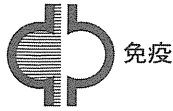


研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
片山和彦	ノロウイルスの感染予防	少年写真新聞社 中学保健ニュース			2014
片山和彦	ノロウイルスの感染予防	少年写真新聞社高校保健ニュース			2014
van Riet E, Ainai A, Suzuki T, Kersten G, Hasegawa H	Combatting infectious diseases; nanotechnology as a platform for rational vaccine design.	Adv Drug Deliv Rev.	74	28-34	2014
Matsuzaki, Y., Sugawara, K., Nakauchi, M., Takahashi, Y., Onodera, T., Tsunetsugu-Yokota, Y., Matsumura, T., Ato, M., Kobayashi, K., Shimotai, Y., Mizuta, K., Hongo, S., Tashiro, M., Nobusawa, E.	Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of A/(H1N1)pdm09 virus by using monoclonal antibody escape mutants.	J. Virol.	88	12364-12373	2014
Takemori, T., Kaji, T., Takahashi, Y., Shimoda, M., Rajewsky, K.	Generation of memory B cells inside and outside germinal centers.	Eur. J. Immunol.	44	1258-1264.	2014
安達悠、高橋宜聖、阿戸学	インフルエンザワクチンの免疫原性と抗原エピトープ	感染炎症免疫	44	22-31	2014
Barnor JS, Yamamoto N, Brandful J, Ampofo W, Bonney K, Bonney E, Odoom JK, Aidoo I S, Alale M, Ntiml NA, Amoah YO, Ofori SB, Ndzinu I J, Aziati ID, Addo NA, Nyarko A, Ido E, Ishikawa K, Yamaoka S	Establishment of In-House Quantitative Real-Time RT-PCR Assay for HIV-1 Viral Load Measurement: Application to Evaluate Efficacy of ART in Ghanaian Patients in an Urban Setting.	Journal of AIDS & Clinical Research	5(5)	305	2014
Nakatsu Y, Matsuoka M, Chang TH, Otsuki N, Noda M, Kimura H, Sakai K, Kato H, Takeda M, Kubota T.	Functionally distinct effects of the C-terminal regions of IKKε and TBK1 on type I IFN production.	PLoS One	9(4)	e94999	2014

IV. 研究成果の刊行物・別刷



免疫

インフルエンザワクチンの免疫原性と抗原エピトープ

安達 悠*, 高橋 宜聖, 阿戸 学



あだち・ゆう

2007年東京農工大学卒業。2012年同大学大学院連合農学研究科博士課程修了。同大学大学院博士研究生。2013年国立感染症研究所免疫部第四室所属現研究員。インフルエンザウイルスに対する交差性反応性B細胞の解析。B細胞や抗体産生に関する研究を通して、病気の治療に関わっていきたくと考えている。

Summary

インフルエンザ(influenza)は、インフルエンザウイルスを病原体とする急性の呼吸器感染症である。インフルエンザウイルスに対する最も有効な防御免疫は、液性免疫記憶を介して産生される高親和性の中和抗体であり、インフルエンザワクチンは、この抗体の誘導を目的として接種される。そのため、高親和性を獲得した記憶B細胞産生・再活性化の効率がワクチン有効性を左右する要因となるが、この過程にはヘルパーT細胞を介した複数のチェックポイントが存在する。近年、新しいインフルエンザワクチン(H1N1pdm09, H7N9)の免疫原性に関する臨床データが報告され、B細胞抗原受容体(抗体)が認識する抗原構造(B細胞エピトープ)と、ヘルパーT細胞の活性化に必要な抗原構造(T細胞エピトープ)の量的な重要性が再認識されるとともに、抗原変異に対応可能な新しいタイプのB細胞エピトープに大きな関心が集まっている。本稿では、インフルエンザワクチンのこれら抗原エピトープに関する最新の動向を紹介し、ワクチン有効性を左右するインフルエンザ抗原構造の詳細に迫る。

Key words : インフルエンザウイルス, ワクチン, 免疫記憶, B細胞エピトープ, T細胞エピトープ

I. インフルエンザワクチンの構造と種類

現在、国内外で実用化されているインフルエンザワクチンには複数の種類があり、ワクチン構造や免疫原性も多岐にわたる。第1章では、これまでに実用化されているさまざまなインフルエンザワクチンの種類と、各ワクチンの抗原構造の特徴を解説する。

1. ウイルス構造

インフルエンザウイルスはA・B・C型の3種類が存在するが、過去に世界的大流行を引き起こした4つのウイルスはすべてA型に属するため、本稿ではA型ウイルスに限定して解説する。まず、インフルエンザウイルス粒子の膜表面には、ヘマグルチニン(hemagglutinin : HA)とノイラミニダーゼ(neuraminidase : NA)の2種類の糖タンパク質がスパイク状に埋め込まれており、中和抗体の主要なエピトープ構造を形成している¹⁾。A型ウイルスには17種類のHAと

10種類のNAが存在し、これらの組み合わせで170種類のサブタイプ(H1N1など)に分類される。ウイルス粒子内部には、内部タンパク質、一本鎖RNA、脂質などが含まれている(図1)。

ワクチン接種により誘導される抗体の多くはHAに結合する。HAはシアル酸を介した宿主細胞への接着と侵入に関与するため、HAに対する中和抗体は感染自体を阻害することができる。このためHA抗体は最も中和能が高く、またHAの赤血球凝集阻害を指標として結合抗体価を簡便に定量することが可能なため、ワクチン有効性の評価は、HAに対する血清抗体価を指標とすることが一般的である。

