

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会研究開発及び生産・流通部会  
平成26年5月23日



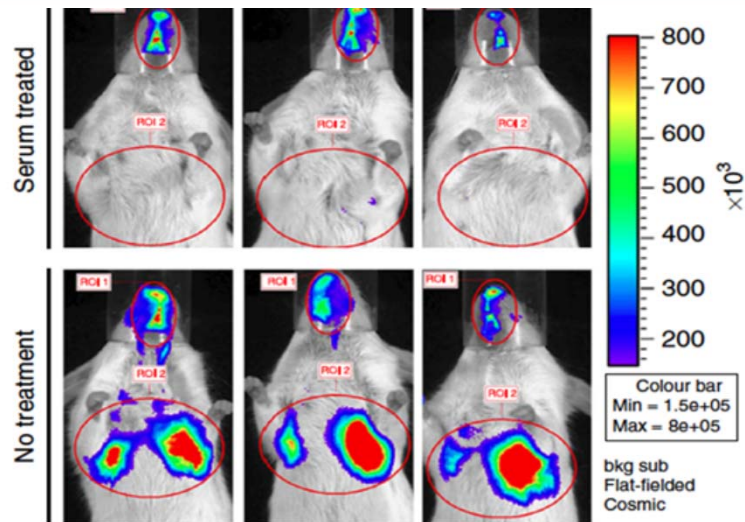
## 次世代ワクチンとしての 経鼻インフルエンザワクチン

長谷川秀樹  
国立感染症研究所  
感染病理部

### 何故インフルエンザには次世代ワクチンが必要か？

- ・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。
- ・ワクチン株と流行株の抗原性がかい離しており(特にH3)  
流行株に対するHI抗体価が上がりにくい。
- ・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。
- ・H5N1 沈降全粒子不活化ワクチン(アルミニウムアジュバント)は  
発熱問題で小児に対し使用できない。

## 血清の中和抗体は上気道のインフルエンザ感染を抑えない



Pan et.al. *Nature communications* 11Sep2013

良く効くインフルエンザワクチンとは！

**感染阻止！！**

流行株がワクチン株一致しない変異株場合にも  
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！

局所及び全身の**副反応**の少ないワクチン！

## 良く効くワクチンへのヒント！

自然感染によって誘導される免疫は、不活化ワクチン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。

(1960年代から知られていた事実)

