

次世代ワクチンとしての 経鼻インフルエンザワクチンの開発

国立感染症研究所
感染病理部

長谷川 秀樹

現行の注射型インフルエンザワクチンの問題点

インフルエンザウイルス感染後の発症、重症化を
予防できるが感染防御するものではない。

ワクチン株と流行株が一致したときには有効であるが、
株が一致しない場合には効果が低い。

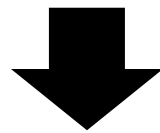
ワクチン株決定から製造までに最低半年かかる。

新型インフルエンザウイルスのパンデミックにおいては
流行株を予測することは不可能である。

次世代経鼻粘膜投与型ワクチンの目標

感染阻止！！

流行株がワクチン株とある程度一致しない場合にも
交叉防御能 (*cross-protection*) がある。



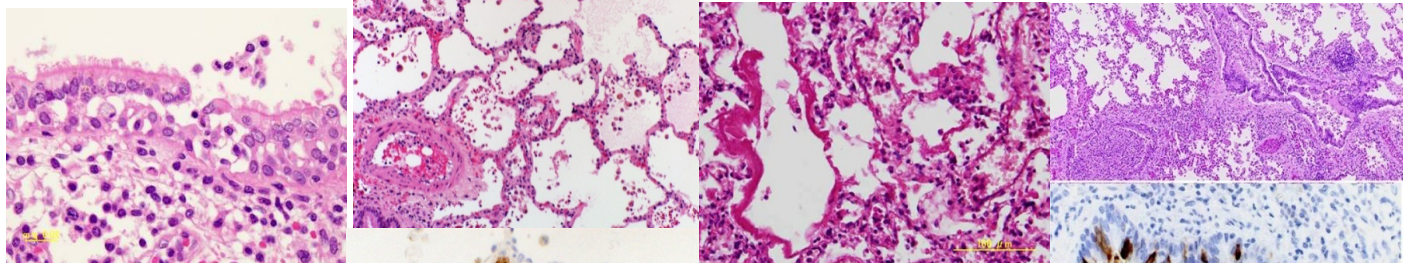
予測不能な**新型インフルエンザ**に対応できる！

プレパンデミックワクチンとして最適なワクチンである。
(ただしヒトで安全に使えるアジュバントが必要である。)

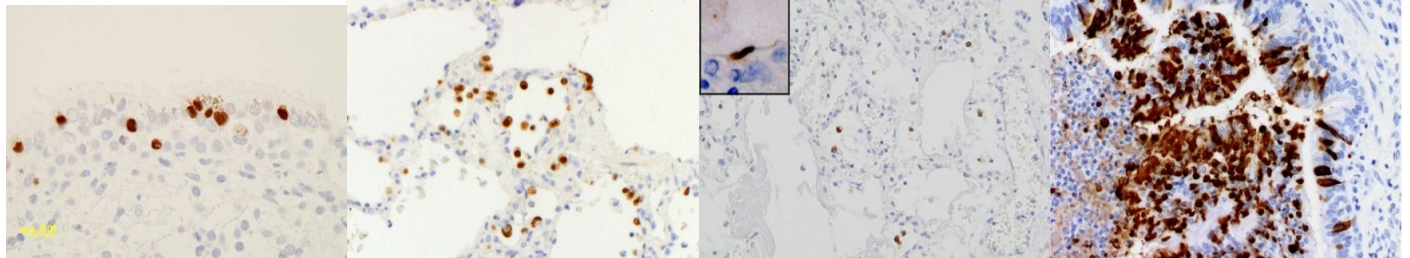
インフルエンザウイルスはどこに感染するのか！

	A/H1N1pdm	H5N1(human)	季節性
気管上皮	++	?	+
気管支・腺	+	?	++
細気管支	+	+	+++
肺胞上皮	- ~ +++++	+++	-
マクロファージ	- ~ ++	+++	?

HE staining



InfA-NP



経鼻インフルエンザワクチン：1980年代までの 知見

自然感染によって誘導される免疫は、不活化ウイルスの注射によるものよりも、変異ウイルス感染に対する交叉防御能が高い。

(*Schulman and Kilbourne, J Bacteriol 89:170, 1965)

○自然感染(経鼻免疫)によって誘導される(注射による免疫によっては誘導されない)交叉感染防御免疫には、気道粘膜上に分泌されるIgA抗体が関与している。

自然感染と同様にIgA抗体を誘導する経鼻免疫ワクチンに関する研究

1) 弱毒生ウイルスワクチン

低温馴化ウイルスワクチンの開発研究開始(*Maassab et al., Nature 213:612,1967.~)

2002年末、米国使用認可(*5~49歳の世代に限定して使用)。

2) 経鼻不活化ワクチン

経鼻不活化ワクチンの試み開始(*Waldman et al., Nature 218:594,1968.~)

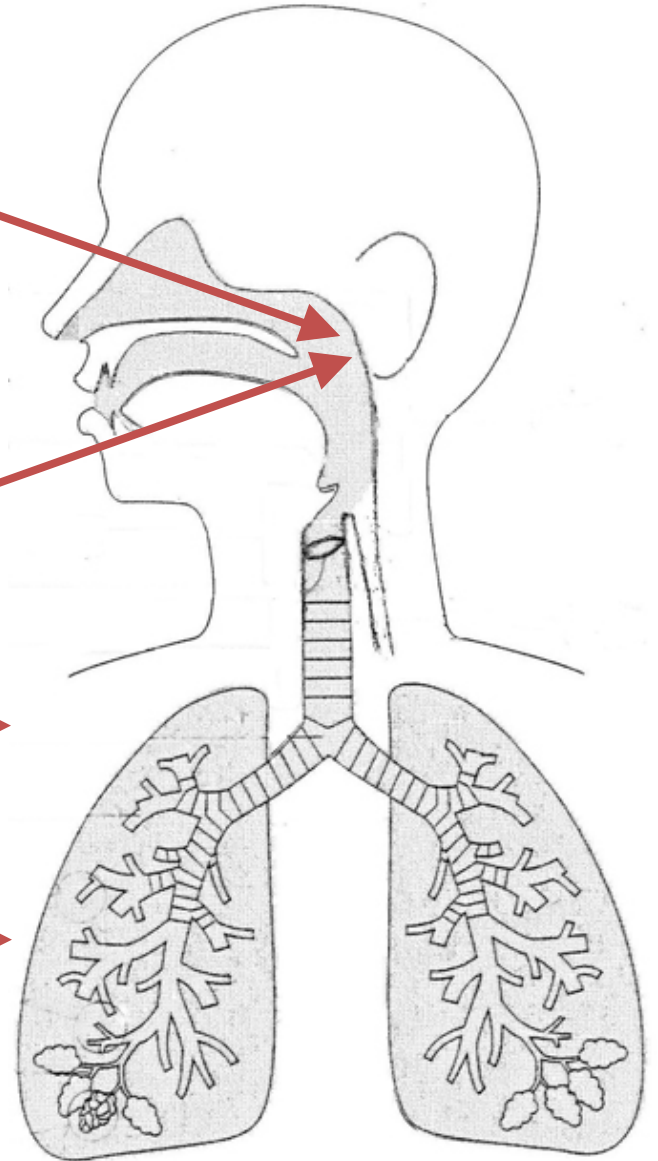


●不活化ワクチンのみの経鼻投与ではIgA抗体の誘導効率が低い。

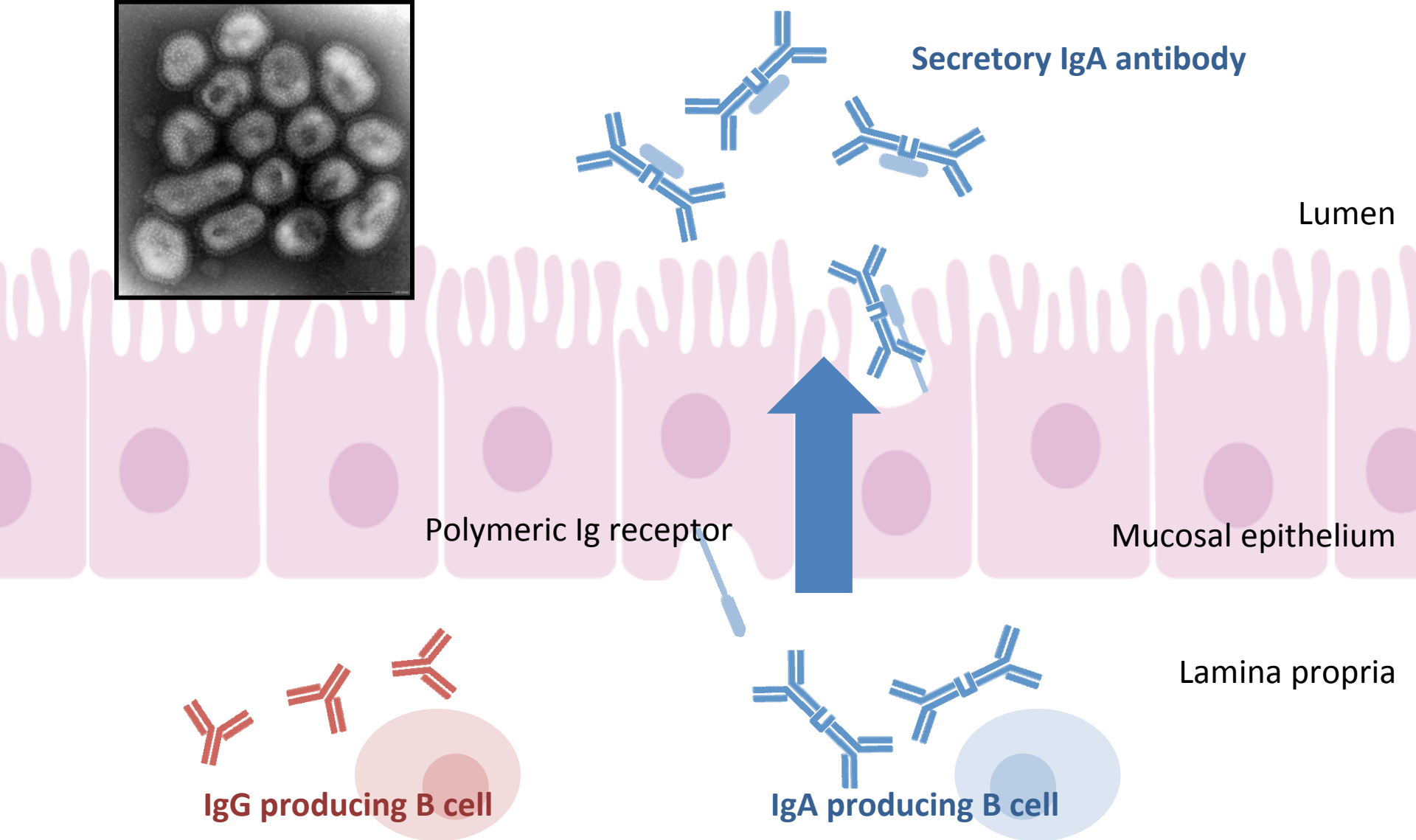
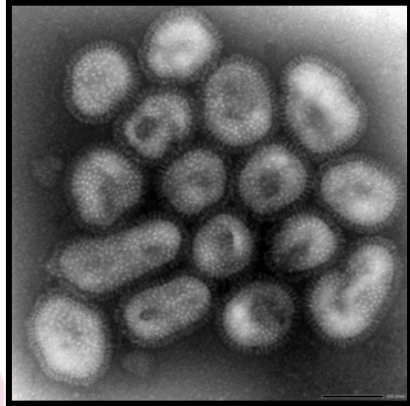
アジュバント併用経鼻不活化ワクチンの研究開始(*Tamura et al., Vaccine 7:257,1988.~)

インフルエンザウイルスの感染による免疫応答

1. 粘膜表面での
インターフェロンの分泌
2. 粘膜上への
分泌型IgA抗体の産生
3. 血中のIgG抗体の産生
4. 細胞障害性T細胞の誘導



粘膜表面での抗体応答



Secretory IgA antibody

Lumen

Polymeric Ig receptor

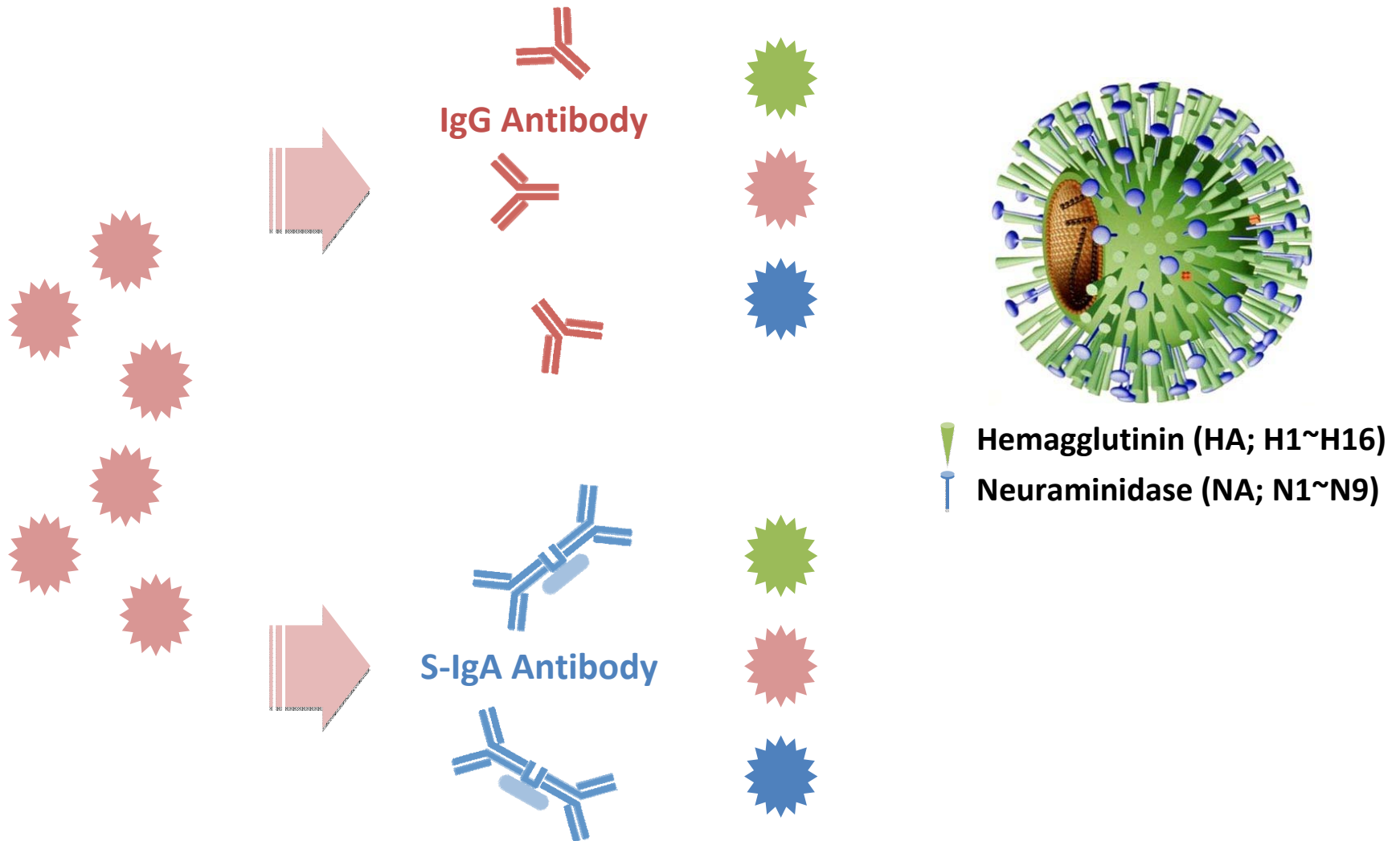
Mucosal epithelium

Lamina propria

IgG producing B cell

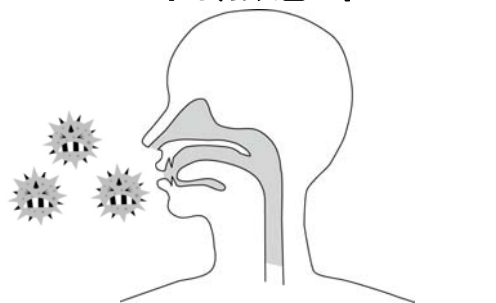
IgA producing B cell

分泌型IgA抗体による交叉防御

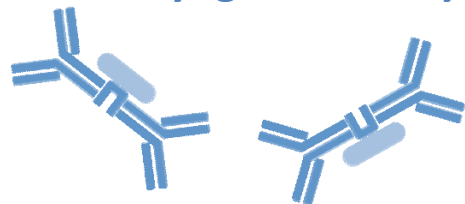


自然感染とワクチンによる抗体応答の違い

自然感染

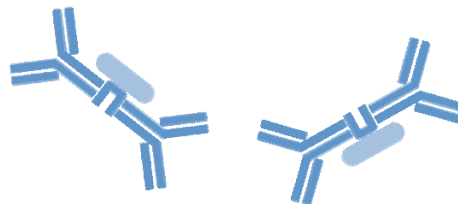
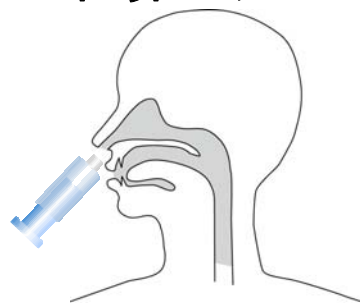


Secretory IgA Antibody

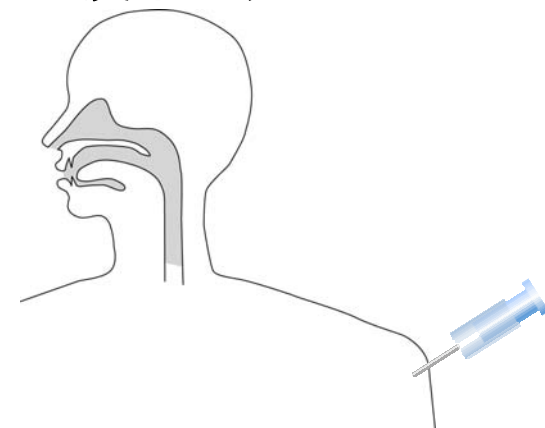


IgG Antibody

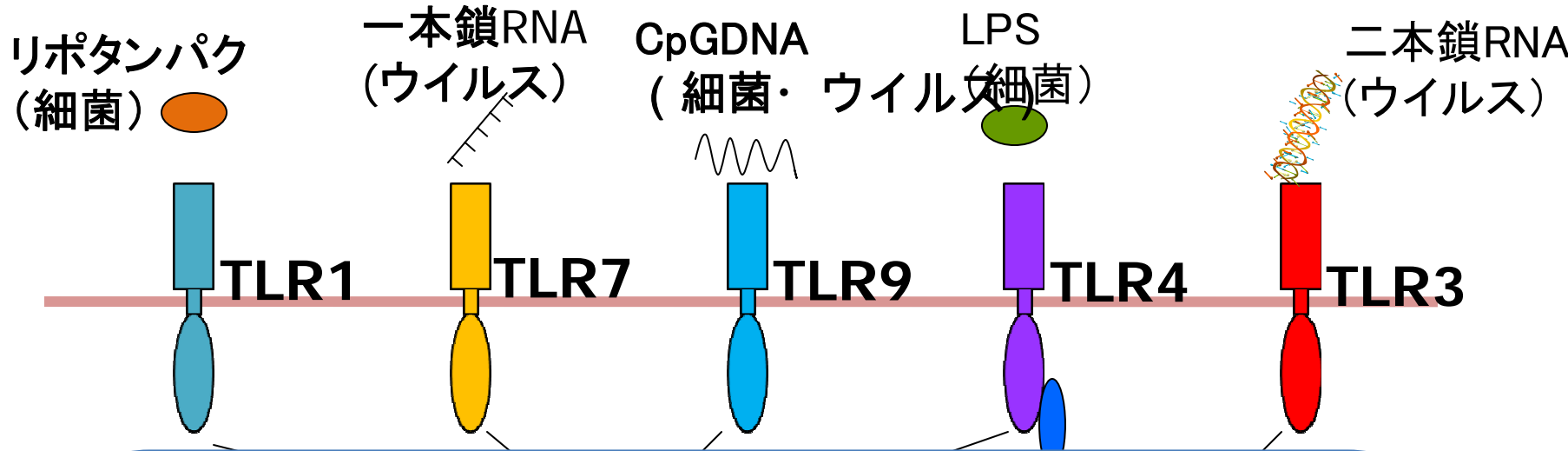
経鼻ワクチン



皮下ワクチン



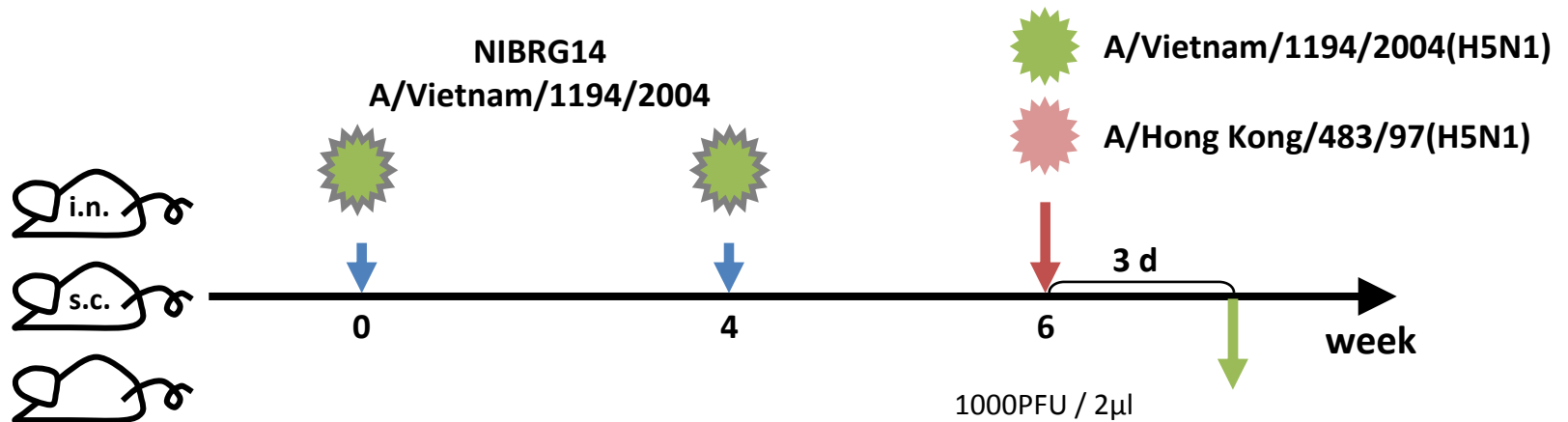
病原体認識機構 TLR (Toll-like receptor)



2011年ノーベル医学生理学賞
ジュールズ・ホフマン博士
ブルース・ボイトラー博士
「Toll-like receptorの発見」

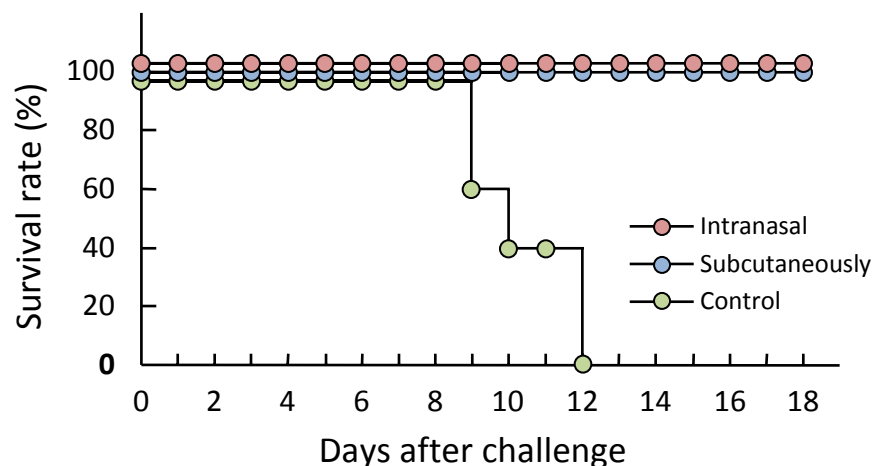
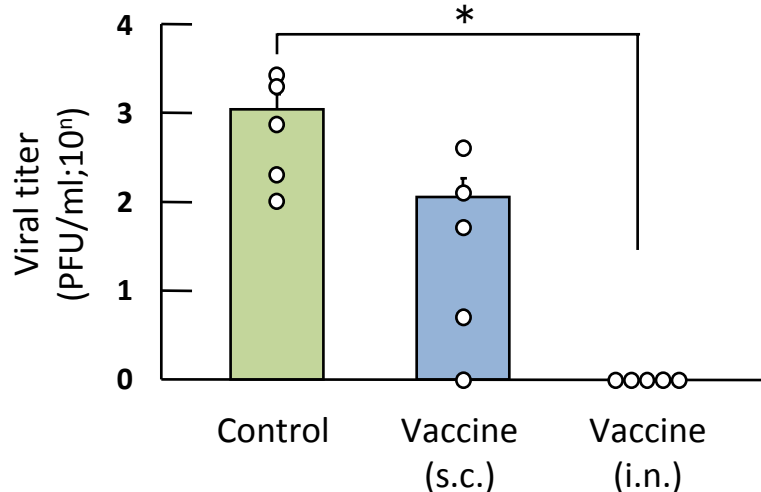
マウスでのH5N1 経鼻ワクチン

Vaccine, 1 μg : 不活化全粒子ワクチン
NIBRG14 (derived from A/Vietnam/1194/2004)
Adjuvant, 10 μg : PolyI:PolyC₁₂U (Ampligen[®])

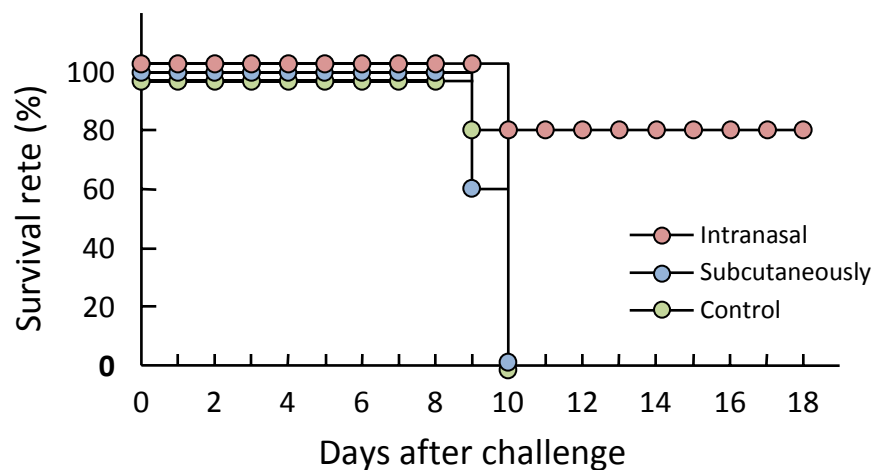
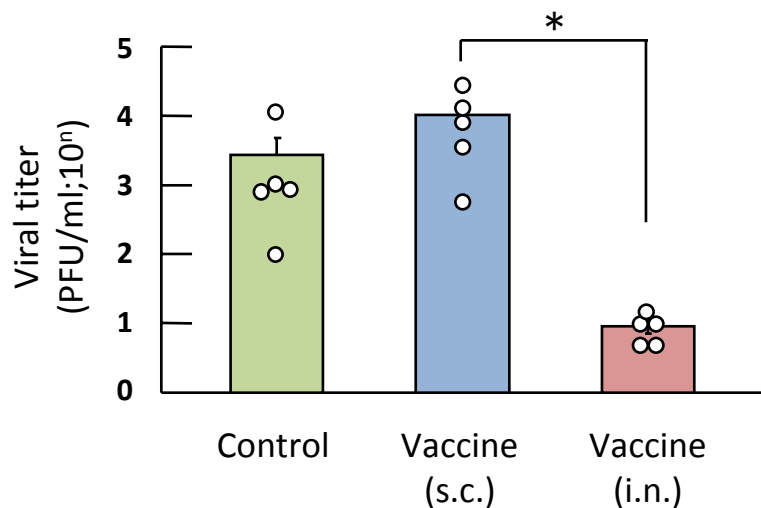


マウスでの感染防御と交叉防御

A/Vietnam/1194/05 challenge (homologous)

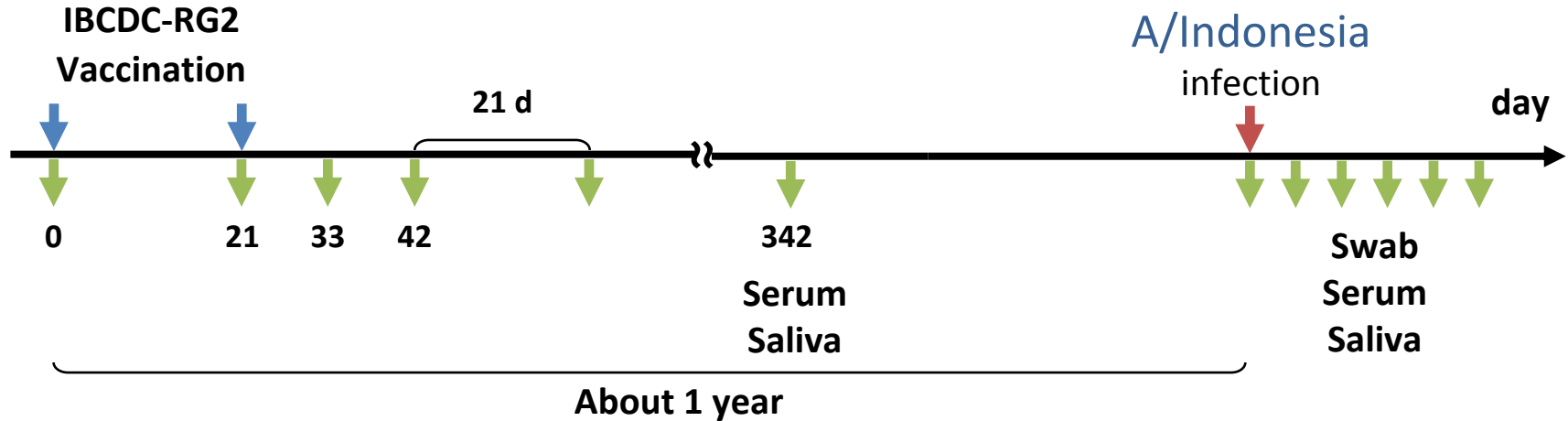


A/Hong kong/483/97 challenge (heterologous)



カニクイザルでのH5N1経鼻ワクチン

Adjuvant; Ampligen



IBCDC-RG2; Vaccine strain A/Indonesia/5/05 (H5N1)

Group	No.	Vaccination		
1	#4616, #4617, #4618	IBCDC-RG2	Ampligen 450 µg	
2	#4620, #4621, #4622	IBCDC-RG2	Ampligen 450 µg + CVP	
3	#4623, #4624, #4680	IBCDC-RG2	Ampligen 900 µg	
4	#4682, #4684, #4686	IBCDC-RG2	CVP	

マウス・カニクイザルの次は！

マウス、サルを用いた実験において

経鼻噴霧型インフルエンザワクチンにより、

1. 上気道にてウイルスの感染を阻止する。
2. 肺にウイルスが侵入してもウイルス性肺炎にならない。
3. 流行株と異なる変異ウイルスに対する交叉防御。



では、ヒトではどうなのか？

鼻腔の粘液中の抗体はインフルエンザウイルスを中和できるのか？

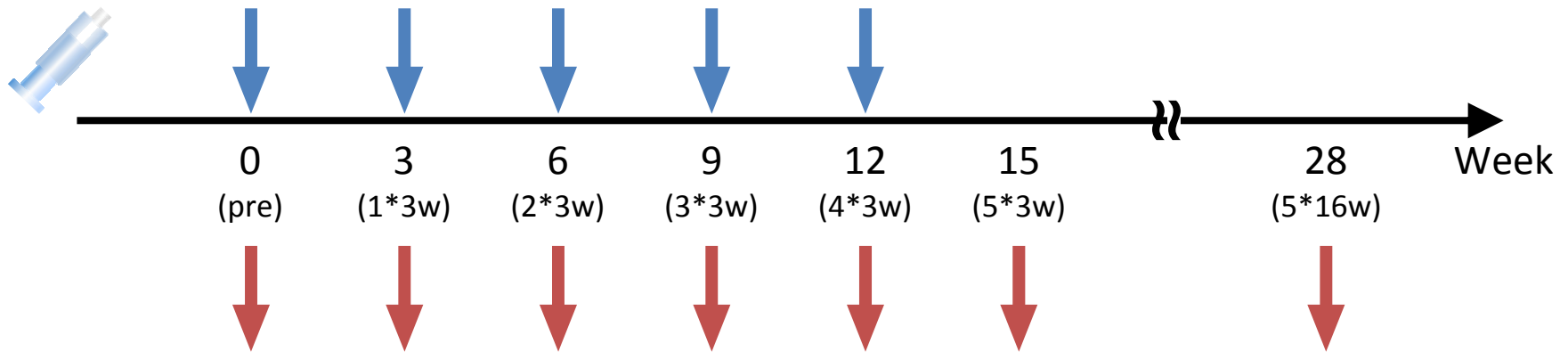


ヒトの鼻腔洗浄液中の機能的な抗体を測定することで、
経鼻投与型インフルエンザワクチンの有効性を評価する。

ワクチン接種スケジュール

ワクチン; 現行季節性インフルエンザワクチン(スプリットワクチン)
A/Uruguay/716/2007 (H3N2) [2009/10シーズン]
3倍濃度 (45 μ g HA/dose)
500 μ l 噴霧 (片鼻250 μ l 噴霧)

参考; Sakai et al., 1994, Vaccine, 12;1303-10



被験者; P1 (♂、23歳)
P2 (♂、33歳)
P3 (♂、42歳)
P4 (♂、42歳)
P5 (♂、68歳)

現行ワクチンの「評価基準」

1. 被接種者の血清のHI抗体価の代数平均の接種前と接種後の比が >2.5 である。
2. 被接種者の血清のHI抗体価が、接種前に1:10以下から接種後1:40以上になったヒトの割合(Seroconversion rate)、あるいは、接種前に1:10あるいはそれ以上から接種後その4倍以上になったヒトの割合(Significant increase)が $>40\%$ である。
3. 被接種者の血清のHI抗体価が、40倍以上であるヒトが $>70\%$ である。

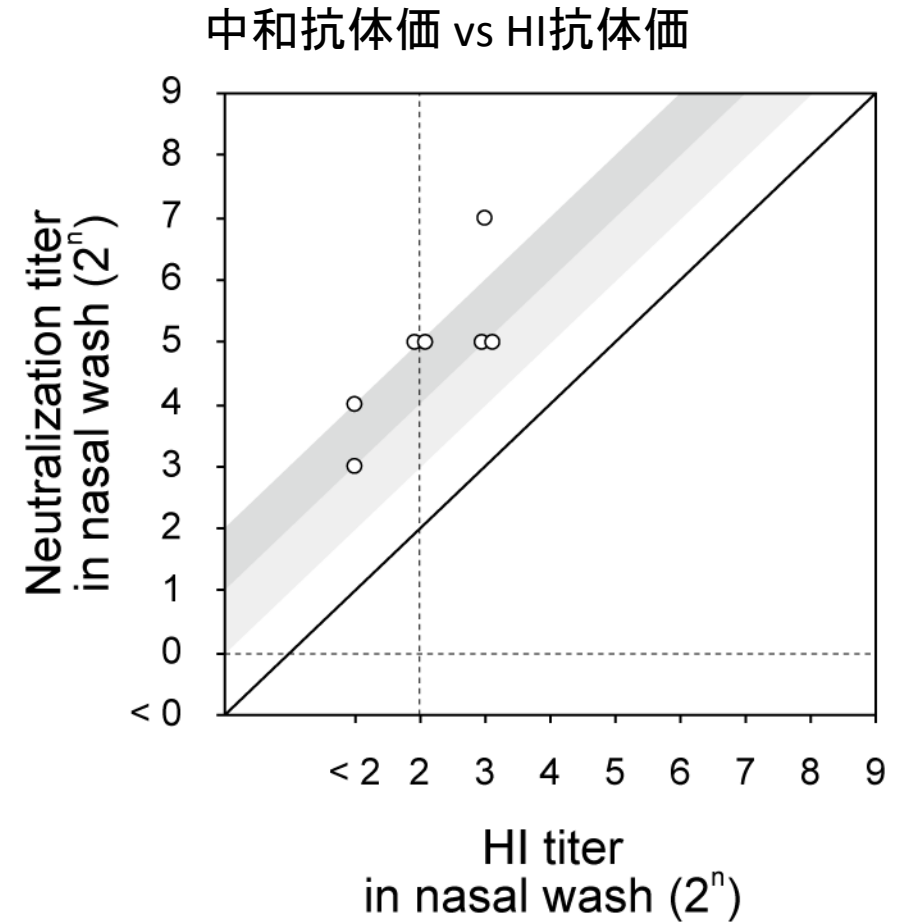
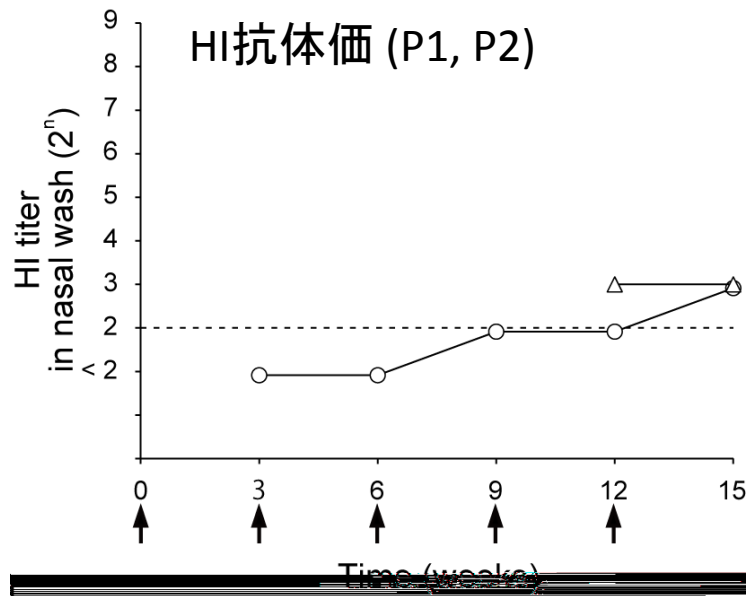
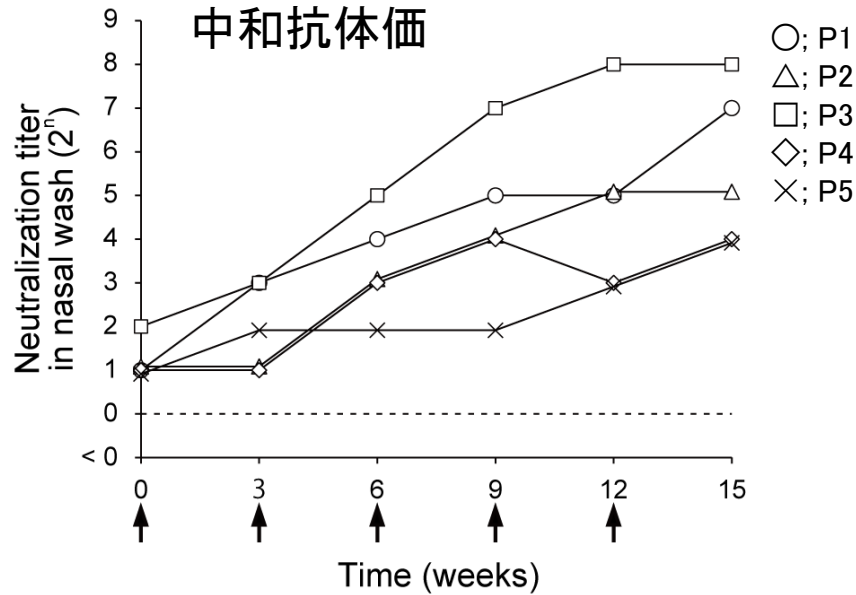
* The European Agency for the Evaluation of Medical Products (EMA) :
Criteria for HI Ab response for people aged 18-60 years

ヒトの鼻洗浄液検体のIgA & IgG含量

		Total Protein	IgA	IgG
Nasal Mucus* (n=57)	mg/ml (%)	15.33 ± 9.1 (100)	0.24 ± 0.11 [monomeric] 1.97 ± 1.49 [polymeric] (14.37)	0.79 ± 0.84 (5.12)
Nasal Wash (n=10)	濃縮 mg/0.43 ± 0.06ml (%)	1.65 ± 0.55 (100) 1mg/ml	0.38 ± 0.19 (21.68) 0.22mg/ml	0.09 ± 0.04 (5.65) 0.06mg/ml