HAはホモ3量体を形成し、球状部領域(globular head region)と幹領域(stem region)と呼ばれる2つの抗原領域を有している(図2)。球状部領域はウイルス膜から離れた粒子外側に位置し、中和抗体にとって最もアクセスのよい部分に位置するため、HA抗体の大部分は球状部に結合する。また、ウイルスはこの領域を介して宿主細胞に

免疫原性

抗原における抗体産生を誘導する性質・能力のこと。ワクチンにおいては、ウイルスに対する防衛抗体の産生誘導能のことを指す。

中和抗体

ウイルス抗原に対して特異的に結合することで、そのウイルスの病原性を低下(中和)させる抗体のこと。この抗体が結合するウイルス抗原上の領域を“中和(B細胞)エピトープ”と呼ぶ。

*国立感染症研究所免疫部第四室
〒162-8640
東京都新宿区戸山1-23-1
E-mail
yuadachi@niid.go.jp

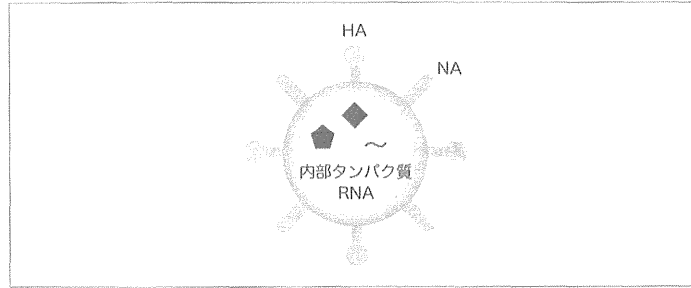


図1 インフルエンザウイルス粒子
ウイルス粒子表面にはヘマグルチニン(HA)とノイラミニダーゼ(NA)がスパイク状に存在する。粒子には、種々の内部タンパク質と一本鎖RNA、脂質などが内在している。

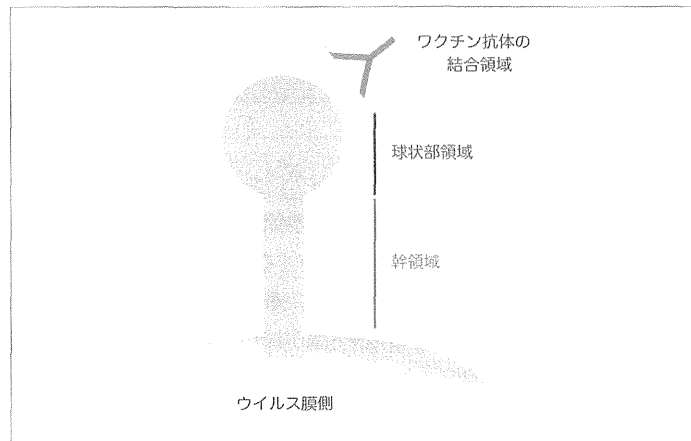


図2 ヘマグルチニン分子の構造
HAの抗原領域は、球状部領域と幹領域に存在する。球状部領域は抗体がアクセスしやすいが、アミノ酸配列が頻繁に変異する。一方、幹領域のアミノ酸配列は異なるサブタイプで保存されている。

接着するため、球状部に対する抗体は最も中和活性の優れた抗体となる。しかし、球状部は同時に変化に富む領域でもあり、異なるサブタイプでアミノ酸配列が大きく異なるばかりでなく、同じサブタイプの中でも抗原ドリフトと呼ばれるアミノ酸変異を蓄積する。そのため、球状部に対する抗体の多くは、ある特定のウイルス株に対してのみ有効であり、交差性に乏しいという欠点がある。これに対し、幹領域はウイルス株間での保存性が高く、この領域に結合する抗体の中には異なる複数のサブタイプウイルスに対してさえ中和活性を示すものの存在が明らかにされている。

2. ワクチンの種類

インフルエンザワクチンは、弱毒化生ワクチンと不活化ワクチンの2種類に分類される

(図3)。弱毒化生ワクチンは病原性の低い感染力のあるウイルスを使用する。一方、不活化ワクチンは薬剤処理により感染性を消失させたウイルスを用いる。さらに不活化ワクチンは、粒子構造を保持した不活化全粒子ワクチンと、脂質を取り除き構造を破壊した不活化スプリットワクチンに分類される。全粒子ワクチンに含まれるウイルスRNAなどは、Toll様受容体を介して樹状細胞などを活性化することが可能なため、不活化全粒子ワクチンは、スプリットワクチンに比べインフルエンザに免疫のない個体に対してより強い抗体産生惹起能を有する²⁾。一方で、不活化全粒子ワクチンは、スプリットワクチンに比べて発熱や発疹などの副反応の発生頻度が増加するという欠点が存在する³⁾。これに対し、過去にウイルス抗原に暴露され免疫記憶を有する個体に対しては、どちらのワ

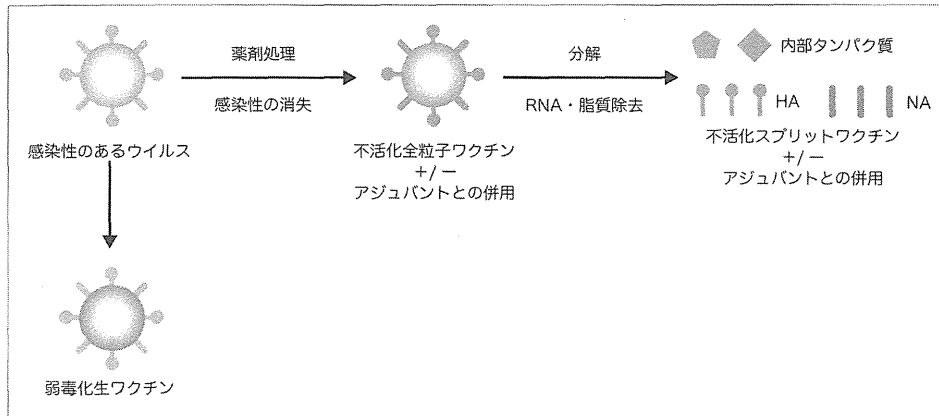


図3 ワクチンの種類

ワクチンには、弱毒化生ワクチン、不活化全粒子ワクチン、不活化スプリットワクチンの3種類がある。不活化スプリットワクチンは、ヘマグルチニン(HA)とノイラミニダーゼ(NA)、内部タンパク質を含む。不活化ワクチンは抗体産生惹起能を増強させるためアジュバントを添加する場合がある。

クチンも同程度の抗体誘導能を示す⁴⁾。乳幼児を除き、ほぼすべての健常人が季節性ウイルスに対し何らかの免疫記憶を有することから、我が国を始め多くの国では、季節性ワクチンとして不活化スプリット型が採用されている。免疫記憶を有する個体とそうでない個体に対して、不活化全粒子型とスプリット型が異なる抗体産生誘導能を示す要因については、次章で解説する。

新型インフルエンザ用ワクチンのように、抗原未感作の個体に対する免疫賦与を目的とした不活化ワクチンでは、抗体産生惹起能を増強させるためにアジュバントを添加するケースがある。インフルエンザワクチン用に実用化されているアジュバントとして、①アルミニウムアジュバント(Alum)、②スクワレンを含むオイルエマルジョンタイプのアジュバント(ASO3, MF59)がある^{5, 6)}。アジュバント添加ワクチンを使用する場合、副反応に注意を払う必要がある。

II. T細胞に依存した防御抗体の産生機序

HA抗原のようなタンパク性抗原に対する抗体産生はヘルパーT細胞依存的に行われ、抗原エピトープを介したB細胞・T細胞の相互作用が必要不可欠となる。第II章では、ワクチン接種後に高親和性抗体が産

生される一連のB細胞分化の流れのなかで、B細胞・T細胞の相互作用が果たす重要なチェック機能を解説する。

1. 抗原エピトープを介したB細胞・T細胞相互作用

抗体産生を誘導可能なタンパク抗原には、B細胞抗原受容体(BCR)とT細胞抗原受容体(TCR)により認識される抗原決定基が必ず存在し、それぞれB細胞エピトープとT細胞エピトープという。BCRと抗原が結合すると、B細胞は抗原を細胞内に取り込み、ペプチド断片に分解した後、MHC class II分子に結合した状態で細胞表面に提示する。T細胞は、TCRを介してMHC class II分子に結合したペプチド断片を認識することによりB細胞との相互作用を開始し、その結果、B細胞は細胞表面分子やサイトカインを介したヘルパー刺激をT細胞から受け取ることが可能となる(図4)。T細胞エピトープとB細胞エピトープとの大きな違いは、MHC class IIへの結合に必要なアミノ酸モチーフを含むことである。効率的にB細胞・T細胞相互作用を起こすためには、B細胞エピトープとT細胞エピトープを同一抗原分子内に含むことが理想であるが、これらエピトープが同じウイルス粒子内の異分子間にまたがる場合でも、マウスを用いた実験では抗体産生が確認されている⁷⁾。ただし、異分

アジュバント

ワクチンに含まれるウイルスタンパク質の免疫原性を増強させるために用いられる補助剤のこと。作用機序には不明な点もあるが、抗原の持続性向上や免疫応答の活性化に作用するとされている。

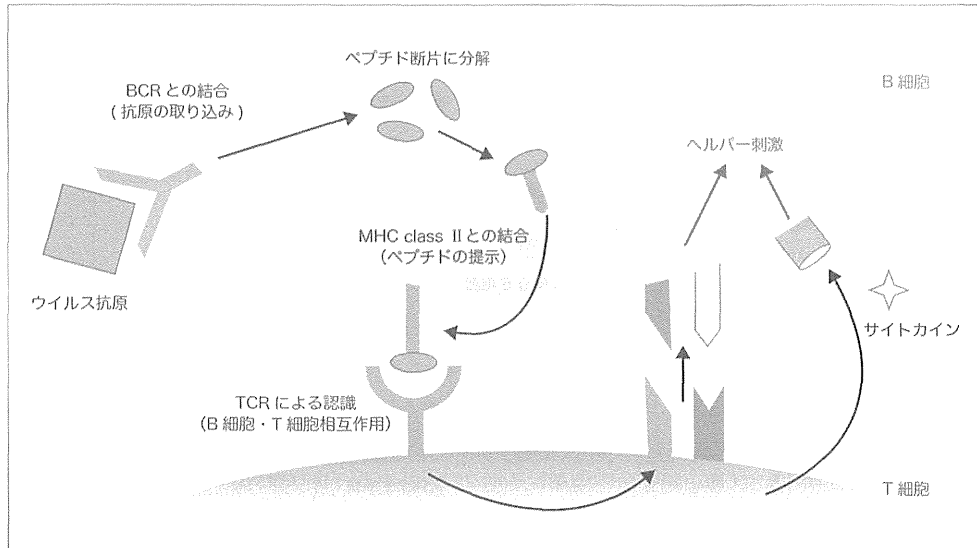


図4 B細胞・T細胞相互作用
B細胞はB細胞抗原受容体(BCR)と結合した抗原を細胞内に取り込む。取り込まれた抗原はペプチド断片に分解され、MHC class II分子と結合した状態でB細胞表面に提示される。T細胞はMHC class II分子に結合した抗原ペプチドをT細胞抗原受容体(TCR)を介して認識することで、B細胞との相互作用を開始し、細胞表面分子やサイトカインを介してヘルパー刺激をB細胞へ導入する。

子間にB細胞・T細胞エピトープがまたがった場合、同一分子内にエピトープを含む場合に比べて抗体産生の効率に差がないか否か、十分な検証は行われておらず現時点では不明である。

2. 一次免疫による免疫記憶の形成

抗原未感作の個体にワクチンを接種すると、樹状細胞に取り込まれ細胞表面にT細胞エピトープが提示される。ナイーブCD4陽性T細胞は樹状細胞上のT細胞エピトープにより活性化し、その一部は濾胞ヘルパーT細胞 (follicular helper T cells : Tfh) へと分化する⁸⁾。これと平行して、ナイーブB細胞はB細胞エピトープを認識して抗原を取り込み、T細胞エピトープを濾胞ヘルパーT細胞に提示する。この最初のB細胞・T細胞相互作用は、B細胞が胚中心B細胞へ分化するために必要不可欠である(図5)。不活化全粒子ワクチンやアジュバント添加ワクチンが、抗原未感作の個体に対する免疫原性の点で優れている大きな理由は、ウイルスRNAやアジュバント成分が樹状細胞を介してナイーブT細胞の活性化を促すことにある。

胚中心B細胞に分化すると、activation-

induced cytidinedeaminase(AID)を高発現し、抗体遺伝子に体細胞突然変異を蓄積する⁹⁾。その結果、抗体親和性の多様化が生じ、高親和性を獲得したB細胞が優先的に濾胞樹状細胞 (follicular dendritic cells : FDC) 上のウイルス抗原を取り込み濾胞ヘルパーT細胞と再び相互作用する。記憶B細胞(もしくは抗体産生細胞)への分化には、この濾胞ヘルパーT細胞との2回目の相互作用が必要であり、高親和性B細胞を優先的に長寿性の記憶B細胞として選択する重要なチェックポイントとなる。また、活性化したCD4陽性T細胞の一部も、記憶T細胞として長寿性を獲得する。

3. 免疫記憶の活性化

免疫記憶が形成されたドナーにワクチンを追加接種すると、ワクチン抗原特異的に記憶B細胞が速やかに抗体産生細胞へと分化し、多量の高親和性抗体を産生する。毎年インフルエンザ流行期前に接種する季節性ワクチンは、この高親和性抗体の誘導を主目的とするが、この過程にも記憶T細胞からのヘルプが重要な役割を果たす¹⁰⁾。ただ、初回免疫の場合と異なり、記憶T細胞

濾胞ヘルパーT細胞 (Follicular helper T cells : Tfh)

CD4陽性ヘルパーT細胞サブセットのひとつ。細胞表面レセプターCXCR5、PD-1を発現している。サイトカインIL-21などを産生しB細胞に対して作用することで、その抗体産生を誘導する。

胚中心(Germinal center : GC)

免疫応答時に形成される微小構造のこと。抗原に反応したB細胞の増殖・クローン選択・分化が生じる領域。胚中心により親和性の高いB細胞が成熟する。

体細胞突然変異

抗体遺伝子のV領域において生じるアミノ酸置換のこと。胚中心B細胞において高発現するAID(activation-induced cytidinedeaminase)により誘導され、抗体の親和性成熟や多様性に関与している。

抗体の親和性

抗体の抗原に対する結合のしやすさ・強さのこと。中和抗体では親和性が高いほど、より高い感染防御を示す。

濾胞樹状細胞 (Follicular dendritic cells : FDC)

樹状細胞サブセットのひとつ。胚中心に存在し、細胞表面レセプターを介してウイルス粒子もしくはウイルスタンパク質を保持している。

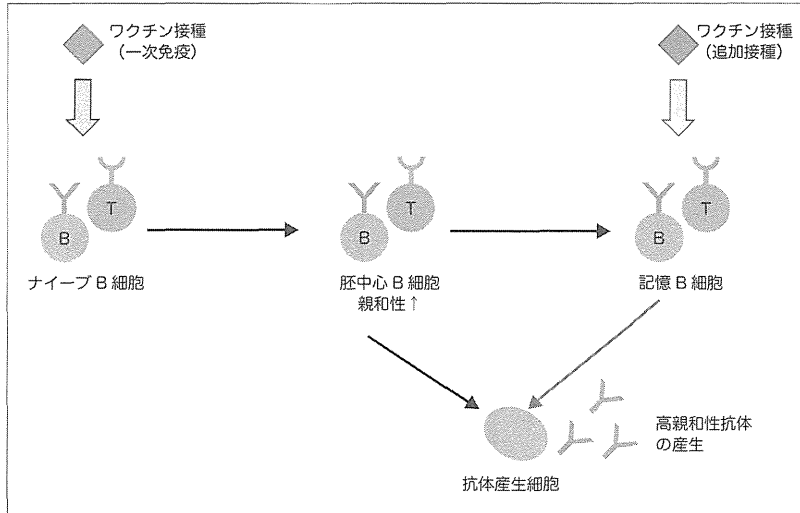


図5 T細胞による防御抗体の産生制御

ワクチン接種（一次免疫）により、ナイーブB細胞から胚中心B細胞、胚中心B細胞から記憶B細胞へと分化する。胚中心では抗体遺伝子に体細胞突然変異が蓄積されることで、高親和性抗体を有したB細胞が選択される。ワクチンの追加接種は、記憶B細胞から抗体産生細胞へと速やかに分化させることで、親和性の高い防御抗体を多量に産生させる。この一連のB細胞分化の過程はヘルパーT細胞依存的に行われている。

と記憶B細胞の相互作用は樹状細胞に対する依存性が低いため、ウイルスRNAやアジュバント成分などを含まないワクチンでも、比較的強い抗体産生を誘導することが可能となる¹¹⁾。これが、免疫記憶を有する個体の場合、不活化全粒子型とスプリット型ワクチンで誘導される抗体量に大きな差を生じない要因と考えられる。しかし、ウイルスRNAのレセプターであるToll様受容体は、樹状細胞以外にもB細胞で発現が認められ、B細胞分化を制御することが報告されており¹²⁾、今後、ウイルスRNAやアジュバント成分が記憶B細胞の活性化・分化にどのような影響を与えるのか、さらなる解析が待たれるところである。

III. 抗原エピトープとインフルエンザワクチン有効性の関連

あるタンパク抗原の抗体産生能を考えた場合、タンパクに含まれるB細胞・T細胞エピトープの絶対数に比例してB細胞・T細胞の活性化が促され、最終的な抗体濃度に反映されることが予想される。実際、MHC class II分子との結合モチーフを基にして、T細胞エピトープを同定するツールで解析す

ると、1タンパクあたりのT細胞エピトープの数と、ヒトに接種した場合の免疫原性が相関する¹³⁾。さらに、インフルエンザワクチンに関しては、既存の記憶B細胞、記憶T細胞に交差するB細胞・T細胞エピトープをできるだけ多く含むワクチンをデザインすることで、より副作用の少ないスプリット型ワクチンの一度の接種で防御抗体を誘導できる可能性が高くなる。第III章では、インフルエンザHAに含まれるB細胞・T細胞エピトープの数、特に既存の記憶B細胞、T細胞への交差結合性の有するエピトープ数の重要性について、2つの代表的なワクチン株の臨床結果を例にあげて解説していきたい。

1. 2009年パンデミックH1N1ワクチン

近年、新しいHAサブタイプをもつウイルスのヒト感染例が報告され、それに伴い新サブタイプワクチンの臨床試験が世界各国で行われた。その結果、HAに含まれる抗原エピトープ数と抗体産生誘導能の相関に関して、非常に有用な臨床データが得られつつある。とくに、2009年に世界的大流行を巻き起こしたH1N1ウイルス(以下、季節性H1N1と区別するためにH1N1pdm09と

B細胞エピトープ

B細胞のB細胞抗原受容体 (BCR) が認識する抗原上の領域のこと。BCRは一般的に抗原の立体構造を認識する。

T細胞エピトープ

T細胞のT細胞抗原受容体 (TCR) が認識する抗原上の領域のこと。9~15残基程度のアミノ酸配列から成る。

記す)は、このワクチンの臨床試験が世界各国で行われたことから、多くの有用な情報が導きだされた代表例である。

このウイルスは、2009年3月メキシコで最初の感染例が確認されて以来、瞬く間に世界中に拡散し世界的大流行を引き起こした。その大きな要因として、このH1N1pdm09ウイルスのHAには、それまでの季節性H1N1ウイルスで誘導された中和抗体がほとんど交差結合しないためと考えられている¹⁴⁾。その後開発された不活化H1N1pdm09ワクチンについて、当初の予想では、季節性H1N1ウイルスで誘導された免疫記憶が機能しないため、十分量の防御抗体を誘導するためには、アジュバント添加などにより免疫原性を高めたワクチンの2回接種が必要になるとの見方が大半であった。しかし、このワクチンの臨床試験結果は、よい意味でその予想を裏切るものであり、一度のアジュバント非添加スプリットワクチンの接種でさえ、大部分の接種者に中和抗体を誘導できた¹⁵⁾。さらに、世界的大流行を引き起こし、多数の感染者が発生したにも関わらず、従来の季節性ウイルスとさほど大きな致死率の違いは認められなかった。これらの臨床的知見は、季節性ウイルスとの間で交差結合する中和抗体が検出限界以下でも、H1N1pdm09ウイルスに対して何らかの免疫記憶が存在していたことを示唆する。実際、その後のT細胞応答性の解析から、季節性H1 HAに含まれるT細胞エピトープの多くは、パンデミックH1 HAにも保存されていることが明らかにされ、既存の季節性ウイルスで誘導された記憶T細胞はH1N1pdm09ウイルスと交差反応することが相次いで証明された¹⁶⁾。また、H1N1pdm09ワクチン接種前に存在

していた中和抗体は、H1N1pdm09に交差結合しないことから、H1N1pdm09に応答する記憶B細胞は存在しないと考えられていた。しかし、H1N1pdm09ワクチンを接種すると、多数の体細胞突然変異を導入した抗体産生細胞がわずか1週間で誘導され、これが中和抗体を産生することが発見された¹⁷⁾。ナイーブB細胞が、抗原刺激後わずか1週間の短期間でこの頻度の体細胞突然変異を蓄積することは不可能と考えられるため、この結果は、H1N1pdm09に交差結合する記憶T細胞に加え、記憶B細胞が存在していたことを意味している。つまり、H1N1pdmワクチンについては、幸いにも季節性ワクチンと共通したB細胞・T細胞エピトープが存在していたため、抗体産生誘導能とワクチン有効性に問題が生じなかったと考えられている。

H1N1pdm09ワクチン接種前の血清抗体は中和活性を示さなかった一方で、ワクチン接種により記憶B細胞が速やかに活性化し、中和抗体を産生することができた。この一見矛盾する現象の解析が進むにつれ、今日では前述の幹領域のような多様性の少ない領域に含まれるB細胞エピトープが本現象に関与していると考えられている。つまり、季節性ウイルスで誘導された記憶B細胞の多くは季節性ウイルスに特有のB細胞エピトープを認識するため、ワクチン接種前に存在する中和抗体の交差結合性は検出限界以下となる。しかし、幹領域のような多様性の少ないB細胞エピトープを認識する記憶B細胞も少ないながら存在し、H1N1pdm09ワクチンを接種すると、この記憶B細胞が優先的に応答して抗体産生細胞に分化したため、中和抗体が速やかに産生されたという

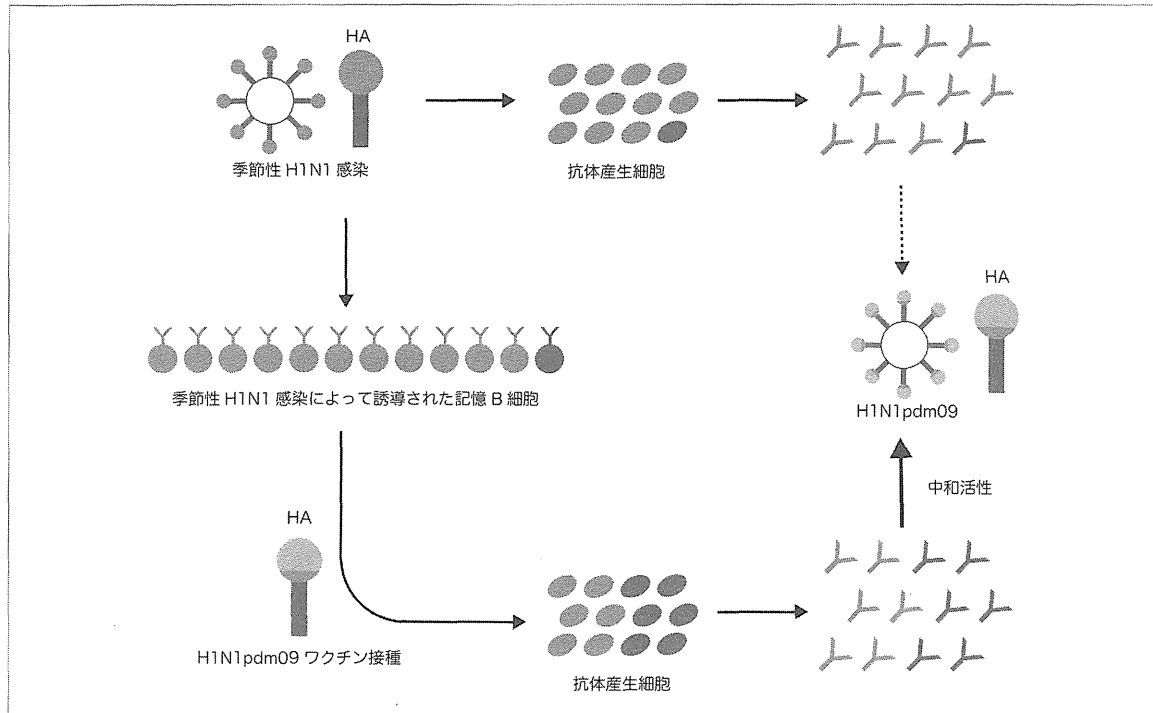


図6 H1N1pdm09ワクチン接種による交差結合性抗体の産生モデル
 季節性ウイルス感染により、季節性ウイルス特異的なB細胞エピトープ(図中、青)もしくは交差結合性を示す幹領域(図中、赤)を認識する記憶B細胞が誘導される。H1N1pdm09ワクチン接種により、季節性H1N1とH1N1pdm09の幹領域に交差結合する記憶B細胞が優先的に抗体産生細胞へと分化するため、H1N1pdm09に交差結合性をもつ中和抗体が速やかに産生される。

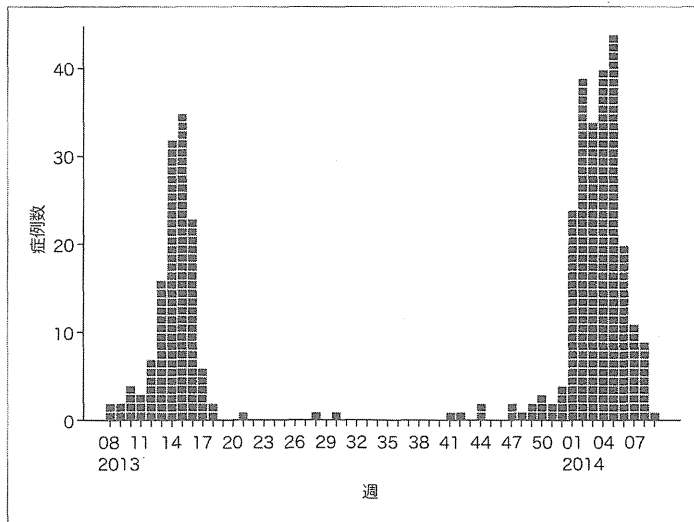


図7 中国におけるH7N9ウイルスの症例数
 2013年のはじめ、H7N9の症例(第一波)が報告された。流行ピークを過ぎ発症は沈静化したかと思われたが、2013年秋口より再び症例(第二波)が報告され始めた。
 文献19(WHOによる報告-2014年2月28日)より引用。

一度のワクチン接種でどのようなサブタイプのウイルスにも有効な“ユニバーサルワクチン”への応用が期待されている¹⁸⁾。

2. H7N9ワクチン

2013年のはじめに、ヒトへの感染がこれまで知られていなかった新型H7N9トリインフルエンザの感染者が中国において初めて報告された。ヒトからヒトへの感染は今のところ限定的であると考えられており、インフルエンザの流行シーズンが過ぎたことや家禽市場の閉鎖などの対処により症例は一時減少した。しかしながら、秋口より再び症例が報告され始め、現時点(平成26年3月)では中国本土および香港、台湾において300以上の症例が報告されている¹⁹⁾(図7)。今回のH7N9ウイルスによる発熱などの症状はH5N1ウイルスと比較して長期間持続し、致死率は20%以上と病原性が高い²⁰⁾。

これまで得られているH7N9ウイルスの構造的・免疫学的な特徴から判断すると、残

モデルが考えられている(図6)。この構造の保存された幹領域を標的としたワクチンデザインが国際的に進められており、将来的に

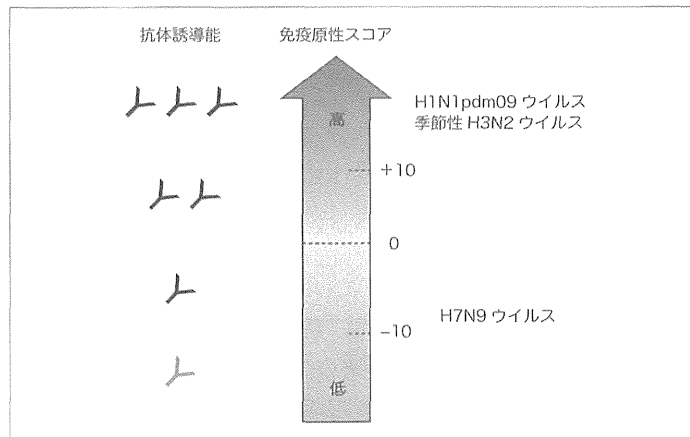


図8 免疫インフォマティクスによるH7 HAの免疫原性予測
HAのアミノ酸配列から、HA1分子に含まれるHLAリガンド(T細胞エピトープ)の数より予測される免疫原性を示す。H7 HAは他のウイルスと比較してT細胞エピトープの数が格段に少なく、そのため免疫原性が低いことが予測された。予測された免疫原性スコアは、H1N1pdm09(+18.22)、季節性H3N2(+14.30)、H7N9(-8.11)。文献21を参考に作成。

念ながらこのH7 HAには、季節性ウイルスやH1N1pdm09ウイルスのHAと共通したB細胞・T細胞エピトープ数が少ないと推察されている。実際、H7 HAのアミノ酸配列を免疫インフォマティクス手法によって解析すると、H7 HA内に存在し季節性ウイルスと交差結合するT細胞エピトープの数は他のウイルス株と比較して格段に少ない(～17%)²¹⁾(図8)。この予測結果を支持するように、中国のH7N9ウイルス感染者の血清中にはH7 HAに対する中和抗体が低レベルでしか存在しないことが報告された。また、ウイルス様粒子の形状にしてワクチン免疫原性の改善を試みたにもかかわらず、H7N9ワクチン接種者のうち防御抗体が誘導されたのはわずか3%のみであり、同一抗原量の季節性ワクチン、H1N1pdm09ワクチンの効率とは明らかに異なっていた²²⁾。

さらに特筆すべき知見として、中国のH7N9ウイルス感染者のH7 HA抗体は、季節性HA抗体に比べて低親和性であった²³⁾。この結果は、感染者で誘導されたH7 HA抗体が、既存の記憶B細胞由来でなく、H7 HAにより一次抗原刺激を受けたナイーブB細胞に由来する可能性を示唆する。以上の結果から、季節性ウイルスで誘導された記憶B細胞や記憶T細胞は、H1N1pdm09のケースと異なり、H7N9にはあまり交差反

応しないと考えるほうが現時点では妥当である。では、このような既存の記憶細胞を刺激可能なB細胞・T細胞エピトープが存在しないウイルスに対して、どのようにしたら抗体を誘導できるのだろうか？ ウイルス様粒子の構築でも十分な抗体産生を誘導することはできなかったが、さらにアジュバントを添加したワクチンを2回接種すると、約80%の接種者に防御抗体を賦与できることが報告されている²²⁾。このことから、ウイルス様粒子の構築、アジュバント添加、2回接種という、現時点で考えられる複数の免疫原性改良法を組み合わせることにより、B細胞・T細胞エピトープ数の不足という抗原構造の課題は克服できるかもしれない。

おわりに

既存の記憶B細胞・T細胞と交差する抗原エピトープ数が減少したH7N9ウイルスのような新型ウイルスが発生した場合、現時点では、アジュバント添加型ワクチンの複数回接種により、抗原未感作B細胞から、高親和性抗体を誘導する方法を取らざるを得ない。ただ、副反応や複数回接種に伴うワクチン必要量の増加といった課題が残されており、副反応のリスクが少なく、単回接種で終生免疫を賦与可能な新しいタイプのワ