### 自然感染によって誘導されるIgA抗体が交叉防御の原因

#### IgA抗体を誘導する経鼻ワクチンの開発研究

##### 1) 弱毒生ウイルスワクチン

2003年、米国使用認可 (\* 2~49歳の世代に限定して使用)。

##### 2) 経鼻不活化ワクチン

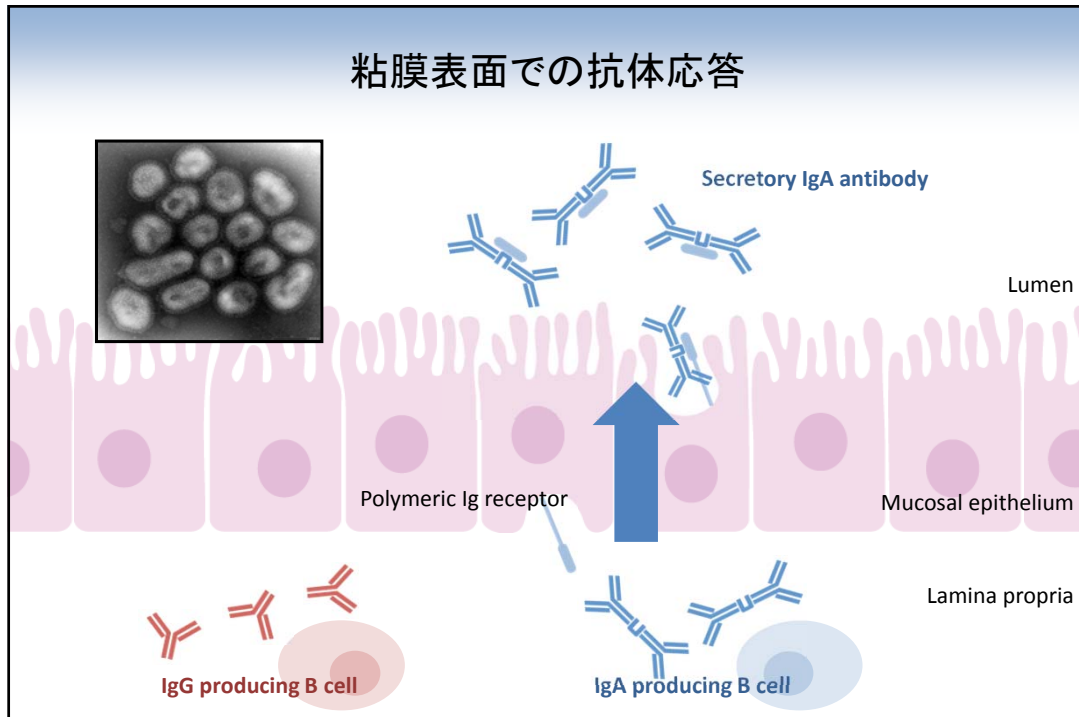
経鼻不活化ワクチンの試み開始

- 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

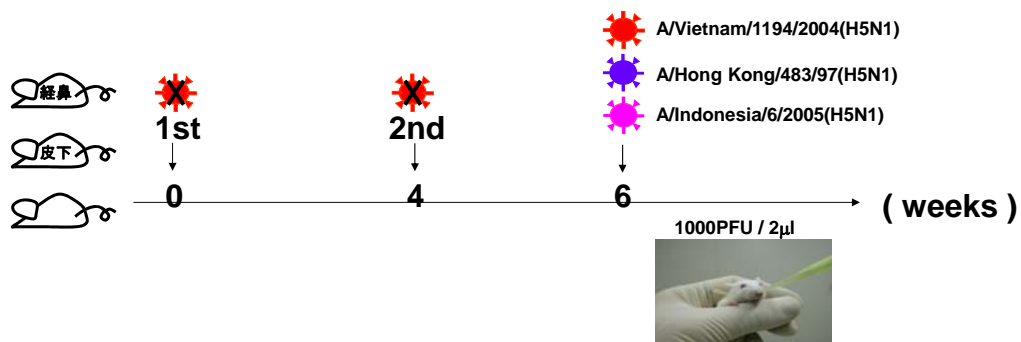
## 粘膜表面での抗体応答



## マウスでのH5N1 経鼻ワクチン

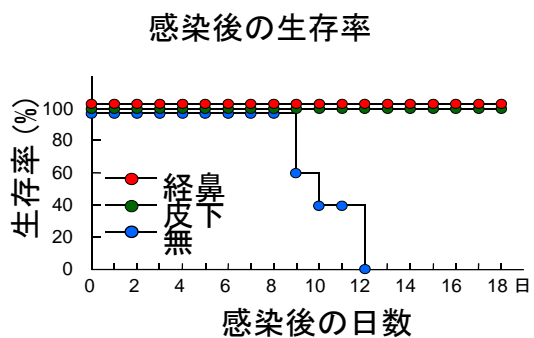
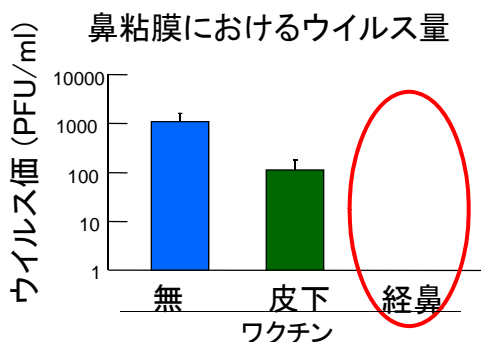
全粒子不活化ワクチン 1μg : NIBRG14 A/Vietnam/1194/2004(H5N1)

アジュバント 10μg : PolyI:PolyC<sub>12</sub>U (Ampligen®)



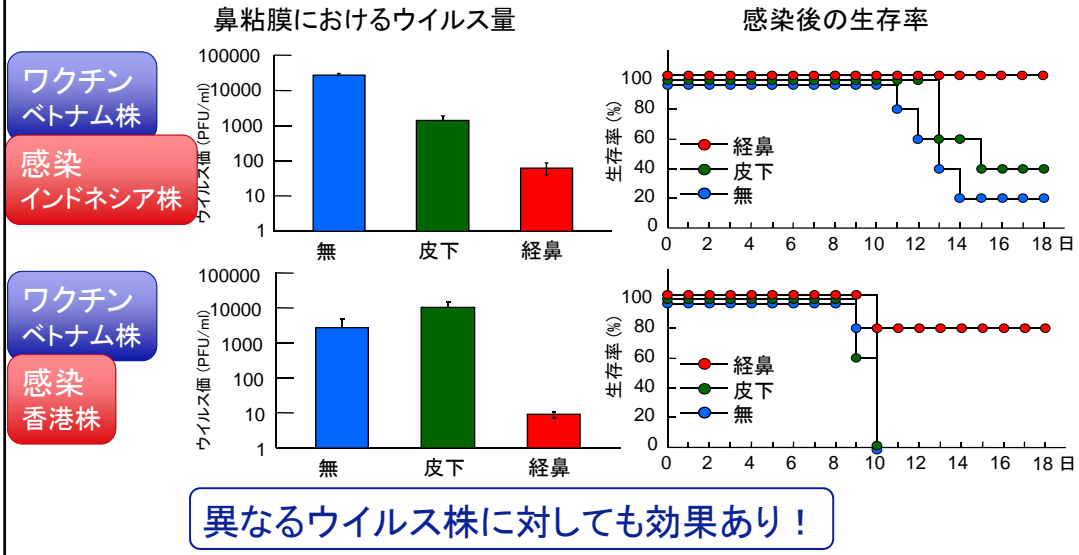
## 感染そのものを予防！

ワクチン株と相同H5N1ウイルスによる攻撃感染



鼻からウイルスが見つからない → 感染していない

## 流行するウイルス株の予測が外れても効く！



## 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。→分泌型IgA
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。→IgG
3. 流行株と異なる変異ウイルスに対する交叉防御。→分泌型IgA

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、  
経鼻インフルエンザワクチンの有効性を評価する。

## 鼻腔洗浄液の標準化

  
Nasal wash  
in 100 ml saline

Removal of any  
nasal contaminants

Concentration  
(1 mg/ml of total protein)

	unit	Total protein	IgA	IgG
Nasal mucus * (n=57)	mg/ml	15.33 ± 9.1	0.24 ± 0.11 [monomeric] 1.97 ± 1.49 [polymeric] (Total; 2.21)	0.79 ± 0.84
Standardized concentration of NW (n=10)	mg/ml	1mg/ml	0.217mg/ml	0.06mg/ml

\* Kurono Y, and Mogi G. Ann Otol Rhinol Laryngol 1987, 96:419-24

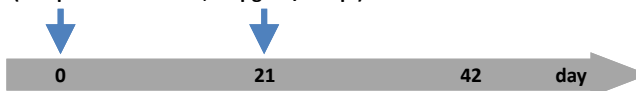
## Experimental design & schedule - I

**Vaccine:** Inactivated whole virion vaccine  
A/Victoria/210/2009 (H3N2) [2010/11season]  
X-187 (45 µg HA/dose)  
250 µl /nostril

**Subjects:** 50 healthy adults

**Schedule:**

Intranasal administration  
(250 µl in each nostril, 45 µg HA/500 µl)

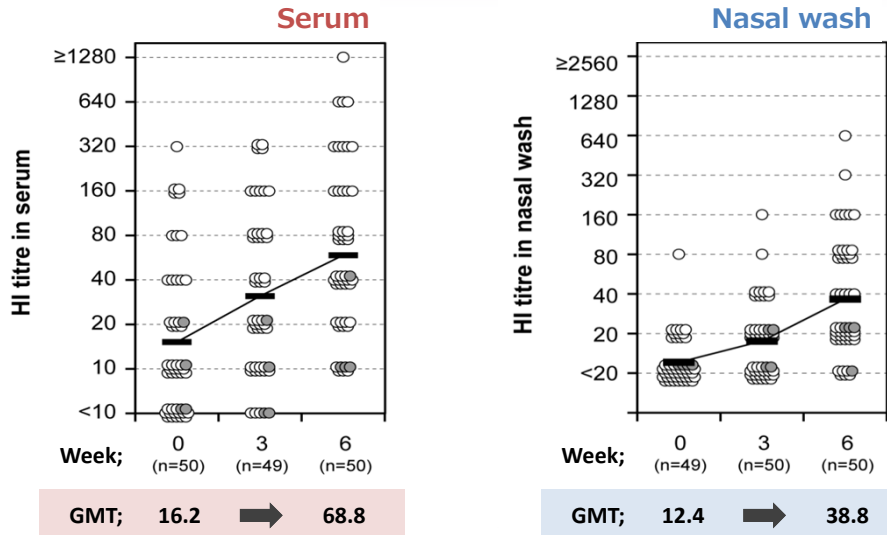


Serum, Nasal wash

Neutralization (NT) titer  
Hemagglutination Inhibition (HI) titer  
HA-specific IgG and IgA ELISA antibody titer

With permission of the Ethical Committee of NIID

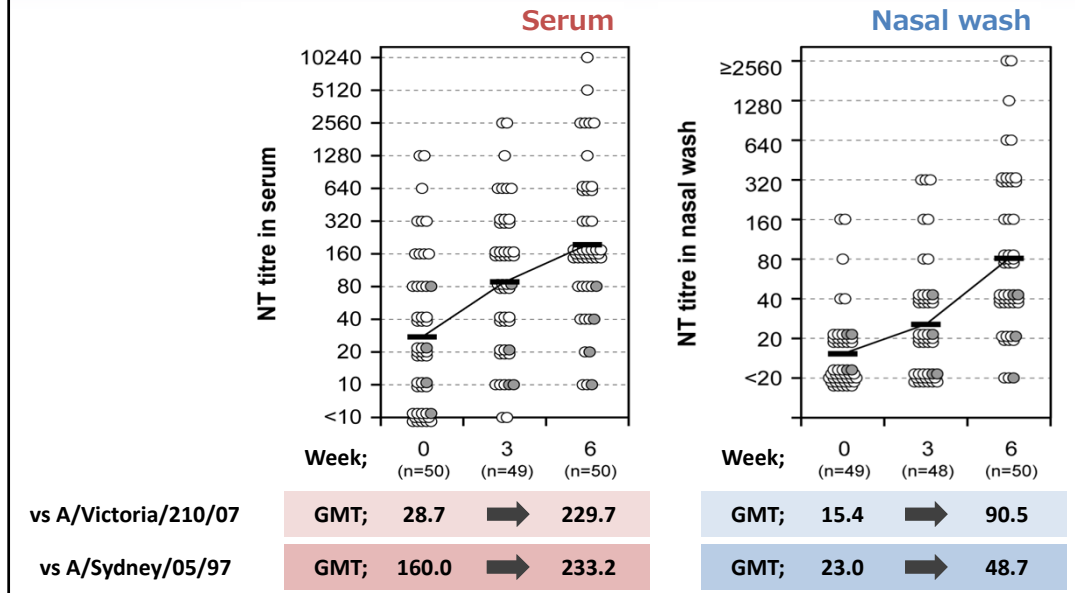
## Hemagglutination Inhibition titers



## Volunteer study for A/H3N2 intranasal vaccination Summary of HI titers

	Criteria for serum HI antibody in EMA	HI Ab responses			
		Serum		Nasal wash	
		(Day 0)	(Day 42)	(Day 0)	(Day 42)
Geometric mean titer (GMT)	No std	16.2	68.8	12.4	38.8
Mean geometric increase (post-GMT/pre-GMT)	> 2.5		4.25		3.13
Conversion rate or Significant increase (≥ 4-fold increase)	> 40%		20/46 43.5% (28.5 – 58.4)		–
Protection rate (titer; ≥ 1:40)	> 70%	13/46 28.3% (14.7 – 41.8)	35/46 76.1% (63.2 – 88.9)	–	–

## Neutralization titers

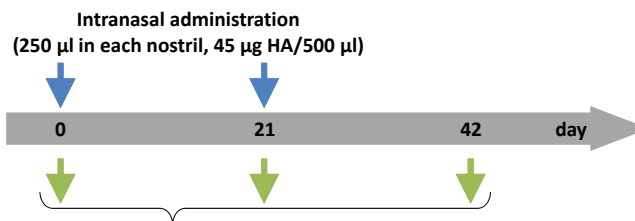


## Experimental design & schedule - II

**Vaccine:** Inactivated whole virion vaccine  
Highly Pathogenic Avian Influenza A/Indonesia/5/05 (H5N1)  
IBCDC-RG2 (45 µg HA/dose) with or without CVP  
250 µl /nostril

**Subjects:** 63 healthy adults

**Schedule:**



Serum, Nasal wash

Neutralization (NT) titer  
Hemagglutination Inhibition (HI) titer  
HA-specific IgG and IgA ELISA antibody titer

With permission of the Ethical Committee of NIID



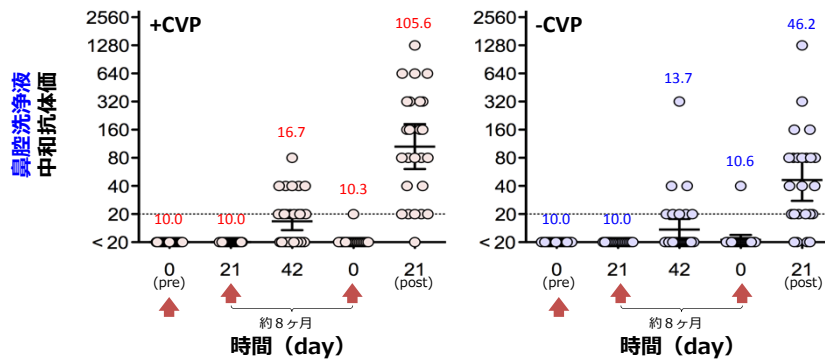
### 臨床研究③

目的：免疫学的にnaiveな状態での全粒子不活化ワクチン経鼻接種による抗体応答の評価、CVP添加の有無による比較

ワクチン：A(H5N1)単身全粒子不活化ワクチン (45 $\mu$ g HA/dose)  
IBCDC-RG2 (A/Indonesia/5/05)

用法：3週間隔2回の経鼻接種

被験者数：63名



### A/Indonesia/5/05 (H5N1), 全粒子不活化ワクチンの経鼻接種臨床研究 血清 中和抗体価のまとめ

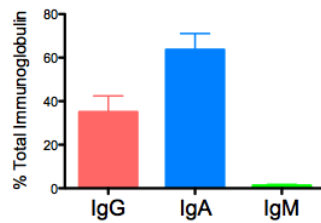
	Neutralizing Ab responses			
	with CVP		without CVP	
	pre	post	pre	post
Geometric mean titer (GMT)	5.0 ( $< 10$ )	164.5	5.0 ( $< 10$ )	84.8
Mean geometric increase (post-GMT/pre-GMT)		<b>32.9</b>		<b>17.0</b>
Conversion rate or Significant increase ( $\geq 4$ -fold increase)		<b>22/25</b> <b>88.0%</b> (74.3 – 101.7)		<b>20/24</b> <b>83.3%</b> (67.3 – 99.4)
Neutralizing Ab titer; <b><math>\geq 1:40</math></b>		<b>22/25</b> <b>88.0%</b> (74.3 – 101.7)		<b>20/24</b> <b>83.3%</b> (67.3 – 99.4)

同ワクチンのアラム併用皮下接種、第II/III相試験での抗体陽転率(40倍以上かつ前比4倍以上):70.9%

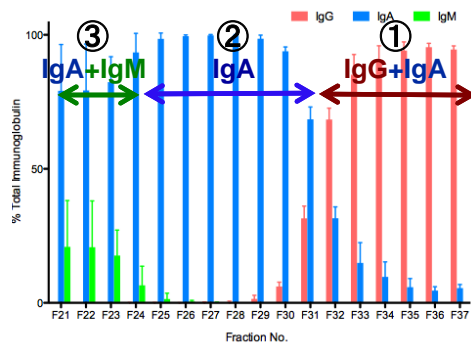
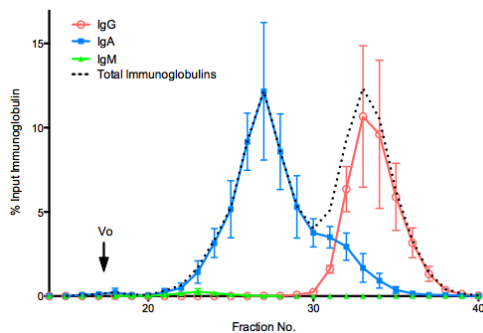
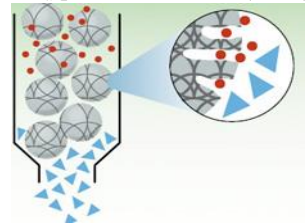
## ヒト生体内に存在する多量体IgAの高次構造とウイルス感染防御における意義は不明

### 経鼻ワクチンによって鼻腔内に誘導される抗体

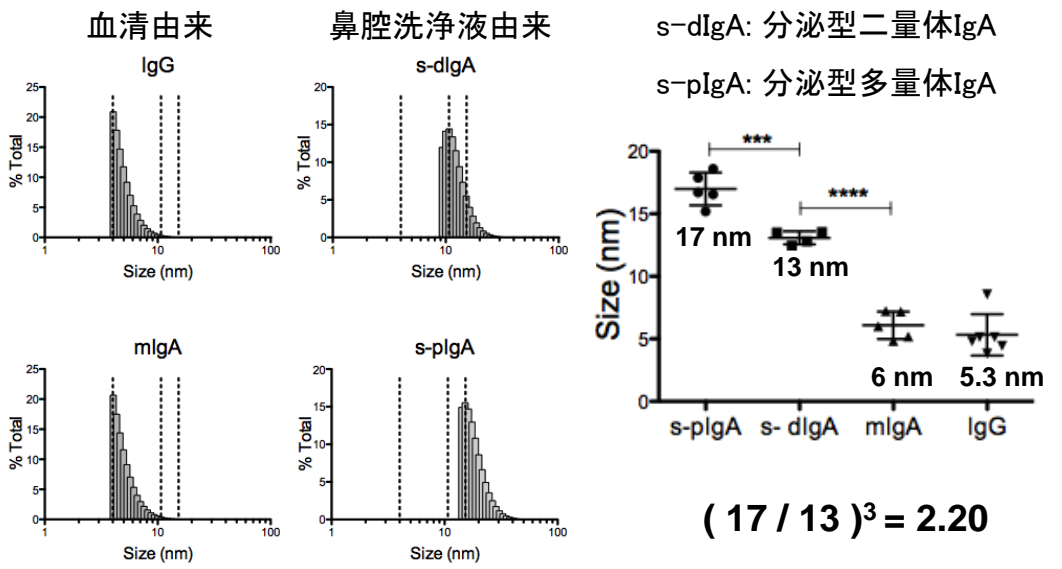
鼻腔洗浄液に含まれる抗体



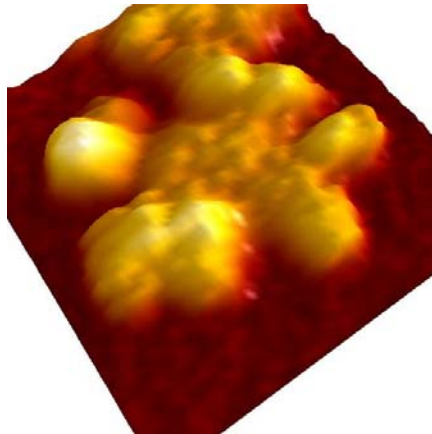
ゲル濾過クロマトグラフィー



## 動的光散乱法(DLS)によるIgA抗体の性状解析

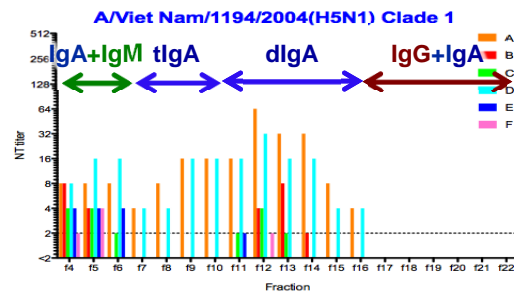
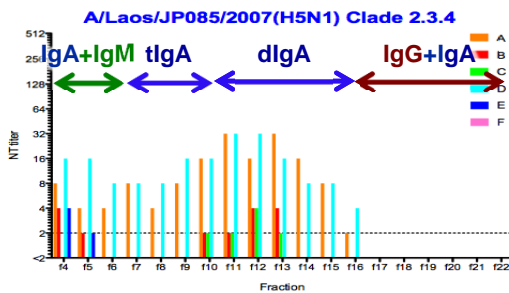
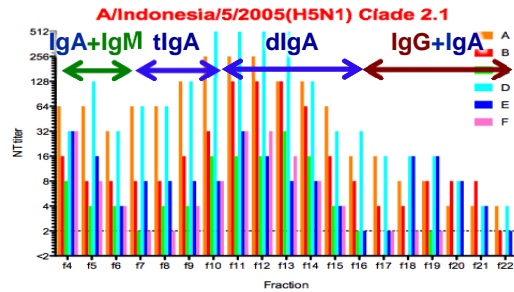


s-plgAは8つのFabを持つ = 四量体IgA  
⇒ s-tlgA (tetrameric)

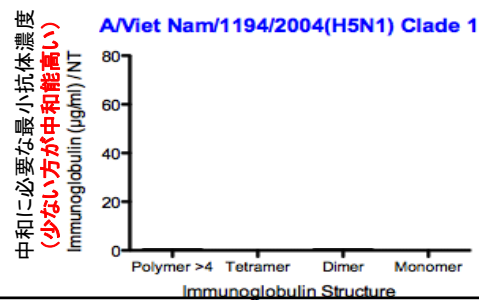
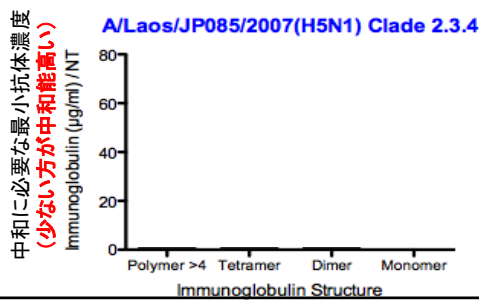
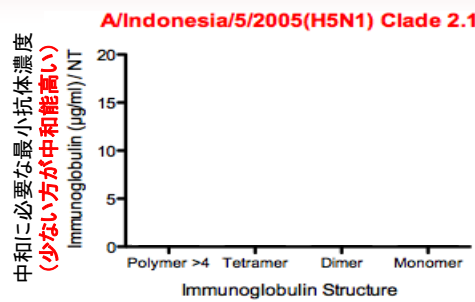


# H5N1経鼻ワクチンによって鼻腔内に誘導される抗体

ワクチン: 全粒子不活化ワクチン  
**A/Indonesia/05/2005 PR8-IBCCDC-RG2 (H5N1)**  
 45 $\mu$ g HA, CVP含有。3週間隔、5回噴霧投与  
 被験者: 健康成人男性 6名  
 採取サンプル: 鼻腔洗浄液 1L

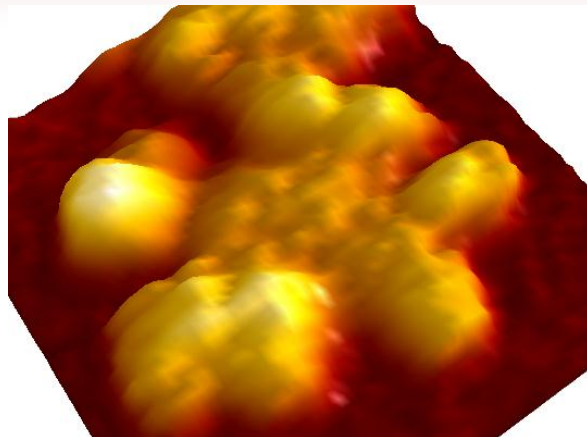


# 鼻腔内抗体のH5N1中和能の高次構造別比較



多量体化した抗体の方が単量体、  
二量体抗体より中和能が高い

良く効くワクチンとは！



このような抗体を粘膜上に準備できる  
ワクチンである。

## 結語

- ◇ 経鼻インフルエンザワクチンは粘膜上に分泌型IgA抗体を誘導し感染を阻止する。
- ◇ 鼻腔粘膜上に誘導される分泌型IgA抗体は交叉防御効果があり血中のIgG抗体と比較し変異ウイルスに対しても有効である。
- ◇ 不活化全粒子ワクチンの経鼻接種によりヒトにおいて血中に加え鼻腔粘膜上にインフルエンザウイルスを中和する抗体が誘導される。
- ◇ 経鼻ワクチンにより誘導される分泌型IgA抗体は二量体、四量体、更に多量体化しインフルエンザウイルスの中和に寄与している。

経鼻インフルエンザワクチンは鼻粘膜上に分泌型多量体IgA抗体を誘導する事によりインフルエンザウイルスに対する感染防御、交叉防御に寄与する。

## 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 van Riet  
伊藤 良  
泉地 恭輔  
池田 千将  
中島典子  
田村 慎一  
佐多徹太郎  
倉田 毅  
浅沼 秀樹  
小田切 孝人  
田代 真人

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

東興薬品工業株式会社  
上下 泰造  
宮崎 隆

東京大学医科学研究所  
一戸 猛志

被験者のボランティアとして参加  
していただいた皆さん。