

総 説

粘膜免疫を利用した経鼻インフルエンザワクチン

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)

【はじめに】

2009年4月インフルエンザウイルス対策を強化する目的で国立感染症研究所内にインフルエンザウイルス研究センターが設置された。設置から1ヶ月も経たない4月下旬メキシコを発端とする豚インフルエンザウイルス由来のH1N1亜型のウイルスがヒトでの感染拡大を示し瞬く間に世界中に感染拡大を示した。一方で東南アジアを中心に高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)の家禽からヒトへの感染が報告され続けておりその高い致死率(60%以上)と全身感染を呈する病態から注目され更にヒトへの感染機会が増えているH5N1株由来のヒト新型インフルエンザの発生と大流行が危惧されている。新型インフルエンザウイルスのように免疫を持たない個体への高い感染性を目の当たりにすると感染予防には効果の高いワクチンの開発が不可欠である。しかし現行の注射によるワクチン接種では流行株の予測が不可能な新型インフルエンザに対してはその効果に限界がありより効果の高いワクチンの開発が望まれている。ここで効果の高いワクチンとは感染後の重症化予防ではなく感染を阻止する能力がある事、またインフルエンザウイルスのように変異をし易い病原体に対しては変異型のウイルスに対しても予防効果を発揮する事等が挙げられる。インフルエンザウイルスのような上気道の粘膜から感染する急性感染症の場合、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。本稿では粘膜免疫の利点を活用したインフルエンザウイルス感染防御を目指す経鼻インフルエンザワクチンの開発について概説する。

【インフルエンザウイルスと生体による
感染認識】

インフルエンザウイルスはオルソミキソウイルス族(Orthomyxoviridae)に分類され主にA型及びB型がヒトに感染し上気道炎を中心とする急性呼吸器症状及び小児における脳症を引き起こす。免疫を持たないヒトでの感染性は非常に強く2009年に出現した豚インフルエンザウイルス由来の新型インフルエンザウイルスH1N1pdmにおいては若年層を中心に世界中に感染拡大を広げた。さらに近年東南アジアを中心に高病原性鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染する事例が発生し致死的な病気を起こしている。これら高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒトでの発生も依然として続いておりこれがヒトからヒトへの感染能力を獲得しヒトの新型インフルエンザとなりパンデミック(大流行)を引き起こす危険性が危惧されておりそれらに備えたワクチンの開発が急務となっている。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が宿主細胞の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生体に

伝えられる事がわかってきた。またウイルスの増殖の過程で二本鎖RNAが作られそれらはTLR-3 (Toll like receptor3)により感染の信号として認識される。このようにインフルエンザウイルスは感染直後から細胞によって様々な感染の信号を出し生体によって認識され感染防御の為に免疫機構が動き始動する。これら感染の信号を受けて粘膜上引き起こされる免疫応答を検証することによってインフルエンザウイルス感染の防御戦略を立てることができる。

【経鼻ワクチンの利点】

季節性インフルエンザウイルス感染防御のためのワクチンは現在、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抗体の誘導は見られるものの感染防御に働く粘膜上の分泌型IgA抗体の誘導は見られない。さらにIgG抗体は変異したウイルスに対する交叉防御能が低い場合ワクチン株と流行株に違いがあった場合はその有効性が低い。一方インフルエンザウイルスの感染により誘導される免疫には血中の中和抗体に加え気道粘膜上の分泌型IgA抗体がある。粘膜上に誘導されるIgA抗体には変異株に対しても有効である交叉防御能と感染前に働く点が防御上有利である。また抗体誘導部位が気道粘膜だけでなく全身の粘膜で誘導される点も有利な点である。高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)のヒトでの感染は呼吸器に留まらず腸管を初め他の臓器への感染が報告されている。気道や腸管を含む粘膜で分泌型IgA抗体が誘導されれば全身の粘膜からの感染を防御する事が可能である。そこで我々はワクチンを用いて自然感染と同様の分泌型IgA抗体に代表される粘膜免疫を誘導する方

法試みてきた。そのためには防御を必要とする粘膜部位へのワクチン投与が必要であり効果的な粘膜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の誘導の試み行われてきた。不活化ウイルス抗原よりなるワクチンを経鼻噴霧することにより粘膜免疫を誘導するものであるがワクチン抗原のみを接種しても免疫応答はほとんど見られない。不活化抗原を用いて効率よく粘膜免疫を誘導する為には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。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。

