

総 説

経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発

長谷川秀樹

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 第六室
 (〒208-0011東京都武蔵村山市学園4-7-1)

【要約】

メキシコを発端とする新型インフルエンザがヒトの間での感染が広がりを見せている。新しい抗原を持つウイルスは多くのヒトが免疫を持たない為容易に感染が広がると考えられる。インフルエンザの感染防御にはウイルスの侵入門戸である上気道の粘膜の免疫が重要な働きをする。粘膜における免疫機構のメカニズムの解明が進みインフルエンザウイルスのような粘膜を介して感染する病原体の感染防御における粘膜免疫の重要性が認識されるようになった。粘膜上での免疫応答を理解しそれを応用する事により次世代の経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発について概説する。

【粘膜ワクチンの開発】

現在インフルエンザウイルスに対するワクチンは現在、季節性インフルエンザの流行予測に基づいて不活化ウイルス(“split-product” vaccines or “subunit” vaccine)を用いた皮下接種ワクチンが使われている。これは感染予防を目的とするものではなく発症予防、重症化予防を目的としている。皮下接種ワクチンでは主に血中の中和抗体であるIgG抗体が誘導される。このIgG抗体はウイルスの感染自体を予防するものではなく更にワクチン株と比較し変異したウイルス株に対する交叉防御能が低いためワクチン株と流行株に違いがあった場合は有効性が低い。一方インフルエンザウイルス感染により誘導される免疫は主に気道粘膜への分泌型IgA抗体でありこの抗体は粘膜上で働き感染自体を防御する働きがあり更に変異株に対する交叉防御能が高いのが特徴である。ウイルスの自然感染と同様に粘膜でのIgA抗体を誘導するためにはインフルエンザウイルス感染を模倣する必要がある。そのためには防御を必要とする部

位へのワクチン接種が必要でそれにより最も効果的な免疫誘導を行う事ができる。インフルエンザウイルスの最初の感染部位は上気道であり鼻腔粘膜にワクチン接種をすることにより粘膜へのインフルエンザ特異的分泌型IgA抗体の誘導の試みが行われてきた。不活化ウイルス抗原よりなるワクチンを経鼻接種することにより粘膜免疫を誘導するものであるが抗原のみを接種しても免疫応答はほとんど見られない。抗原と共に抗原提示細胞を刺激するアジュバントを投与する事が必要である。田村らはアジュバントとしてコレラトキシンのBサブユニット(CTB)を用いることにより粘膜表面へのHA特異的分泌型IgAの誘導に成功しさらにそのIgA抗体がサブタイプの違うインフルエンザウイルスに対する交叉防御に非常に有効であることを示してきた^{1, 2}。しかしスイスのワクチンメーカーが行った大腸菌易熱性毒素(LT)をアジュバントとして用いた経鼻インフルエンザワクチンの臨床試験においてワクチン接種後に顔面神経麻痺(ベル麻痺)の発生が見られワクチンとの関連が

否定できない事から細菌毒素系のアジュバントは未だ臨床応用されていない。粘膜投与型ワクチンの開発にはより安全で効果的な粘膜アジュバントの開発が不可欠となっている。

【自然免疫 (Innate immunity)とアジュバント作用】

我々はより安全でヒトで応用可能な新しいアジュバントの開発を試みている。粘膜上に獲得免疫を得るためには抗原と共に自然免疫 (Innate immunity)の刺激が必要である。ウイルス感染を模倣することにより感染時と同様に有効な獲得免疫が誘導される事が期待できる。インフルエンザウイルスはマイナス一本鎖RNAをその遺伝情報として持つRNAウイルスであり、感染の際にその一本鎖RNAがTLR-7(Toll like receptor 7)により認識され最初のウイルス感染の信号として細胞に伝えられる事がわかってきた³。その後増殖の過程で二本鎖RNA (dsRNA) が存在しTLR-3(Toll like receptor3)により認識される。このようにインフルエンザウイルスは感染直後から生体によって様々な感染の信号を認識される。そこで我々はアジュバントとしてウイルスが増殖するときに産生するdsRNAに注目した。合成dsRNAであるpoly(I:C)をA/PR8インフルエンザHAワクチンと共に3週間の間隔で2回経鼻接種した。最終免疫から2週間後の鼻腔洗浄液中にはHA特異的分泌型IgA抗体が誘導され、血清中には特異的IgG抗体が誘導された。さらにワクチンとpoly(I:C)で経鼻免疫されたマウスは40LD50のウイルスチャレンジ感染に対して抵抗性をしめし100%生存し、感染の兆候も全く見られなかった。誘導されたIgA抗体の交叉防御能を見るためサブタイプの異なるA/Yamagata, A/ Guizhou, さらにB型であるB/Ibarakiのワクチンを用いpoly(I:C)と経鼻接種を行った。するとA/Yamagata, A/

Guizhouワクチン接種群においては鼻腔洗浄液中のIgA抗体は違うサブタイプのA/PR8に対して高い交叉反応性を示した。さらにこれらのマウスはA/PR8株のウイルスのチャレンジに対し完全防御を示した⁴。このようにTLR3のリガンドであるdsRNAをワクチンと共に経鼻接種することによりワクチンのみでは誘導できなかった獲得免疫である粘膜免疫応答を誘導できTLR3の刺激がウイルス感染時のNALTでの免疫応答スイッチであることが証明された⁴。

ヒトで使える経鼻ワクチン開発の為にヒトでの使用に安全なアジュバントが必要になる。我々は内因性のインターフェロン誘導薬として米国で第Ⅲ相臨床試験が終了している二本鎖RNA製剤Ampligen (polyI:polyC₁₂U)に注目した。Ampligenをアジュバントに用い不活化H5N1インフルエンザワクチンと共に経鼻投与する事によりpoly(I:C)を用いた時と同等の粘膜免疫応答が誘導されワクチン株(ベトナム株)とcladeの異なるインドネシア株の高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)に対し感染防御が可能であった⁵。さらに、05/06年のシーズンルインフルエンザワクチンをマウスにAmpligenと共に経鼻接種したところ、亜型の異なる高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)での攻撃感染に対し有意に生存率を向上させた⁶。皮下接種ではこのような効果は認められなかった。現在臨床応用に向けた研究を進めている。

インフルエンザウイルスの自然感染時に起こる事象を解析する事によりその生体応答を利用し安全で効果的な防御が可能になる。自然免疫から獲得免疫まで様々な多重の防御機構が働いて一つが破綻してもすぐにバックアップがとられて個体をウイルス感染の驚異から守っており、それらのネットワークにより個体が守られている。経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンは生体のメカニズムを利用した新しい感染防御手

段となる事が期待される。

【参考文献】

1. Tamura, S. et. al. 1992. Superior cross-protective effect of nasal vaccination to subcutaneous inoculation with influenza hemagglutinin vaccine. *Eur. J. Immunol.* 22 : 477-481.
2. Tamura, S. et. al. 1992. Cross-protection against influenza virus infection afforded by trivalent inactivated vaccines inoculated intranasally with cholera toxin B subunit. *J. Immunol.* 149 : 981-988.
3. Diebold, S. S., Kaisho, T., Hemmi, H., Akira, S. and Reis e Sousa, C. 2004. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science* 303 : 1529-1531.
4. Ichinohe, T. et. al. 2005. Synthetic double-stranded RNA poly(I:C) combined with mucosal vaccine protects against influenza virus infection. *J. Virol.* 79 : 2910-2919.
5. Ichinohe, T. et. al. 2007. Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C12U, a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. *Microbes. Infect.* 9 : 1333-1340.
6. Ichinohe, T. et. al. 2007. Cross-protection against H5N1 influenza virus infection is afforded by intranasal inoculation with seasonal trivalent inactivated influenza vaccine. *J. Infect. Dis.* 196 : 1313-1320.

Development of Intranasal mucosal Influenza vaccine

Hideki Hasegawa

Center for Influenza virus Researches, National Institute of Infectious Disease
(4-7-1, Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan)