

図2 ワクチンによるT細胞応答誘導

されたT細胞はエフェクター細胞として病原体などの排除に働き、また一部は記憶T細胞となり、次の感染に際して速やかにエフェクター細胞となって病原体の排除に寄与する。また蛋白質抗原に対するB細胞応答の誘導にもCD4T細胞によるヘルプが必須であり、抗原刺激を受けたナイーブB細胞は分裂を繰り返しながら胚中心を形成し、より抗原に対して親和性の高い抗体を産生するB細胞が選択される。抗原に対して特異的なTh細胞(胚中心にいるTh細胞はTfhと呼ばれる)と濾胞樹状細胞(follicular dendritic cell: FDC)と相互作用することで記憶B細胞または抗体を産生する形質細胞へと分化する(図3)<sup>19)</sup>。各Th細胞のタイプによってB細胞が産生する抗体のサブクラスがクラススイッチによって決定され、マウスにおいては、Th1ではIgG2aが、Th2ではIgG1が、Th17ではIgAが産生されるようになることが知られている<sup>20)</sup>。記憶B細胞は抗体を産生しないが、次の抗原刺激に対しては速やかに形質細胞に分化することが知られている。形質細胞は大量に高親和性の

抗体を産生し、産生された抗体は、中和、オプソニン化、補体活性化などに働き、次の感染を阻止する役割を担っている。

## VII. 次世代ワクチンの抗原、アジュバント、デリバリーシステム

ワクチンを構成する重要な3つの要素として、抗原、アジュバント、デリバリーシステムがあげられる。次世代ワクチン開発の視点からそれぞれについて述べる。

### 1. 抗原由来T細胞エピトープと生体反応

抗原はワクチンの特異性を規定している。ウルイスでは数個の蛋白質がゲノムにコードされているのみだが、細菌や寄生虫では数千から数万にもおよぶ抗原蛋白質がコードされている。全粒子/全菌体ワクチンではその中から感染防御に重要な病原体蛋白質抗原を選択する必要はないが、ワクチンによる副作用の予測性という点では、病原体由来の

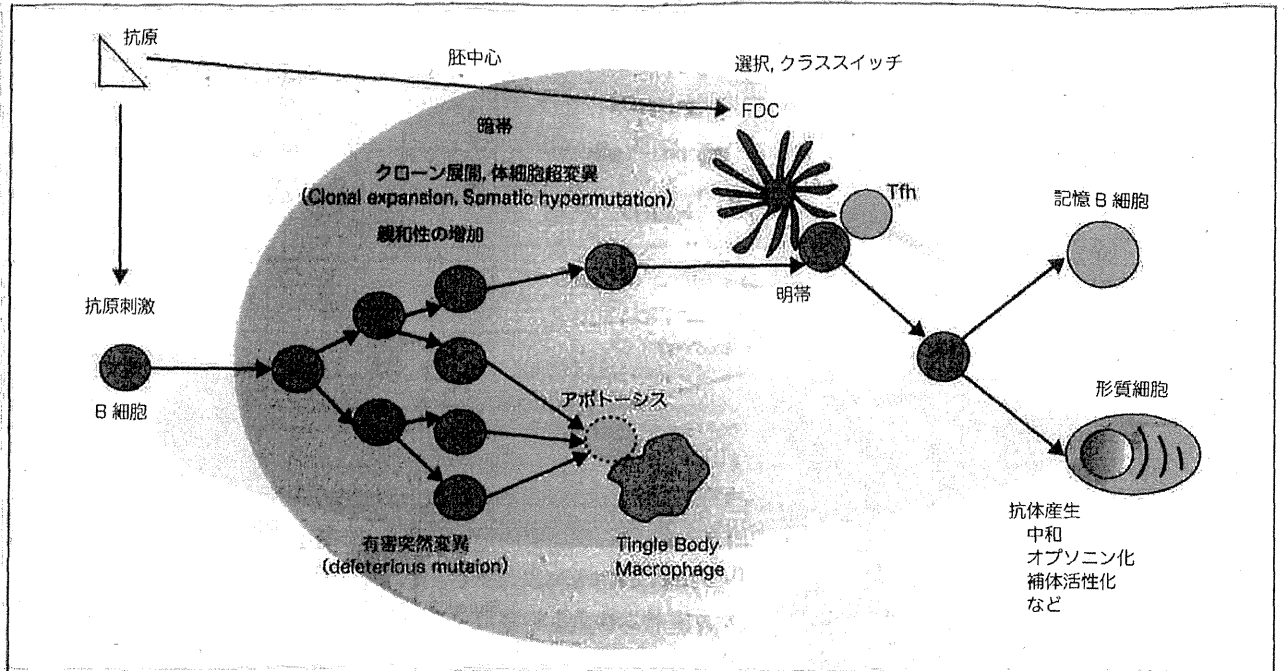


図3 ワクチンによるB細胞応答誘導<sup>(19)</sup>

	TCR contact												
			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9		
HCRT56-68	A	G	N	H	A	A	G	I	L	T	L	G	K
HCRT67-95	S	G	N	H	A	A	G	I	L	T	M	G	R
HA1(2009)275-287	E	R	N	A	G	S	G	I	I	I	S	D	T
HA1(2003)	S	R	G*	F	G	S	G	I	I	I	S	N	A
MHC-II(DQ0602)anchors													

図4 交叉性T細胞エピトープの例  
G\*: P1がGだとそのペプチドはDQ0602には結合しない。  
文献21より改変して転載<sup>(21)</sup>。

※注: 文献21は2014年7月30日付けで結果の再現性がとれないとの理由でRetractionされた。文献21の結果が事実かどうかは今後の検討を待たなければならないが、ワクチン抗原蛋白と自己抗原の交叉反応が発生する機構としては十分に想定される。

すべての抗原を用いるよりも、感染防御に有効な少数の抗原を選択する方が望ましいと考えられる。T細胞はMHC上に提示された8~10アミノ酸からなるペプチドをTCRで認識しており、各MHCによって細かな部分は異なるが、MHCと主に結合するアンカーアミノ酸(図4に示した例ではP1, P3, P4, P6, P9)とTCRと主に結合するアミノ酸(図4に示した例ではP2, P5, P7, P8)からなる。2009年に発生したプタ由来H1N1新型インフルエンザの流行では、北部ヨーロッパを中心にアジュバントとしてAS03が添加されたインフルエンザワクチンがのべ3,000万人に接種されたが、接種の数か月後からナルコレプシーの発生頻度が4~12倍にも増加していることが、各国の医療モニタリングシステムを通して確認され

た。ナルコレプシーはDQB1\*06:02とリンクすること、患者では睡眠覚醒サイクルに関するhypocretin(HCRT)が欠如していることが知られていたが、最近、2009年の新型インフルエンザのHA1抗原中にDQ0602に結合して、かつhypocretin由来のペプチドと非常に類似性の高い配列があり、実際にAS03が添加されたインフルエンザワクチンを接種後ナルコレプシーを発症した患者血液中にhypocretin由来ペプチドに反応するCD4T細胞が特異的にみられることが報告された(図4)<sup>(21)</sup>。興味深いことに2003年シーズンのインフルエンザのHA1抗原ではP1に位置するアミノ酸がN→Gに変異しており、まったくDQ0602には結合しない(図4)<sup>(21)</sup>。またAS03に含まれるα-トコフェロールがhypocretinの分

解促進に働くとの報告もある<sup>22)</sup>。この例はワクチン後の重篤な副反応がワクチン抗原蛋白と自己抗原の交叉反応で起こりうることを示している。同様の遺伝的背景をもつ人が2009年型のインフルエンザに自然感染した場合にも感染後にナルコレプシーを発症した可能性が高いことも示唆される。もしもワクチン抗原からこのようなペプチド部分を除いたワクチンを接種することができれば、この事例において感染とナルコレプシー発症の両方を抑制できる可能性を示唆している。今後、個々人のHLA情報とワクチン抗原に含まれる蛋白質の一次情報を考慮することで、より安全性の高い個別化されたワクチンの開発が可能であると考えられる。

## 2. アジュバントの作用と副作用

先に述べたように現在臨床使用されているアジュバントは主にアルミニウム塩で、HPVワクチンにはAS04と呼ばれるアルミニウム塩と毒性の低いLPS誘導体であるMPL (monophospholipid A)の混合物が用いられている。また日本では2009年の新型インフルエンザ流行に際しての特例承認であるが、スクワレンを主体としたoil-in-waterエマルジョンであるAS03やMF59が使用されている。これらのアジュバントは複数の作用点でワクチン効果を増強していると考えられ(図2参照)、いずれも未だ明確な作用機序は明らかとはなっていない。2013年4月から定期接種化されたHPVワクチンの接種後に全身の痛み(筋痛、関節痛、頭痛など)や歩行障害を伴う長期の体調不良症例が報告されたことを受け、現在は定期接種の勧奨差し控えとなっている。これらの症状が直接HPVワクチン接種によるものなのかど

うかも含めて検討が続けられているが、HPVワクチンに使用されているアジュバントの作用機序については、完全に解明されているわけではないため、この問題の解決をより難しくしている一因となっている。また今のところ広く臨床使用されるに至っていないが、これまでに発見された自然免疫受容体群に対して多くの合成リガンドがアジュバント候補として研究開発されている(表6)。これらの多くは低分子から中分子の化合物であり、自然免疫の活性化については、十分な検討がなされているものが多いが、ワクチンアジュバントとしての使用を考えた場合、抗原との結合や組織分布によって*in vivo*でのワクチンアジュバントとしての効果が*in vitro*でみられた自然免疫活性とは相関しない場合や、ワクチンアジュバント活性に比して炎症反応が強い場合があるなど、今後の改善が必要な部分も多い。また、刺激する自然免疫レセプターの種類によって誘導されやすいT細胞応答のタイプが変わる(図5)。各Th応答は、それぞれ特徴的な役割を果たしており、Th1は細胞性免疫やマクロファージの活性化、Th2は主に液性免疫の誘導や寄生虫感染防御、Th17は真菌感染防御や好中球活性化による細菌感染防御などに重要であることが知られている。また、生体に有用な場合だけでなく、Th2によるアレルギー疾患や、Th17応答の自己免疫疾患への関与も大きな関心を集めている。現在臨床使用されているアジュバントは作用機序が十分明らかでないことに加え、それらは主にTh2応答しか誘導できない。先に述べたように、各疾患や病態にはそれぞれ違うTh応答が重要な役割を果たしており、各標的疾患に最も適切なT細胞応答を惹起できるアジュバン

表6 自然免疫レセプターとリガンド(PAMPs)および合成・精製リガンド(アジュバント)

自然免疫レセプター (PRRs)	天然リガンド(PAMPs)	合成・精製リガンド(アジュバント)	細胞内局在	
TLRs	TLR1/2	Triacyl lipopeptide	Pam3CSK4	細胞膜 (TLR3, 7, 8, 9はエンドソーム膜に局在)
	TLR2/6	Diacyl lipopeptide	Macrophage-activating lipopeptide 2(MALP-2)	
	TLR3	dsRNA	Poly I : C	
	TLR4	LPS	Monophosphoryl lipid A (MPL)	
	TLR5	Bacterial flagellin	Flagellin-protein fusions	
	TLR7/8	ssRNA(RNA viruses)	Imiquimod(R-837), Resiquimod(R-848)	
	TLR9	非メチル化CpG DNA	CpG-ODNs(Type-A, Type-B, Type-C, Type-P)	
	TLR11	Profilin-like protein(T. gondii)	Recombinant profilin	
CLRs	Dectin-1	$\beta$ 1, 3-glucan	Curdlan, lentinan, schizophyllan	
	Dectin-2	High mannose structures	Man9GlcNAc2	
	Mincle	Trehalose-6, 6-dimycolate(TDM)	Trehalose-6, 6-dibehenate(TDB)	
	Clec9A	Filamentous actin	?	
cGAS/STING	dsDNA	cGAMP, cdiGMP, cdiAMP, DMXAA		
RLRs	RIG-I	5'-PPP ssRNA or 短い(~1 kb) dsRNA	unknown	
	MDA5	長い(>2 kb) dsRNA	Poly I : C	
NLRs	NOD1	Peptidoglycans, Diaminopimelic acid(IE-DAP)	FK156, FK565	細胞質
	NOD2	Peptidoglycans, Muramyl dipeptides (MDP)	Murabutide	
	NLRP3	oxidized mtDNA? Bacterial RNA	Aluminum salts, MSU, Silica	
ALRs	AIM-2	dsDNA	unknown	
	IFI16	dsDNA	unknown	

トが選択できるようになるべきであり、現在研究開発中のアジュバントが臨床使用されるようになることが望まれる。

### 3. デリバリーシステムとターゲット細胞

安全性と有効性を高いレベルで実現した次世代ワクチン開発にはデリバリーシステムの研究が不可欠である。特にウイルスは特定の細胞に特定のレセプターを介して感染することが知られ、いわば built-in のデリバリーシステムを有しているといえる。最近の研究で、各抗原提示細胞によって誘導されやすいT細胞応答が異なることが明らかとなってきた(図6)。樹状細胞は特にマウスでの知見を基に通常型樹状細胞 (conventional dendritic cell : cDC) と形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid DC :

pDC) の2つに大きく分類され、cDCはさらに細胞表面にCD8 $\alpha$ を発現するCD8 $\alpha$ 陽性樹状細胞とCD8 $\alpha$ を発現せずCD4やDCIR2を発現する樹状細胞に分かれている。CD8 $\alpha$ 陽性樹状細胞はTLR3やClec9Aを発現しており、抗原由来ペプチドをMHC-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、CD8T細胞に抗原を提示しやすい<sup>23)</sup>。CD4陽性樹状細胞はMHC-IIによる抗原提示に優れCD4T細胞応答を誘導する<sup>23)</sup>。pDCはTLR7やTLR9を発現し、これらの刺激に対して大量のIFN- $\alpha$ を産生しウイルス増殖を抑制する。また同時にpDCはTregの誘導にも関与している<sup>24)</sup>。炎症性DCは、炎症に伴ってGM-CSFで誘導される単核由来の樹状細胞で、最近Th17応答への関与が報告された<sup>25, 26)</sup>。このような樹状細胞サブ

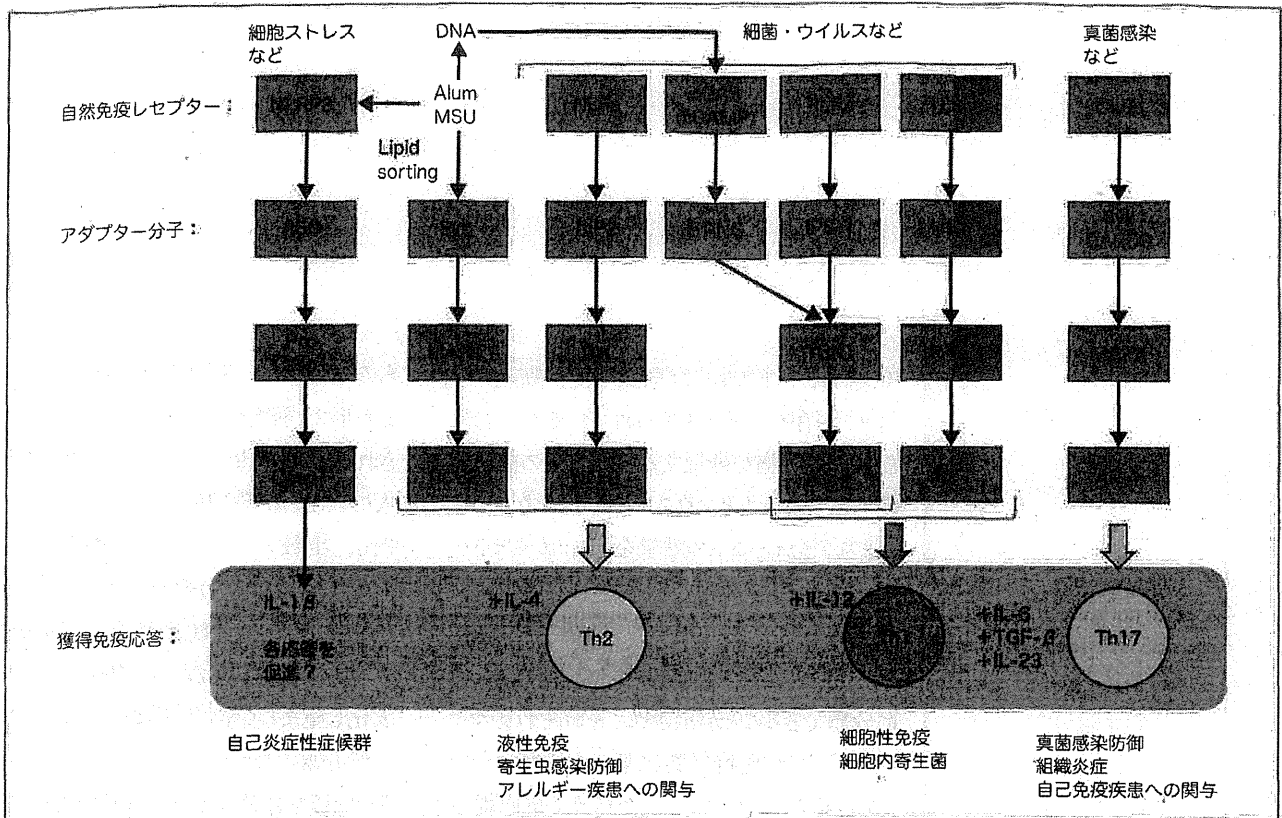


図5 自然免疫応答とTh応答

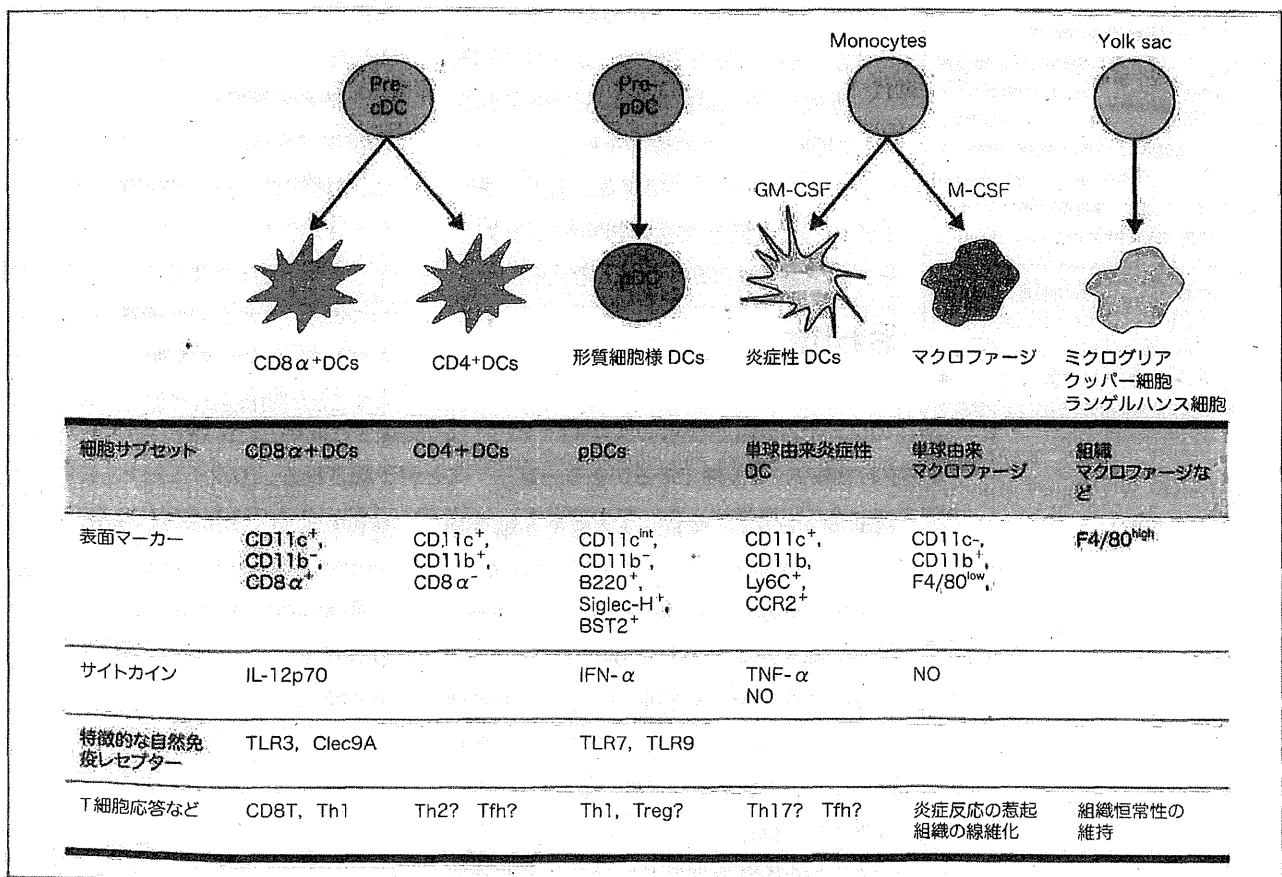


図6 抗原提示細胞サブセットと免疫応答

#### Correlates of protection

ワクチン接種後の感染防御能と相関する免疫学的指標のこと。具体的にはワクチン接種後の抗体価、サイトカイン応答、T細胞応答などが感染防御能と相関するときに、これらをCorrelates of protection (CoP)と呼ぶ。直接感染防御にかかわる指標(例えば中和抗体価)はmechanistic correlate of protection (mCoP)、直接は感染防御に寄与しないが相関する指標(例えば中和活性のないELISA抗体価)はnonmechanistic correlates of protection (nCoP)と呼ぶことが提唱されている。適切なCoPを見出すことはワクチン開発やその有効性判定に非常に重要である。

セットは、ヒトでもほぼ同様の樹状細胞サブセットが存在すると考えられているが、これらの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とする際には注意が必要である。また、近年マクロファージも由来や周囲の環境によって複数の機能的に異なるサブセットに分類できることが示され、それぞれのマクロファージが免疫応答に果たす役割についても注目されている<sup>27)</sup>。このように抗原提示細胞サブセットは抗原やアジュバントに反応して、それぞれ異なる機能的な役割を果たしており、ワクチンによる目的に適した抗原とアジュバントを適切な抗原提示細胞に標的することが、副作用がなくかつ効果の高い次世代ワクチンに重要であると考えられる。さらに細胞レベルでの標的を超えて、ニードルフリーワクチンとしての経鼻、経皮、経口などのワクチン投与技術の開発も次世代ワクチンの開発には欠かせないと考えられる。

#### おわりに

現在のワクチンは集団に向けたいわばマスプロダクトであり、ごく稀であるが一定の頻度でワクチン接種による重篤な副作用はどうしても発生してしまうと考えられる。この課題に対処するためには、ワクチン接種を受ける個人の利益を最大限に考慮したワクチン個別化の試みが必要である。その意味で、次世代のワクチンは、これまでの病原体そのものを原料として加工したワクチンとは異なり、抗原、アジュバント、デリバリーシステムの各構成要素について、それぞれの作用機序が明確でかつ対象疾患に適した

ものを選択し、それらを最適な形で組み合わせる形で再構成したものになっていくと予想される。究極的には、ワクチン接種を受ける人のHLA情報を利用してワクチン抗原を選択し、複数のアジュバントや標的となる抗原提示細胞の組み合わせの中から、その個人や対象疾患に最も適した組み合わせを選択することで、その個人にとって望ましい反応を最大化し望ましくない反応を最小化するワクチンが可能になると考えられる。また次世代ワクチンは単に効果がより高く副作用がより少なければよいのではなく、それらの効果や副作用発現の予測可能性も重要である。現実には、ヒトでのワクチン効果と高い相関を示す指標(correlates of protection)は未だ限られたものしかなく、新たなバイオマーカーや評価系の構築も必要であるが、近年の情報技術の発展により、次世代シーケンサーによる病原体や宿主の網羅的な遺伝子情報や、さまざまなオミックス技術からの大量のデータを統合して取り扱うことが可能になりつつあり、これまでは困難であったさまざまなワクチンに対する課題に大きな進展をもたらすことが期待されており、今後ワクチンはより洗練され成熟した医療技術になっていくことが予想される。ワクチンはヒトに備わる免疫というしくみを巧みに利用した医療技術であり、微生物学、免疫学、感染症学などの関連分野の知見を総合することで人々の健康的な生活に役立つ次世代ワクチンの開発が期待される。