【経鼻ワクチンの開発】

粘膜免疫、とくに経鼻接種ワクチンを考える場合、抗原に加え抗原提示細胞の活性化物質であるアジュバントが必要である事を述べてきた。我々はより安全でヒトへの応用をふまえた新しいアジュバントの開発を試みている。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される。そこで我々は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が誘導され、血清中には特異的IgG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ウイルス株やB型のウイルスの

ワクチンを用いpoly(I:C)と経鼻接種を行った。するとA型ワクチン接種群においては鼻腔洗浄液中のIgA抗体は違う亜型のウイルスに対して高い交叉反応性を示した。さらに同じ亜型内であれば抗原性の異なるウイルスの攻撃感染に対し完全防御を示した。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鼻咽頭関連リンパ装置 (NALT) での免疫応答スイッチであることが証明された。

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相臨床治験が終了している二本鎖RNA製剤Ampligen (polyI:polyC₁₂U)に注目した。Ampligen (polyI:polyC₁₂U) のH5N1ワクチンに対するアジュバント効果を調べた。ベトナム株で作製した(NIBRG14)全粒子不活化ワクチンを Ampligenを用いて皮下接種及び経鼻接種した場合の様々なH5N1ウイルスに対する感染防御効果を調べた。ワクチン株と相同のベトナム株 (A/Vietnam/1194/04) や 非相同の香港株 (A/HK/483/97)の ヒトから分離された高病原性H5N1インフルエンザウイルスで攻撃感染を行った。経鼻接種群と皮下接種群に分け1 mg のベトナム株 (NIBRG14) ワクチンと10mg の Ampligen, を2回接種し最終免疫から2週間後に1000 PFUのそれぞれのH5N1 インフルエンザウイルスで攻撃感染を行った。相同株のワクチン接種群では皮下接種、経鼻接種共に100%の生存を示した。しかし感染3日目の鼻腔内のウイルス価は皮下接種群でコントロールの1/10に低下させたのみだったのに対し経鼻接種群ではウイルスが全く認められなかった。ここで皮下接種群は感染後の症状を緩和したのに対し経鼻接種群においては感染

自体を防御した事が示された。ベトナム株 (A/Vietnam/1194/04) の攻撃感染に対しコントロールの非免疫群は感染後12日までに全て死亡した。またワクチン株と非相同のヒトから分離された高病原性H5N1ウイルス株である香港株 (A/HK/483/97) で攻撃感染した場合ワクチンの皮下接種群では共に生存率をほとんど改善しなかったが経鼻接種群では0%から80%にそれぞれ改善した。この事はH5N1インフルエンザワクチンの経鼻接種によって誘導される粘膜免疫が皮下接種によって誘導される免疫と比較して変異株に対しても交叉防御反応がある事を示している。また季節性インフルエンザワクチンの経鼻接種による高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1の部分的防御能も示されてきた。さらに、実験室株であるA/PR8(H1N1)ウイルス由来のワクチンを経鼻接種し、2009年世界的流行を見せた新型のインフルエンザウイルスであるA/(H1N1)pdmによる感染を防げるかどうかを調べた。結果はワクチン非接種群においては生存率が40%だったのに対し、A/PR8ウイルス株の経鼻ワクチン接種により生存率が100%に改善された。このことは新型インフルエンザのパンデミック前に準備されたワクチンの経鼻接種によって抗原性の新しいウイルス株に対して防御効果がある事を示している。

【まとめ】

新型インフルエンザに対するワクチンは現行法ではパンデミックが起きた後にしか準備ができない。しかし経鼻粘膜投与型ワクチンの利用によりパンデミック前に有効なワクチンの準備が可能になる。毎年冬に流行を起こす季節性インフルエンザについても経鼻粘膜投与型不活化インフルエンザワクチンはその交叉防御及び感染防御型のワクチンとしての有利性があり早期の実用化が望まれる。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き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その効果は特に流行株の予測が不可能な新型インフルエンザに対して高い事が期待される。

【参考文献】

1. Peiris, J.S. et al. 2004. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet* 363, 617-619.
2. Diebold, S.S., Kaisho, T., Hemmi, H., Akira, S. & Reis e Sousa, C. 2004. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science* 303, 1529-1531.
3. Tamura, S.I. et al. 1992. Superior cross-protective effect of nasal vaccination to subcutaneous inoculation with influenza hemagglutinin vaccine. *Eur J Immunol* 22, 477-481.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.

Transnasal Influenza vaccine using the mucosal immunity

Hideki Hasegawa

Laboratory of Influenza Viruses, National Institute of Infectious Disease
(4-7-1, Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan)