, Xi P, Wang H, Zheng J: A novel influenza A (H1N1) vaccine in various age group. *N Engl J Med* 361:2414-23, 2009
 - 35) Plennevaux E, Sheldon E, Blatter M, Reeves-Hoche M, Denis M: Immune response after a single vaccination against 2009 influenza A H1N1 in USA: a preliminary report of two randomized controlled phase 2 trials. *Lancet* 375:41-48, 2010
 - 36) Liang X, Wang H, Wang J, Fang H, Wu J, Zhu F, Li R, Xia S, Zhao Y, Li F, Yan S, Yin W, An K, Feng D, Cui X, Qi F, Ju C, Zhang Y, Guo Z, Chen P, Chen Z, Yan K, Wang Y: Safety and immunogenicity of 2009 pandemic influenza A H1N1 vaccines in China: a multicentre, double-blind randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 375: 56-66, 2010
 - 37) 伊藤澄信：新型インフルエンザワクチンに関する有識者との意見交換会（平成 21 年 11 月 11 日），資料 1
 - 38) 厚生労働省：新型インフルエンザワクチンに関する有識者との意見交換会（平成 21 年 11 月 11 日），会議資料
 - 39) CDC: Update on influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccines. *MMWR* 58: 1100-1101, 2009
 - 40) Pereira MS, Chakraverty P, Schild GC, Coleman MT, Dowdle WR: Prevalence of antibody to current influenza viruses and effect of vaccination on antibody responses. *Br Med J* 4,701-703, 1972

Evaluation of alum-adjuvanted whole virus influenza vaccine and future aspects of influenza A (H1N1) 2009 vaccine

Toshiaki IHARA

National Hospital Organization Mie National Hospital, Department of Pediatrics
357 Ohsato-Kubota, Tsu, Mie, 514-0125, Japan
ihara@mie-m.hosp.go.jp

For preparedness of H5N1 pandemic, several types of influenza prototype vaccine have been developed in several countries. Alum-adjuvanted whole virus influenza vaccine, which has been developed in Japan, had excellent priming effect after two doses, and the third shot of the heterologous strain to the subjects primed two years previously elicited strong and broad cross immunity. Moreover, solicited local and general reactions were acceptable. However, influenza A (H1N1) 2009 virus, which had much different antigenicity from A Russia lineage, was detected in April 2009 and developed pandemic. According to clinical studies of (H1N1) 2009 monovalent vaccine in adults, split vaccine could induce appropriate secondary immune responses after one dose. These results suggested that adults had immune memory to (H1N1) 2009 virus, and that vaccination strategy to this virus was efficient by using seasonal influenza vaccination strategy. Additionally, since WHO speculates (H1N1) 2009 virus could be endemic in near future, the (H1N1) 2009 virus-derived strain is included in the 2010/11 seasonal influenza vaccine.