

201235025A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業

次世代型インフルエンザワクチンの実用化のための
ガイドラインに関するガイダンス作成の研究

平成 24 年度 総括研究報告書

研究代表者 山西 弘一

平成 25 (2013) 年 3 月

目次

総括研究報告

次世代型インフルエンザワクチンの実用化のためのガイドラインに関するガイダンス作成の研究 … 1

経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発に関するガイダンスの作成について …… 2

【資料】

経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発に関するガイドライン(案) …… 5

【参考文献】 …… 9

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
総括研究報告書

次世代型インフルエンザワクチンの実用化のためのガイドラインに
関するガイダンス作成の研究

研究代表者 山西 弘一 独立行政法人医薬基盤研究所 理事長兼研究所長

【研究要旨】

近年トリからヒトに感染し高い致死率を有する高病原性鳥インフルエンザウイルスの発生やメキシコを発端に世界流行を起こしたパンデミックインフルエンザウイルス A/H1N1pdm 等の新興・再興感染症の脅威が大きな社会問題となっている。厚生労働省の「ワクチン産業ビジョン」においても、ワクチンの薬事承認の手続きを円滑に進めるために、品質・有効性・安全性の確認に関し開発時に利用されるガイドラインの作成等、ワクチンの特性を踏まえた円滑なシステムの構築の重要性が提言されているところである。

これらの提言を踏まえ、山西弘一を研究代表者とする本研究班では、平成19年度から22年度までの4年間にわたり、ワクチン開発における臨床評価ガイドライン等の作成に関する研究等を行い「感染症予防ワクチンの非臨床及び臨床試験ガイドライン」及び「これらのガイドラインに関するQ&A」を作成してきた。

最近、最も懸念されることは、多くの人々が免疫を持たない型のインフルエンザ（新型インフルエンザ）ウイルスが発生した場合には、急速に感染拡大して世界的大流行（パンデミック）を引き起こし、甚大な健康被害をもたらすことである。

新型インフルエンザ対策行動計画においては、パンデミックに対応するため、新型インフルエンザ発生後、ウイルス株が同定されてから6ヶ月以内に全国民分のパンデミックワクチンを製造することを目標としている。

新型インフルエンザのパンデミックを防止するためには、パンデミック発生前、あらかじめ、ワクチン製造のモデルとなるインフルエンザウイルスを用いたワクチン（プロトタイプワクチン）を開発し、ヒトにおける免疫原性及び安全性を確認しておくことで、パンデミック発生時に同等の製造方法及び品質管理方法に基づいて、パンデミックワクチンを迅速に製造・供給が可能となるよう準備しておくことが重要である。そこで、本研究班において23年度には、プロトタイプワクチン及びこれに基づくパンデミックワクチンの製造販売承認申請に必要な品質、非臨床及び臨床に関する資料について検討し、「パンデミックインフルエンザに備えたプロトタイプワクチンの開発等に関するガイドライン（案）」を作成した。

一方で、インフルエンザの流行予防には、効果の高いワクチンが不可欠であることが言われてきた。しかし現行のインフルエンザワクチンは必ずしも感染防御には高い効果がなく、さらに新型インフルエンザにおいてはその流行株の予測が難しく、流行株予測に基づく現行の季節性インフルエンザワクチンと同じ接種方法ではその効果に限界がある。そこで次世代のワクチンとしては、より効果の高いワクチンの開発が望まれている。インフルエンザのような上気道の粘膜から病原体が侵入し感染する急性呼吸器感染症では、粘膜からの感染によって誘導される粘膜免疫、特に分泌型のIgA抗体の働きが重要な意味を持つ。

そこで、24年度、本研究班では、これまで本研究班で作成したガイドラインやガイダンスを基に、投与経路の異なるものとして経鼻不活化インフルエンザワクチンの製造販売承認申請に必要な品質、非臨床及び臨床に関する資料について検討し、「経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発に関するガイドライン(案)」を作成した。

本ガイドライン（案）の具体的な検討項目については、次のとおりである。

特徴、概要、免疫原性（ワクチンの不活化の方法や形状の差異と免疫原性、新しい経鼻アジュバントの開発とワクチン投与量）、非臨床試験、臨床試験（有効性の評価、安全性）など、

研究分担者

倉田 毅 国際医療福祉大学塩谷病院 中央検査部長
濱口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部長
宮崎義継 国立感染症研究所 生物活性物質部長
川上浩司 京都大学大学院 医学研究科教授
伊藤澄信 独立行政法人国立病院機構本部総合研究センター 臨床研究統括部長・治験研究部長
駒瀬勝啓 国立感染症研究所 ウイルス第3部第1室長
石井 健 独立行政法人医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクトリーダー

研究協力者

田代真人 国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター長
喜田 宏 北海道大学大学院獣医学研究科 微生物学教室 教授
長谷川秀樹 国立感染症研究所感染病理部長

次世代型インフルエンザワクチンの実用化のためのガイドラインに関するガイダンス作成の研究

平成23年度～24年度までの2カ年において、本研究では、危機管理を踏まえたワクチンガイドライン作成の研究及び本研究代表者である山西弘一を研究代表者とする「ワクチン開発における臨床評価ガイドライン等の作成に関する研究」においてまとめた「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」及び「感染症予防ワクチンの臨床試験ガイドライン」に関する次世代型インフルエンザワクチンの実用化のためのガイダンス作成の研究を行うこととなっている。平成24年度は、危機管理を踏まえた次世代ワクチンガイダンス作成を中心に研究を行った。

現行のインフルエンザワクチンよりも感染防御効果が高く変異ウイルスに対する交叉防御効果の高いワクチンの開発が求められている。そこで、今回、次世代ワクチンとしての経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発に関しそのガイダ

ンス（案）を作成した。本ガイダンス（案）については、別紙資料のとおりである。

また、本ガイドライン（案）の概要及び検討内容については、次のとおりである。

経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発に関するガイダンスの作成について

～次世代ワクチンとしての経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発に関するガイダンス（案）について～

○本ガイダンス（案）のタイトルについては、当初経鼻インフルエンザワクチンのガイダンス（仮称）（案）を考えていたが、研究班で検討したところ、米国で既に承認されている生ウイルスワクチンについては本ガイダンスの対象としない事となり「経鼻不活化インフルエンザワクチンのガイダンス（案）」とした。

○本ガイダンス（案）は、感染防御効果が高く変異ウイルスに対しても有効性が期待できる次世代の経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発

を促進する為のガイダンスを示すことにある。

○本ガイダンス（案）は、経鼻インフルエンザワクチンの一般的な特徴について述べ、現在開発途上の経鼻不活化インフルエンザワクチンそれぞれの概要、免疫原性、安全性、有効性の評価、等について説明する。最後に、現行注射ワクチンの改善策として高い有効性、幅広い交叉防御能力及びおよび長期的な有効性を兼ね備えた経鼻不活化ワクチンの開発に対する指針案に向けた考え方を示すものである。

○本ガイダンス（案）の対象範囲は、経鼻不活化インフルエンザワクチンに適用される。生ワクチン及びHA以外の抗原への免疫原性を主として期待するワクチンは、対象外となる。なお、本ガイダンスの対象とされないワクチンの開発を否定するものではない。

○本ガイドライン（案）の開発等の基本的な考え方は、現行の皮下接種インフルエンザワクチンと比較し感染防御効果、変異ウイルスに対する交叉防御効果の高い経鼻インフルエンザワクチンの開発に際し参考となる現在開発途上の経鼻不活化インフルエンザワクチンについて概要、免疫原性、非臨床試験、臨床試験についての考え方を記載した。

○経鼻不活化インフルエンザワクチンの特徴に関しては、注射接種によるワクチンと異なり上気道粘膜上に分泌型 IgA 抗体を誘導し感染防御、交叉防御に有効性が高いという点である。

○経鼻不活化インフルエンザワクチンの免疫原性に関して不活化の方法、ワクチンの形状と免疫原性の保持について、また新しい経鼻アジュバントについて記載した。

○経鼻不活化インフルエンザワクチンの非臨床試験に関して、投与経路を経鼻としての安全性評価が必要である点、経鼻噴霧に使用するデバイスを用いた鼻腔内での製剤分布を考慮し、嗅神経、食道、気管での安全性の考慮について記載した。

○経鼻不活化インフルエンザワクチンの臨床試

験については、有効性及び安全性の評価について記載した。有効性の評価については現在注射型ワクチンの評価に使われている血清の抗体価のみでなく粘膜免疫応答も考慮した有効性の評価が必要であり、議論の結果、血清中の HI 抗体価や中和抗体価に加えた/又は（and/or）鼻腔洗浄液中の中和抗体価、及び HA 特異的 IgA 抗体価、血中の HA 特異的 IgA 抗体価等を加味した評価法が有用であることを記載した。

経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発に関するガイドライン(案)

1. はじめに

経鼻インフルエンザワクチンが注射型の不活化ワクチンよりも有効性が高い可能性は1960年代から示唆されていた。その根拠の一つは、インフルエンザウイルスを（経鼻）感染したマウスのほうが、不活化ワクチンを注射したマウスよりもA型内の抗原変異ウイルスのチャレンジ感染に対する交叉防御能力が高い、という報告である。その後、経鼻インフルエンザワクチンの有用性が期待されるようになった背景には、インフルエンザが急性呼吸器感染症でありウイルス感染が気道の粘膜上皮に限局して起こるといふ感染病理学的特徴と、その防御には全身の免疫機構のみでなく粘膜の免疫機構が重要な働きをしていることの知見の蓄積がある。本文書は先ず、経鼻インフルエンザワクチンの一般的な特徴について述べ、現在開発途上の経鼻不活化インフルエンザワクチンそれぞれの概要、免疫原性、安全性、有効性の評価、等について説明する。最後に、現行注射ワクチンの改善策として高い有効性、幅広い交叉防御能力及び長期的な有効性を兼ね備えた経鼻不活化ワクチンの開発に向けた考え方を示す。

2. 経鼻インフルエンザワクチンの特徴

インフルエンザワクチンを注射ではなく、ウイルスの感染と同様に気道経由で投与した方が感染防御効果が高い、という動物レベルでの実験的証拠が数多く報告されてきている。その根拠は、注射ワクチンによっては全身の免疫系が刺激され血清のIgG応答が誘導されるが、経鼻不活化ワクチン投与によっては全身の免疫系のみならず抗原投与局所及び感染の場での粘膜免疫応答系が刺激され、血清のIgG抗体に加えて気道の分泌型IgA抗体応答を同時に誘導できるからである。

このIgA抗体とIgG抗体を同時誘導することの感染防御上の長所は次のようなものである。

- (1) 経鼻ワクチン投与によって、上気道の粘膜局所に、分泌型IgA抗体が速やかに且つ多量に分泌され、血清由来のIgG抗体が遅れて濃度勾配に従って滲出する。また、下気道特に肺胞領域には主に血清由来のIgG抗体が滲出する。
- (2) これら上気道粘膜局所のHAに特異的なIgA抗体は、侵入ウイルスと速やかに結合することによって感染を阻止する。
- (3) 分泌型IgA抗体は多量体であり、単量体のIgG抗体に比較して交叉反応性が高く、同じ亜型の抗原変異ウイルス株の感染をも抗原の類縁性に依存して交叉防御する。
- (4) 分泌型IgA抗体は全身の粘膜に誘導されるので経鼻接種ワクチンでは鼻粘膜のみならず、咽頭～肺胞に至る幅広い領域に感染防御免疫が賦与される。
- (5) さらに血清から肺胞領域に浸出するIgG抗体は、インフルエンザ肺炎等の重症化の防止に働く。

これまでに、経鼻インフルエンザワクチンとして、弱毒生ウイルスワクチン(LAIV, live attenuated influenza vaccines)がロシアで使われ、ついで2003年米国のFDAによって低温

馴化生ウイルスワクチン (FluMist, MedImmune) が認可され、2011年から欧州でもFluMistの使用が承認されている。一方、経鼻不活化ワクチンは、開発途上にある。同じ経鼻経由で投与されるワクチンであっても、生ウイルスワクチンと不活化ワクチンでは、その免疫応答の質や量のみでなく、その投与に伴って配慮すべき点が異なる。

3. 開発途上の経鼻不活化インフルエンザワクチン

(1) 概要

現在のところ、承認された経鼻不活化ワクチンは無く、いずれも開発途上にある。臨床研究まで行われている経鼻不活化ワクチンの例として、ウイルス粒子に内在する一本鎖 RNA (ssRNA) のアジュバント作用を利用した全粒子不活化ワクチン、細菌の外膜蛋白質をアジュバントとしたプロテオソームワクチン、oil-in-water アジュバントを用いたナノエマルジョンワクチン等の報告がある (参考の臨床研究例参照)。これら経鼻不活化ワクチンの臨床研究の試みのいくつかは、現行の注射型ワクチンよりも有効性が高いことを示唆しており、近い将来、注射型ワクチンに変わるものとして、あるいは注射型ワクチンと並立して承認されることが期待される。

不活化ワクチンは生ウイルスワクチンと異なり、接種後感染性ウイルスの放出がなく、野生株との遺伝子再集合のリスクや免疫抑制状態のヒトへの感染のリスクがない。従って、生ワクチンを投与できない高齢者・免疫抑制患者・妊婦・糖尿病等の患者への投与も可能と考えられる。また、既存の免疫がある人への追加免疫による免疫応答の増強を期待できる。

(2) 免疫原性

抗原の種類 (スプリットワクチン、サブユニットワクチン、組み換えワクチン、あるいは全粒子ワクチン等)、併用するアジュバントの種類等によって、免疫応答の質や量が異なる。以下に、ワクチンの形状・アジュバントの性質・ワクチンの投与量等について、免疫原性等の観点から整理する。

ア ワクチンの不活化の方法や形状の差異と免疫原性

① ウイルスの不活化の方法 (ワクチンの免疫原性を確保するために、不活化法の検討が必要である。) : インフルエンザワクチンの不活化の方法としてホルマリンや β -プロピオラクトン(BPL)による化学処理がある。臨床研究例の幾つかではホルマリン処理のものが使用されている。他に加熱不活化処理されたワクチンが用いられている臨床研究例もある。

② ワクチンの形状 : a) 経鼻ワクチンとしては、不活化全粒子ワクチンの方がスプリットワクチンに比べて免疫原性が高いことが、非臨床試験及び臨床試験で明らかとなっている。b) 免疫原性の低い高病原性 H5N1 不活化全粒子ワクチンについてはアジュバントの併用により免疫増強できる。

③ ワクチンの免疫原性の保持 : 通常 1 年間程度の保存期間が想定されるが、保存期間が長くなると、ワクチンやアジュバントの変性が起こり、免疫原性や増強作用が低下する可能性が考えられる。一定期間、免疫原性を維持できる管理方法の確立が必要である。また、簡易な免疫原性の評価法の確立が望まれる。

イ 新しい経鼻アジュバントの開発とワクチン投与量

① ワクチンの投与量：安全性・経済性の観点から可能な限り少量のほうが望ましい。現行の皮下注射3価季節性インフルエンザワクチンでは、生物学的製剤基準において、1株あたりのスプリットワクチンのHA含量が15 μ g/0.5mL以上とされている。現時点では経鼻不活化ワクチンの投与量に基準はない。

② 臨床研究例での投与量：健康成人において45 μ gのHA含量の一価の不活化全粒子ワクチンを、3週間隔の2回経鼻投与することで、現行の注射ワクチン(15 μ g HA含量)のEMAの有効性の基準値を超える血清のHI抗体応答を誘導することが報告されている。さらに、インフルエンザに関する免疫記憶のないヒトにも、45 μ gのHA含量の一価の不活化全粒子ワクチンを3回経鼻投与することによって、注射ワクチンのEMAの有効性の基準値を超える血清の抗体応答を誘導できることが示されている。

③ スプリットワクチンの免疫原性を高める方策：臨床研究でも示されているように、経鼻ワクチン抗原としてスプリットワクチン(やサブユニットワクチン)を投与して高いレベルの防御免疫応答を誘導するには、アジュバントの併用が不可欠である。ワクチンの抗原量を減らしたり、免疫記憶を持たない個体に対して有効な経鼻ワクチンを実現するためには、安全で有効な粘膜アジュバントの開発が必要である。

(3) 非臨床試験

経鼻ワクチン製剤の非臨床安全性試験においては、投与経路を経鼻として小動物に投与した時の安全性について評価が必要である。また、経鼻噴霧投与に使用するデバイスを用いた時の鼻腔内での製剤分布を考慮して、鼻腔上部に分布している嗅神経への安全性や、製剤成分が食道や気管に入った場合の安全性について考察することが製剤の安全性評価において有用である。

アジュバントや他のワクチン添加物単独の試験については、同投与ルートで認可されたワクチン又は医薬品での実績等を勘案して、必要に応じて実施を検討する。

(4) 臨床試験

ア 有効性の評価

① 発症予防効果(無作為化二重盲検比較試験)：ワクチンの有効性は、発症予防効果を見るのが最も直接的な方法である。しかし、罹患者が少なく、また、ワクチンの効果が100%でない場合、ワクチン接種群と非接種群で有意差を検定するには大きな被験者集団が必要になる。また、類似の症状を示す感染症等との鑑別法を検討しておく必要がある。

② 抗体応答を代替指標とした評価：発症予防効果の代替指標として、現行の皮下接種型ワクチンにおいては、「血清のHI抗体価」が用いられている。経鼻不活化ワクチンの有効性の評価にあたって、現行の注射型ワクチンとの血清のHI価又は中和価を指標として評価することは可能である。しかしこの血清のHI価又は中和価を指標とした評価では、経鼻ワクチンに関して上気道の粘膜免疫応答を考慮した有効性は評価できない。上気道の抗体応答を加味した経鼻ワクチンの有効性の評価のためには、粘膜免疫による防御効果を反映する指標として、例えば血清中のHI抗体価や中和抗体価に加えて/又は(and/or)鼻腔洗浄液の中和抗体価、及びHA特異的IgA抗体価、血中のHA特異的IgA抗体価等を加味した有効性の評価法を利用することが有用である。

イ 安全性（経鼻不活化ワクチンの副反応）

経鼻投与臨床研究例では、低頻度で鼻水、鼻閉、頭痛、のどの痛み、発熱などがみられる。局所の副反応として、鼻水、鼻詰まり、鼻血、クシャミ、目の充血、その他：全身の副反応として、頭痛、筋肉痛、食欲不振、全身のだるさ等があげられている。

上記の副反応は許容範囲内のものであるが、新しいアジュバント併用経鼻ワクチンの開発時には、臨床レベルでの有効性のみでなく安全性にたいする十分な配慮が必要不可欠である。

【参考文献】

「経鼻インフルエンザワクチンのガイドンス」文献

(本文及び参考1、2) 経鼻インフルエンザワクチンの基礎

- 1) Schulman JL, Kilbourne ED. 1965. Induction of partial specific heterotypic immunity in mice by a single infection with influenza virus. *J Bacteriol* **89**:170-4.
- 2) Murphy BR, Clements ML. 1989. The systemic and mucosal immune response of humans to influenza A virus. *Curr Top Microbiol Immunol* **146**: 107-116.
- 3) Murphy BR. 1994. Mucosal Immunity to Viruses. In: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, McGee JR et al., editors. *Handbook of Mucosal Immunology*. San Diego: Academic Press. pp. 333-343.
- 4) Lamb RA, Krug RM. 1996. Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In : Field BN, Knipe DN, Howley PM, et al. editors, *Virology*. Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers ; p.1353-1395.
- 5) Murphy BR, Webster RG. 1996. Orthomyxoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, M. HP, Chanock RM, Melnick JL et al., editors. *Fields Virology. 3rd ed*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. pp. 1397-1445.
- 6) Tamura SI, Kurata T. 2004. Defense mechanisms against influenza virus infection in the respiratory tract mucosa. *Jpn J Infect Dis* **57**: 236-247.
- 7) Tamura SI, 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.
- 8) Wright PF, Neumann G, Kawaoka Y. 2006. Orthomyxoviruses. In: BN, Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Strus SE. editors. *Fields Virology. 5th ed*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. pp. 1691-1740.
- 9) Tamura SI. 2010. Studies on the usefulness of intranasal inactivated influenza vaccines. *Vaccine* **28**: 6393-6397.

(参考3) 現行の季節性注射型ワクチンの特徴

- 1) Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) ; Prevention and Control of Seasonal Influenza with Vaccines: Recommendations of ACIP, 2009. ; MMWR. Recommendations and Reports. July 31, 2009/Vol.58/No.RR-8,p.1-5.
- 2) Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) ; Prevention and Control of Influenza with Vaccines: Recommendations of ACIP, 2011.; MMWR. August 26, 2011/Vol.60/No. 33, p. 1128-1132.

(参考4) 現行注射ワクチンの有効性の評価基準

- 1) European Medicines Evaluation Agency. Note for guidance on harmonisation of requirements for influenza vaccines (CPMP/BWP/214/96). Committee for Proprietary Medical Products (CPMP). *European Medicines Evaluation Agency*, London, UK (1997).
- 2) European Medicines Evaluation Agency. 2008. Guideline on dossier structure and content for pandemic influenza vaccine marketing authorization application (CPMP/VFG/4717/03-Rev.1).

Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP).

3) U.S. Food and Drug Administration. 2007. Guidance for Industry: Clinical Data Needed to Support the Licensure of Seasonal Inactivated Influenza Vaccines.

(本文 3) 現行の経鼻弱毒生ワクチン (低温馴化生ウイルスワクチン) の特徴

1) Maassab HF. Adaptation and growth characteristics of influenza virus at 25°C. *Nature (London)* 1967;213: 612-614.

2) Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) ; Using Live, Attenuated Influenza Vaccine(LAIV) for prevention and Control of Influenza : Supplemental Recommendations of ACIP ; MMWR Recommendations and Reports, September 26, 2003/Vol. 52/ No. RR-13, p.1-8.

3) CDC ; Notice to Readers : Expansion of Use of Live, Attenuated Influenza Vaccine (FluMist) to Children Aged 2-4 Years and Other FluMist Changes for the 2007-08 Influenza Season. ; MMWR. November 23, 2007/Vol. 56/No. 46, p. 1217-1219.

4) Belshe RB. 2004. Current status of live attenuated influenza virus vaccine in the US. *Virus Res* **103**:177-185.

5) Belshe R, Lee M, Walker RE, Stoddard J, Mendelman PM. 2004. Safety, Immunogenicity and efficacy of intranasal, live attenuated influenza vaccine. *Expert Rev Vaccines* **3**:643-654.

6) Treanor JJ, Kotloff, Betts RF, Belshe R, Newman F, Iacuzio D, Wittes J, Bryant M. 2000. Evaluation of trivalent, live. Cold-adapted (CAIV-T) and inactivated (TIV) influenza vaccines in prevention of virus infection and illness following challenge of adults with wild-type influenza A (H1N1), A (H3N2), and B viruses. *Vaccine* **18**:899-906.

7) Monto AS, Ohmit SE, Joshua GP, Petrie JG, Johnson E, Truscon R, Teich E, Rotthoff J, Boulton M, Victor JC. 2009. Comparative efficacy of inactivated and live attenuated influenza vaccines. *N Engl J Med* **361**: 1260-1267.

(本文 4、参考 5) 開発途上の経鼻不活化インフルエンザワクチン (臨床例)

(1) 3倍高濃度スプリットワクチン

1) Kuno-Sakai H, Kimura M, Ohta K, Shimojima R, Oh Y, Fukumi H. 1994. Developments in mucosal influenza virus vaccines. *Vaccine* **12**: 1303-1310.

2) Ainai A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. 2012. Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. *J Med Virol* **84**:336-344.

(2) 不活化全粒子ワクチン

1) Muszkat M, Yehuda AB, Schein MH, Friedlander Y, Naveh P, Greenbaum E, Schlensinger 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.

2) Greenbaum E, Furst A, Kiderman A, Stewart B, Levy R, Schlensinger 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.

3) Greenbaum E, Engelhard D, Levy R, Schlezinger M, Morag A, Zakay-Rones Z. 2004. Mucosal (SIgA) and serum (IgG) immunologic responses in young adults following intranasal administration of one or two doses of inactivated, trivalent anti-influenza vaccine. *Vaccine* **22**: 2566-2577.

4) Aina A, Tamura S, Suzuki T, van Riet E, Ito R, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal vaccination with an inactivated whole influenza virus vaccine induces strong antibody responses in serum and nasal mucus of healthy adults. (In preparation).

5) Aina A, Suzuki T, van Riet E, Ito R, Tamura S, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal vaccination with an inactivated whole influenza H5N1 virus vaccine induces strong antibody responses in serum and nasal mucus of healthy adults. *J Med Virol* (In preparation).

(3) 大腸菌易熱性毒素併用スプリットワクチン

1) Hashigucci K, Ogawa H, Ishidate T, Yamashita R, Kamiya H, Watanabe K, Hattori N, Sato T, Suzuki Y, Nagamine T, Aizawa C, Tamura SI, 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.

2) 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.

3) Mutsch M, Zhou W, Rhodes P, Bopp M, Che R, Linder T, Spyr C, Steffen R. 2004. Use of the inactivated intranasal influenza vaccines and the risk of Bell's palsy in Switzerland. *New Eng J Med* **350**:896-903.

(4) プロテオソームワクチン

1) Fries L, Lambkin R, Geider C, White G, Burt D, Lowell G, Oxford J. 2004. FluINsure™, an inactivated trivalent influenza vaccine for intranasal administration, is protective in human challenge with A/Panama/2007/99 (H3N2) virus. *International Congress Series* **1263**:661-665.

2) Langley JM, Halperin SA, McNeil S, Smith B, Jones T, Burt D, Mallett CP, Lowell GH, Fries L. 2006. Safety and immunogenicity of a Proteosome™-trivalent inactivated influenza vaccine, given nasally to healthy adults. *Vaccine* **24**:1601-1608.

3) Burt D, Mallett C, Plante M, Zimmermann J, Torossian K, Fries L. 2011. Proteosome-adjuvanted intranasal influenza vaccines: advantages, progress and future considerations. *Expert Rev Vaccines* **10**: 365-375

4) Langley JM, Aoki F, Ward BJ, McGee A, Angel JB, Stiver G, Gorfinger I, Shu D, White L, Lasko B, Dzungowski P, Papp K, Alexander M, Boivin G, Fries L. 2011. A nasally administered trivalent inactivated vaccine is well tolerated, stimulates both mucosal and systemic immunity, and potentially protects against influenza illness. *Vaccine* **29**: 1921-1928.

(5) ナノエマルジョンワクチン

1) Johnson C, Robinson P, Flack M, Gracon S, Hamouda T, Stanberry L, Baker JR Jr. 2010. Phase I study of a nanoemulsionadjuvanted nasal influenza vaccine demonstrated both mucosal and systemic immune responses in humans. Presented at ICAAC 50th Annual Meeting (Sept. 12-15)

(参考6) 経鼻不活化インフルエンザワクチンの免疫原性・投与量等

1) Tamura S-I, Hasegawa H, Kurata T. 2010. Estimation of the effective doses of nasal-inactivated influenza vaccine in humans from mouse-model experiments. *Jap J Infect Dis* ;**63**:8-15.