## 参 考 文 献

- 1) 佐々木征. HPVワクチン後の長期体調不良について. 感染症内科 2014 ; 2 : 316-25.
- 2) Nohynek H, Jokinen J, Partinen M, *et al.* AS03 adjuvanted AH1N1 vaccine associated with an abrupt increase in the incidence of childhood narcolepsy in Finland. PLoS One 2012 ; 7 : e33536.
- 3) Persson I, Granath F, Askling J, *et al.* Risks of neurological and immune-related diseases, including narcolepsy, after vaccination with Pandemrix : a population- and registry-based cohort study with over 2 years of follow-up. Journal of internal medicine 2014 ; 275 : 172-90.
- 4) Greenwood B. The contribution of vaccination to global health: past, present and future. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2014 ; 369 : 20130433.
- 5) Nakagami H, Koriyama H, Morishita R. Therapeutic vaccines for hypertension and dyslipidemia. Int heart J 2014 ; 55 : 96-100.
- 6) Koff WC, Burton DR, Johnson PR, *et al.* Accelerating next-generation vaccine development for global disease prevention. Science 2013 ; 340 : 1232910.
- 7) 村上宏, 森康子. 多価生ワクチン: 現行の水痘生ワクチンをベースとして. 最新医学 2014 ; 69 : 810-8.
- 8) 保富康宏, 松原明弘, 唐松克夫. ウイルス様中空粒子 (VLP) を用いた経口ワクチンの開発. 治療学 2007 ; 41 : 1067-71.
- 9) 石井健, 山西弘一, 編. アジュバント開発研究の新展開. 東京: シーエムシー出版; 2011.
- 10) Zelenay S, Reis e Sousa C. Adaptive immunity after cell death. Trends Immunol 2013 ; 34 : 329-35.
- 11) Coffman RL, Sher A, Seder RA. Vaccine adjuvants : putting innate immunity to work. Immunity 2010 ; 33 : 492-503.
- 12) Aoshi T, Koyama S, Kobiyama K, *et al.* Innate and adaptive immune responses to viral infection and vaccination. Curr Opin Virol 2011 ; 1 : 226-32.
- 13) Koyama S, Aoshi T, Tanimoto T, *et al.* Plasmacytoid dendritic cells delineate immunogenicity of influenza vaccine subtypes. Sci Transl Med 2010 ; 2 : 25ra24.
- 14) Vono M, Taccone M, Caccin P, *et al.* The adjuvant MF59 induces ATP release from muscle that potentiates response to vaccination. Proc Natl Acad Sci USA 2013 ; 110 : 21095-100.
- 15) Marichal T, Ohata K, Bedoret D, *et al.* DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. Nature medicine 2011 ; 17 : 996-1002.
- 16) McKee AS, Burchill MA, Munks MW, *et al.* Host DNA released in response to aluminum adjuvant enhances MHC class II-mediated antigen presentation and prolongs CD4 T-cell interactions with dendritic cells. Proc Natl Acad Sci USA 2013 ; 110 : E1122-31.
- 17) Didierlaurent AM, Morel S, Lockman L, *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 2009 ; 183 : 6186-97.
- 18) Steinhagen F, Kinjo T, Bode C, *et al.* TLR-based immune adjuvants. Vaccine 2011 ; 29 : 3341-55.
- 19) Georgiou G, Ippolito GC, Beausang J, *et al.* The promise and challenge of high-throughput sequencing of the antibody repertoire. Nat Biotechnol 2014 ; 32 : 158-68.
- 20) Tarlinton D, Good-Jacobson K. Diversity among memory B cells : origin, consequences, and utility. Science 2013 ; 341 : 1205-11.
- 21) De la Herran-Arita AK, Kornum BR, Mahlios J, *et al.* CD4+ T cell autoimmunity to hypocretin/orexin and cross-reactivity to a 2009 H1N1 influenza A epitope in narcolepsy. Sci Transl Med 2013 ; 5 : 216ra176 (Retracted).
- 22) Masoudi S, Ploen D, Kunz K, *et al.* The adjuvant component alpha-tocopherol triggers via modulation of Nrf2 the expression and turnover of hypocretin in vitro and its implication to the development of narcolepsy. Vaccine 2014 ; 32 : 2980-8.
- 23) Dudziak D, Kamphorst AO, Heidkamp GF, *et al.* Differential antigen processing by dendritic cell subsets *in vivo*. Science 2007 ; 315 : 107-11.
- 24) Chen W, Liang X, Peterson AJ, *et al.* The indoleamine 2,3-dioxygenase pathway is essential for human plasmacytoid dendritic cell-induced adaptive T regulatory cell generation. Immunol 2008 ; 181 : 5396-404.
- 25) Segura E, Touzot M, Bohineust A, *et al.* Human inflammatory dendritic cells induce Th17 cell differentiation. Immunity 2013 ; 38 : 336-48.
- 26) Ko HJ, Brady JL, Ryg-Cornejo V, *et al.* GM-CSF-responsive monocyte-derived dendritic cells are pivotal in Th17 pathogenesis. J Immunol 2014 ; 192 : 2202-9.
- 27) Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. Nature 2013 ; 496 : 445-55.
- 28) Garçon N, Vaughn DW, Didierlaurent AM. Development and evaluation of AS03, an Adjuvant System containing  $\alpha$ -tocopherol and squalene in an oil-in-water emulsion. Expert Rev Vaccines 2012 ; 11 : 349-66.

2015年(平成27年)2月2日 月曜日

日刊薬業 第14124号

## 〈解説〉

## 競争激化するアジュバント開発

「開発先進国」へ、データベース構築中

ワクチンの効果を増強させるアジュバントの開発競争が激化してきた。免疫学の研究が進歩したことで、アジュバントを分子レベルで設計・開発できるようになってきたことが背景にある。また、がんやアルzheimer、アルツハイマー型認知症など、さまざまな疾患に対するワクチン療法の研究開発も進んでおり、それに伴いアジュバントの需要も高まっている。こうした流れをビジネスチャンスと捉え、製薬企業だけでなく、化粧品や製薬業界などもアジュバント開発の参入を図っている。

一方で、アジュバントのメカニズムには不明な点が多く、有効性や安全性を評価する指標は確立されていない。アジュバントとワクチンの副作用の関連を指摘する声もあるが、アジュバントに関する研究やエビデンスそのものが不足しているのが現状だ。特に、ある物質をアジュバントとして用いる場合、他の物質と比べてどのようなプロファイルを持つのか、全体像を把握するのが難しい。アルミニウム塩やコレラトキシン、ミセルなどが汎用されているが、経験則的に使用されているケースが多い。アジュバントの有効性と安全性を適切に評価できるようになれば、ワクチン投与時の副作用が減らせたり、より少ない抗原量で多くのワクチンが製造できる可能性が出てくる。

アジュバント開発の課題を解決する一つのツールとして、医薬基盤研究所の石井健氏はアジュバントのデータベース(DB)を構築中だ。個々のアジュバントが与える影響を遺伝子レベルで解析し、有効性や安全性の指標となるバイオマーカーを同定する。新規アジュバント開発の際にも、既知のアジュバントと比較できるようになり、その物質が持つ特性を把握しやすくなる。

マウスやラットを対象にしたDBのプロト

タイプはすでに完成済み。開発中もしくは上市済みのアジュバント約20種のデータ入力が終わり、夏までの公開を目指して最終確認作業を行っている。

ヒト血清データを用いたDBも構築中だ。ヒトDBでは、ワクチンの臨床試験で採取した血液サンプルの提供を受け、血清miRNAを網羅的に解析している。ワクチン投与による発熱や抗体価を予測できるようなmiRNAマーカーの同定にすでに成功している。

将来的には、2つのアジュバントDBを、基盤研が持つトキシコゲノミクスDBなどさまざまなデータと連動させることで、ワクチンやアジュバントの安全性予測システムの開発を目指している。2016年度中の完成を目指し、作業が進んでいる。

石井氏らはDBのほかに、アジュバント開発の基盤となるツールとして、「感染症に対するアジュバント添加ワクチンの非臨床試験ガイドライン(GL)」の原案を完成させた。統一的手法を示すことで、安全性や技術が底上げされるほか、開発の効率化も見込める。GLの中には、アジュバントDBを活用することを促すような文面を盛り込むことも予定している。開発企業だけでなく、規制当局もDBやGLを活用することで、より精度の高い審査を行えるようになる。

日本の免疫学研究は世界トップレベルの水準を維持している一方で、ワクチンやアジュバントの開発は遅れている。開発環境が整ったことで、アジュバント開発に弾みがつけば、日本が世界のワクチン産業を牽引できる立場に立てる可能性もある。石井氏は「より安全性の高い製品を患者に提供できるよう、産官学がツールを活用し、研究を推進してほしい」と話す。アジュバント開発が、国内医薬品産業活性化の起爆剤になれるか。異業種を巻き込んだ競争はすでに始まっている。(朝津 康彦)