クチンの開発が強く望まれている。特にB細胞エピトープの改善策として、どのウイルスにも共通して存在する幹領域が現在脚光を浴び、幹領域のB細胞エピトープを利用したワクチン開発研究が国際的に盛んに行われている。また、既存の記憶T細胞の活性化を促すT細胞エピトープを人為的に導入したワクチン開発も進められており、今後、これらの方法論を組み合わせることにより一度の接種によりどのようなサブタイプのインフルエンザウイルスにも有効なワクチン開発が可能になるかもしれない。現在、パンデミックが危惧されているH7N9やH5N1のほかにも、H10N8といった新型ウイルス株の症例が報告されている²⁴⁾。これらパンデミックの危険性をもったインフルエンザウイルス株に対して、科学的基盤に基づき安全で予防効果の高い次世代ワクチンの開発が今後期待される。

参 考 文 献

- 1) Gambin SJ, Skehel JJ. Influenza hemagglutinin and neuraminidase membrane glycoproteins. *J Biol Chem* 2010; 285 : 28403-9.
- 2) Stephenson I, Nicholson KG, Glück R, *et al*. Safety and antigenicity of whole virus and subunit influenza A/Hong Kong/1073/99 (H9N2) vaccine in healthy adults : phase I randomised trial. *Lancet* 2003 ; 362 : 1959-66.
- 3) Jennings R, Clark A, Oxford JS, *et al*. Reactogenicity and immunogenicity of whole and ether-Tween-split influenza A virus vaccines in volunteers. *J Infect Dis* 1987 ; 138 : 577-86.
- 4) Barry DW, Mayner RE, Staton E, *et al*. Comparative trial of influenza vaccine. I. Immunogenicity of whole virus and split product vaccines in man. *Am J Epidemiol* 1976 ; 104 : 34-46.
- 5) Vesikari T, Knuf M, Wutzler P, *et al*. Oil-in-water emulsion adjuvant with influenza vaccine in young children. *N Engl J Med* ; 2011 : 365 : 1406-16.
- 6) Clark TW, Pareek M, Hoschier K, *et al*. Trail of 2009 influenza A (H1N1) monovalent MF-59-adjuvanted vaccine. *N Engl J Med* ; 2009 : 361 : 2424-35.
- 7) Scherle PA, Gerhard W. Differential ability of B cells specific for external vs. internal influenza virus proteins to respond to help from influenza virus-specific T-cell clones in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988 ; 85 : 4446-50.
- 8) Deenick EK, Chan A, Ma CS, *et al*. Follicular helper T cell differentiation requires continuous antigen presentation that is independent of unique B cell signaling. *Immunity* 2010 ; 33 : 241-53.
- 9) Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, *et al*. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell* 2000 ; 102 : 553-63.
- 10) Galli G, Medini D, Borgogni E, *et al*. Adjuvanted H5N1 vaccine induces early CD4+ T cell response that predicts long-term persistence of protective antibody levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009 ; 106 : 3877-82.

-
- 11) Ikeno D, Kimachi K, Kudo Y, *et al.* A prime-boost vaccination of mice with heterologous H5N1 strains. *Vaccine* 2009 ; 27 : 3121-25.
 - 12) Weiner RS, Pelayo R, Nagai Y, *et al.* Lymphoid precursors are directed to produce dendritic cells as a result of TLR9 ligation during herpes infection. *Blood* 2008 ; 112 : 3753-61.
 - 13) Koren E, De Groot AS, Jawa V, *et al.* Clinical validation of the "in silico" prediction of immunogenicity of a human recombinant therapeutic protein. *Clin Immunol* 2007 ; 124 : 26-32.
 - 14) Greenbaum JA, Kotturi MF, Kim Y, *et al.* Pre-existing immunity against swine-origin H1N1 influenza viruses in the general human population. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009 ; 106 : 20365-70.
 - 15) Greenberg Me, Lai MH, Hartel GF, *et al.* Response to a monovalent 2009 influenza A (H1N1) Vaccine. *N Eng J Med* 2009 ; 361 : 2405-13.
 - 16) Richards KA, Topham D, Chaves FA, *et al.* CD4 T cells generated from encounter with seasonal influenza viruses and vaccines have broad protein specificity and can directly recognize naturally generated epitopes derived from the live pandemic H1N1 virus. *J Immunol* 2010 ; 185 : 4998-5002.
 - 17) Faenzi E, Zedda L, Bardell M, *et al.* One dose of an MF59-adjuvanted pandemic A/H1N1 vaccine recruits pre-existing immune memory and induces the rapid rise of neutralizing antibodies. *Vaccine* 2012 ; 30 : 4086-94.
 - 18) Ekiert DC, Willson JA. Broadly neutralizing antibody against influenza virus and prospects for universal therapies. *Curr Opin Virol* 2012 ; 2 : 134-41.
 - 19) WHO risk assessment of Human infectious with avian influenza A (H7N9) virus, 28 February 2014.
 - 20) Cowing BJ, Jin L, Lau EH, *et al.* Comparative epidemiology of human infections with avian influenza A H7N9 and H5N1 viruses in China: a population-based study of laboratory-confirmed cases. *Lancet* 2013 ; 382 : 129-37.
 - 21) DE Groot AS, Ardito M, Terry F, *et al.* Low immunogenicity predicted for emerging avian-origin H7N9: implication for influenza vaccine design. *Hum vaccine Immunother* 2013 ; 9 : 950-6.
 - 22) Fries LF, Smith GE, Glenn GM. A recombinant viruslike particle influenza A (H7N9) vaccine. *N Eng J Med* 2013 ; 369 : 2564-6.
 - 23) Guo L, Zhang X, Ren L, *et al.* Human antibody responses to avian influenza A (H7N9) virus, 2013. *Emerg Infect Dis* 2014 ; 20 : 192-200.
 - 24) WHO influenza at the human-animal interface. Summary and assessment as of 25 February 2014.
-