*; Kurono Y, and Mogi G. Ann OtolRhinol Laryngol 1987, 96:419-24

鼻腔洗浄液のHI抗体価および中和抗体価の推移



鼻洗浄液の抗体評価

- ✓ 鼻腔洗浄液を用いた機能的抗体を評価することができた。
- ✓ 血清では4回目の接種で現行の基準を超えた。
- ✓ 鼻腔洗浄液中で中和活性を示すのは、主にIgA抗体である。

課題

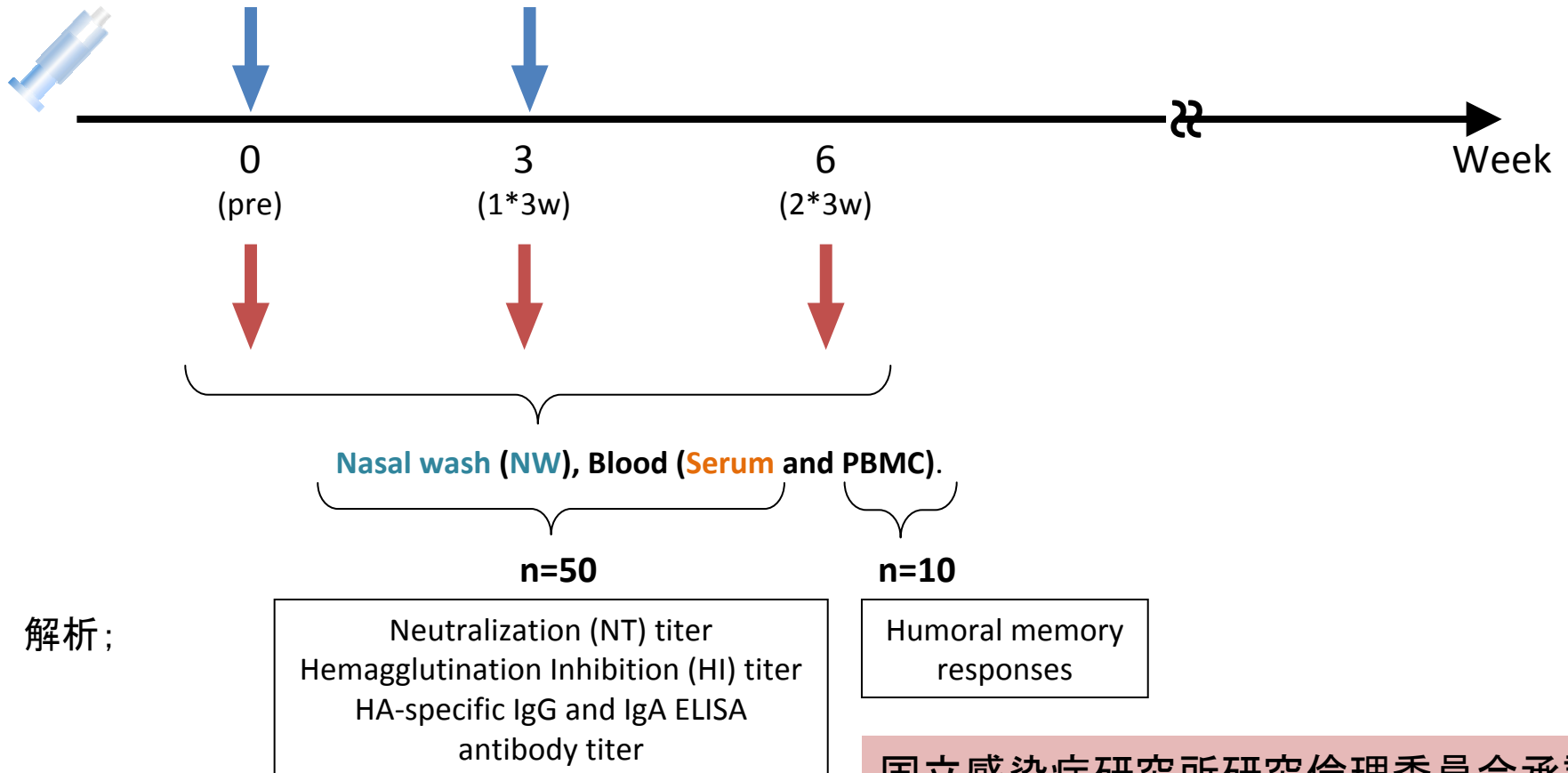
- 統計的な優位性を示すためには、より規模の大きい試験を実施する必要がある。
- 抗原量や接種回数をもっと少なく効果あるワクチンデザインが必要。

ワクチン接種スケジュール

ワクチン; 全粒子不活化インフルエンザワクチン

A/Victoria/210/2009 (H3N2) [2010/11シーズン] (45 μ g HA/dose)

500 μ l 噴霧 (片鼻250 μ l 噴霧)



結語

1. 経鼻ワクチンの効果評価に血清に加え鼻腔洗浄液が有用でありその標準化方法を確立した。
2. 経鼻噴霧型インフルエンザワクチン接種は、ヒトにおいても現行の評価基準を満たす可能性を示した。
3. 中和活性を示す抗体は、血中ではIgG抗体であり、鼻腔洗浄液中ではIgA抗体であることを改めて示した。
4. 経鼻不活化全粒子ワクチンを3週間隔で2回投与する事によりヒトで血清中及び鼻洗浄液に、HI・中和抗体応答を誘導した。

課題

1. 鼻腔洗浄液の中和抗体価と実際の感染防御の相関を示す必要がある。
2. ナイーブな個体での粘膜免疫誘導についての検討が必要。
3. ワクチン量の低減の必要性。

謝辞

国立感染症研究所

(感染病理部、インフルエンザウイルス研究センター)

相内章

鈴木忠樹

Elly val Riet

伊藤 良

中島典子

田村 慎一

倉田 毅

佐多 徹太郎

田代 真人

小田切 孝人

東興薬品工業株式会社

宮崎 隆

上下 泰三

一般財団法人 阪大微生物病研究会

奥野 良信

石川 豊数

真鍋 貞夫

五味 康行

谷本 武史