

第9回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27年1月30日(金)

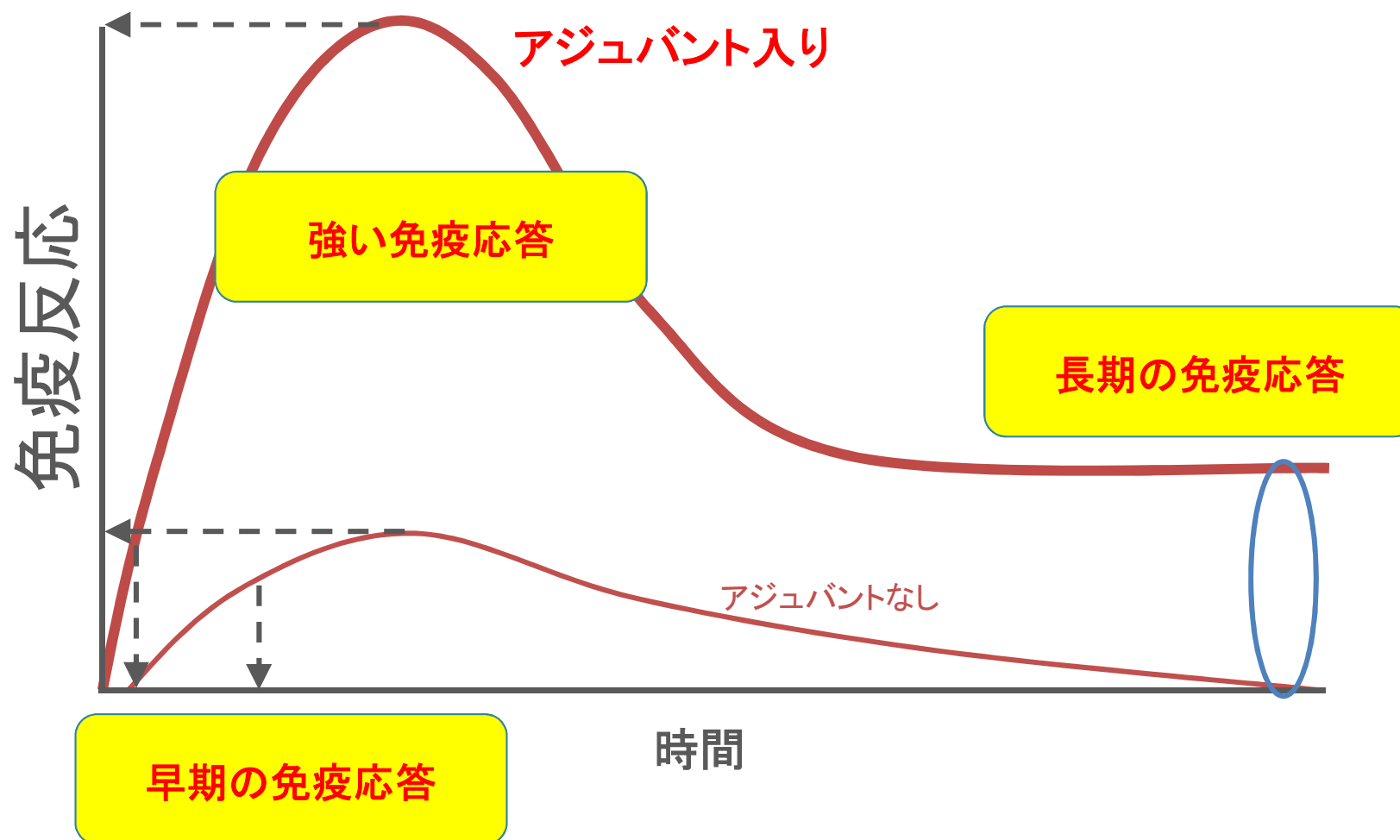
# ＜アジュバント開発研究の新展開＞

石井健

(独)医薬基盤研究所

大阪大学免疫学フロンティア研究センター

# アジュバントの効果とは



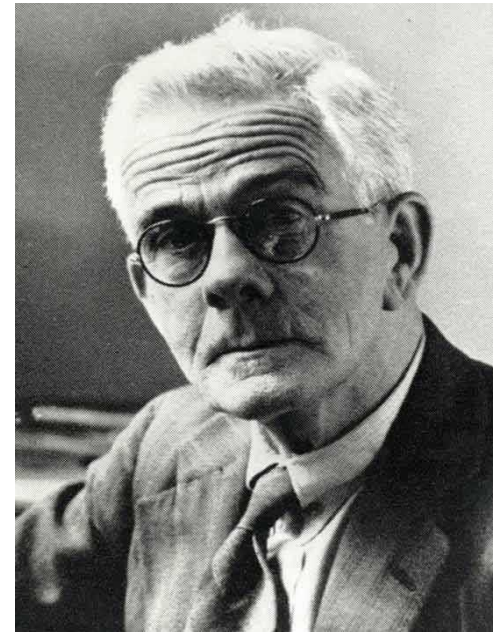
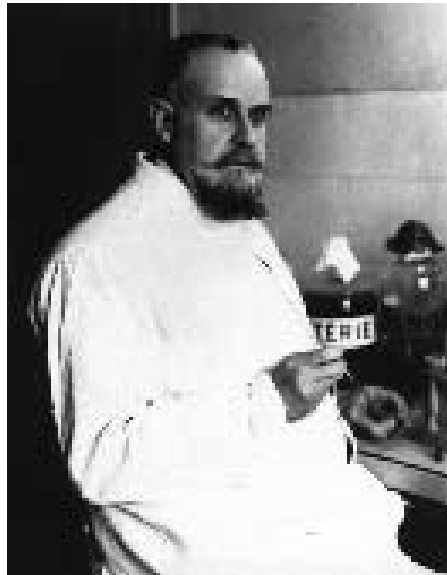
# アジュバントの発見、発明

＜忘れられがちなワクチン開発史の功績のひとつ＞

Ramonによる  
アジュバントの発見

Glennyらによる  
アルミニウム塩  
アジュバントの開発

(1920s)



## アジュバントとは？

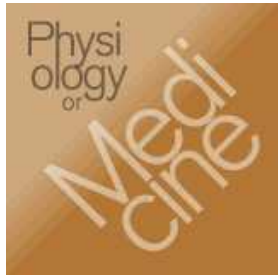
1)ワクチンの効果を増強する因子の総称

2)ラテン語の助けるという意味を持つ”adjuvare”(アジュヴァーレ)が語源

1)Immunologist's dirty little secret (C Janeway 1989)

(抗原にアジュバントをいれないと免疫が起きないことは免疫学者は皆知っていたにもかかわらず、なぜ必要かという作用機序がはっきりせず、論文などの発表でもあまり表立って記載されていなかった。)

アジュバントの受容体が存在し、ワクチンに必要な樹状細胞を  
厳密に制御していることが明らかになる



結果 2011年のノーベル賞に



**Bruce A. Beutler**



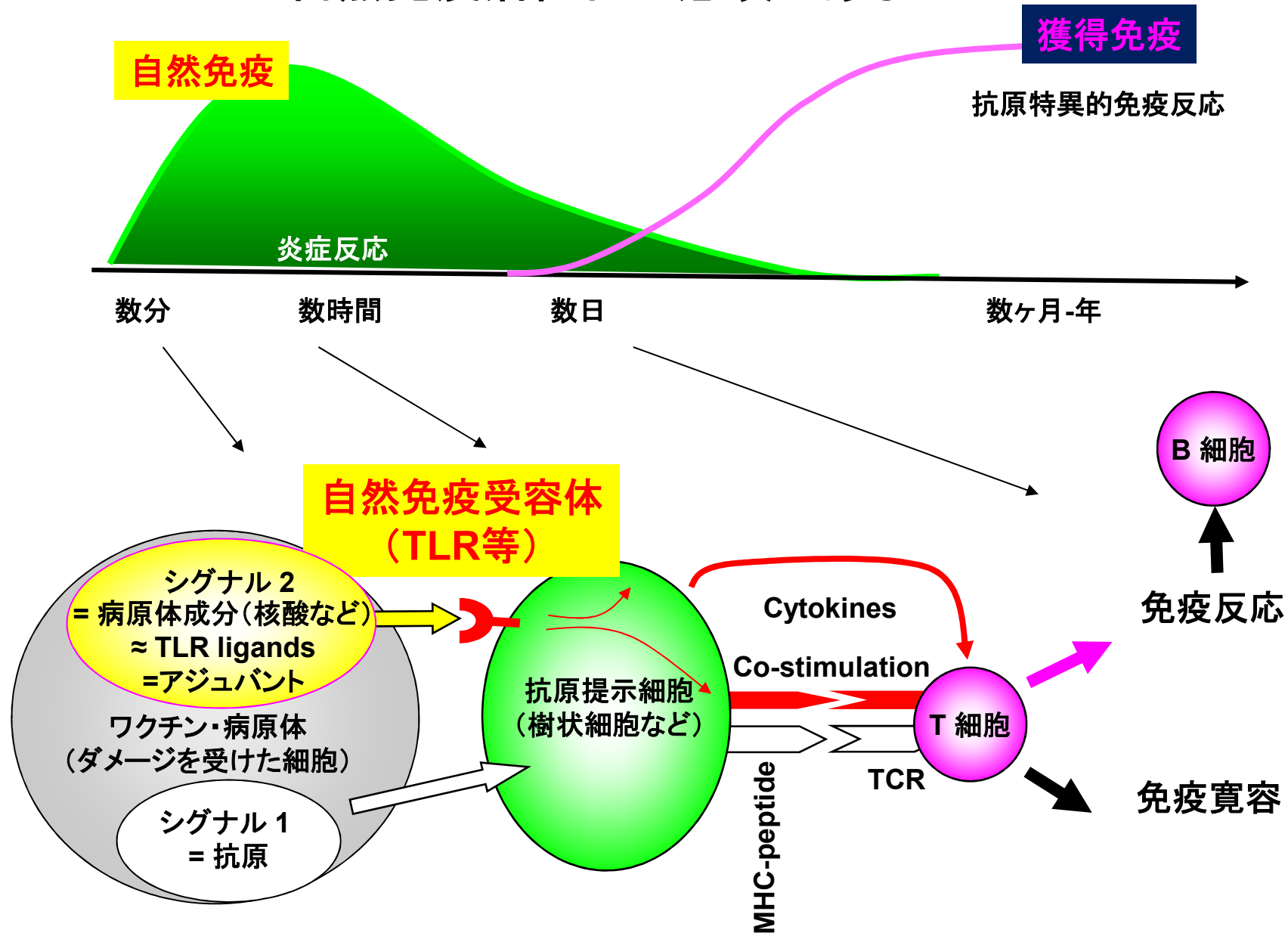
**Jules A. Hoffmann**



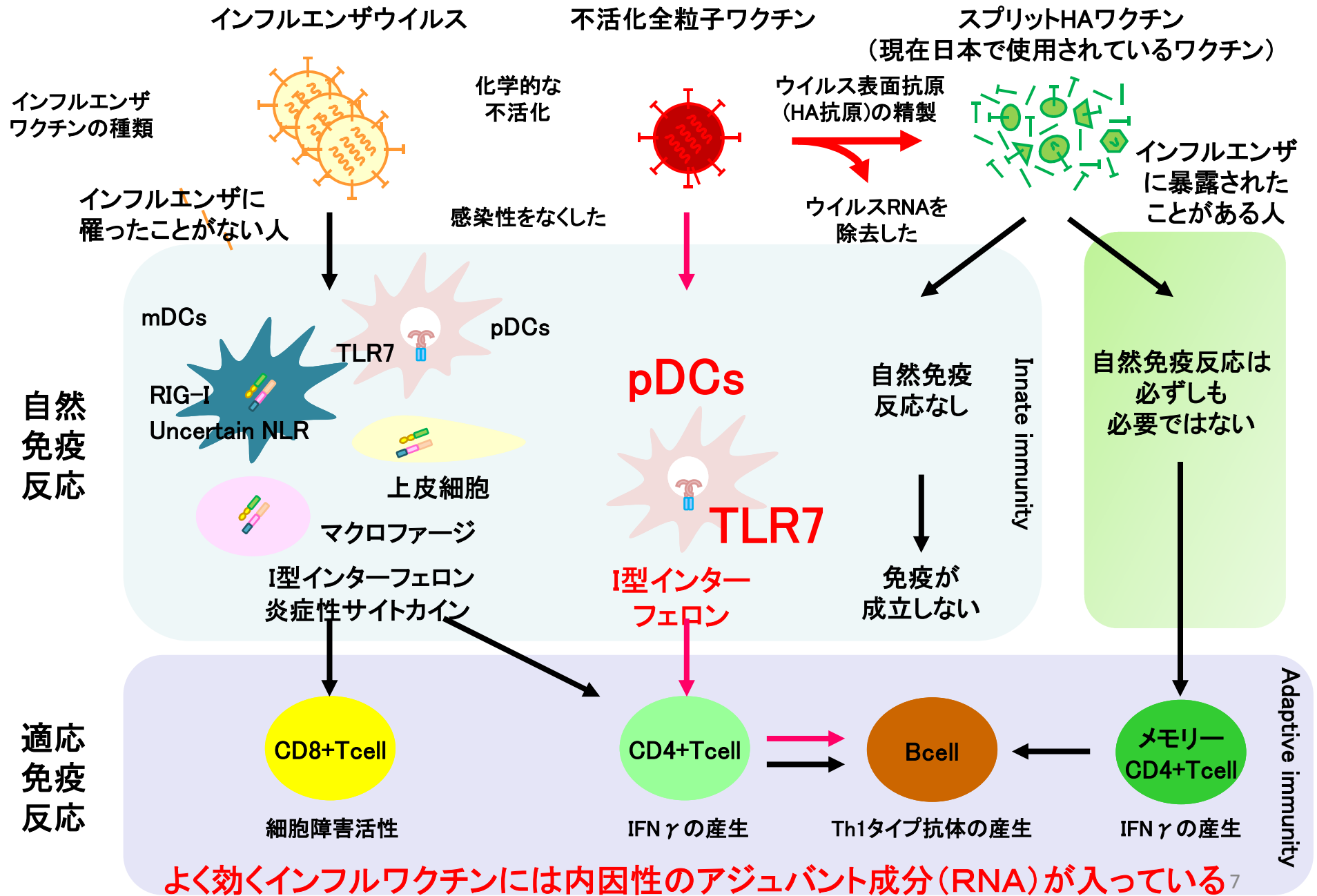
**Ralph M. Steinman**

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2011 was divided, one half jointly to Bruce A. Beutler and Jules A. Hoffmann *"for their discoveries concerning the activation of innate immunity"* and the other half to Ralph M. Steinman *"for his discovery of the dendritic cell and its role in adaptive immunity"*.

# 背景: 有効な免疫(ワクチン効果)を獲得するには 自然免疫活性化が必須である



# インフルエンザワクチンの作用機序: 内因性アジュバントが鍵



# ワクチン開発研究は感染症の枠を超えて広がっている

分類	疾患	標的抗原
神経疾患	アルツハイマー病 パーキンソン病 クロイツフェルト・ヤコブ病	アミロイドβ αシヌクレチン プリオン
循環器疾患	動脈硬化症	Cholesterol ester transfer protein ApoB100 oxidized LDL
自己免疫・アレルギー	高血圧症 1型糖尿病 重症筋無力症	アンジオテンシンII インスリン、GAD、IL-1β アセチルコリン受容体
<b>全てアジュバントが必要</b>		
	花粉症などアレルギー 気管支喘息	花粉抗原・ネコ抗原などアレルゲン IL-5
<b>腫瘍</b>	<b>癌</b>	<b>癌抗原</b>
中毒(40)	ニコチン、コカイン、フェンサイクリジン メタンフェタミン ヘロイン・モルヒネ	それぞれの中毒物質
炎症	慢性関節リウマチ	TNFα, IL-6
他	避妊 肥満症 骨粗しょう症	HCG、GnRH Ghrelin TRANCE/RANKL



# アジュバントの種類と開発状況

分類	アジュバント	特徴
鉍酸塩	水酸化アルミニウム、 リン酸アルミニウムなど	1920年代に見いだされたもっとも古く汎用されているアジュバント。 形状、性質は結晶、アモルファスなど多岐にわたる。抗原特異的 Th2, IgE誘導が強い。
毒素	CTB、大腸菌易熱性毒素	ワクチンと経鼻投与することによりIgA産生を誘導。臨床試験で顔 面神経麻痺が起き、臨床応用はされていない。
O/W エマルジョン	MF59  AS03	粒子が小さく細胞に取り込まれやすく、体液性免疫を誘導。インフ ルエンザワクチンのアジュバントとして使用されている。  スクワレンベースの2008年に欧州で認可されたH5N1ウイルスワ クチンのアジュバント。
W/O エマルジョン	Montanide ISA 51/ミネラルオイルと 植物由来界面活性剤	日本では癌ペプチドワクチンのアジュバントで臨床研究が行われ ている。樹状細胞を活性化。
Bio polymer	Advax/ Inulin polymer Hemozoin / heme polymer	HBV、インフルエンザなどのワクチンアジュバントとして開発中。 ヘムのポリマー。各種動物でインフルエンザなどアジュバント効果
植物成分 (サポニン)	QS21  ISCOM/脂質+サポニンのミセル	南米の植物QuiA由来サポニン。CTLを誘導することができる。現 在開発中。  直径40nmほどの粒子。CTLを誘導することができる。現在開発中。

# アジュバントの種類と開発状況

分類	アジュバント	特徴
Lipid A	AS04/MPL+アルミニウム塩	細胞性免疫を誘導。MPLとアルミニウム塩の混合剤。HPVワクチンのアジュバントとして欧州で認可。
	RC-529/ MPLアナログ	細胞性免疫を誘導。HBVワクチンのアジュバントとしてアルゼンチンで認可。
	AS02/スクアレン+QS21+MPL (W/O)	MPLとQS21との混合剤。マラリアワクチンのアジュバントとして開発中。
	AS01/リポソーム+QS2+MPL	マラリアワクチンのアジュバントとして開発中。
蛋白	フラジェリン	TLR5の細菌鞭毛由来の蛋白リガンド。細胞性免疫を誘導。現在開発中。
核酸	dsRNA	TLR3のRNAリガンド。インターフェロン誘導薬として古くから知られるも炎症誘導能が強く、安全性に問題。現在改変体の開発が盛ん。
	CpG ODN	TLR9のDNAリガンド。細胞性免疫を誘導。HBVワクチンのアジュバントとして承認に近い。デリバリー機能を有する第2世代の開発が進んでいる。
	STING ligand	細菌のセカンドメッセンジャーや宿主由来のDinucleotide
サイトカイン	IL-12、GM-CSF	IL-12は細胞性免疫を誘導。GM-CSFは現在開発中の前立腺がんに対する樹状細胞ワクチンのアジュバントとして開発中。
カチオン	DOTAP、DDA	DNAワクチンの安定性や抗原の発現量を増大させる。細胞性免疫を誘導。現在開発中。
その他	シクロデキストリン	広く使われている添加剤だが、アジュバント効果を有することが判明

# 世界で使用(認可)されている 代表的な「添加」アジュバント

アジュバント名	主要な成分	使用されているワクチン	自然免疫受容体・シグナル分子	誘導される獲得免疫
Alum	アルミニウム塩 (水酸化アルミニウムなど)	B型肝炎ワクチン、 破傷風、DT、DTP	NLRP3(?) Lipid sorting and Syk(Ref.8)	抗体、Th2
AS04	Alum + MPL (3-O-desacyl- 4'-monophosphoryl lipid A)	子宮頸がんワクチン (サーバリックス; GSK)	MPL → TLR4 Alum → Inflammasome(?)	抗体、Th2
MF59	Squalene (oil-in-water emulsion)	H1N1インフルエンザワクチン (CELTURA; ノバルティス)	ASC(Ref.17)	抗体、Th2
AS03	Squalene + DL- $\alpha$ -tocopherol (oil-in-water emulsion)	H1N1インフルエンザワクチン (アレパンリックス; GSK)	不明	抗体、Th2

「ワクチンアジュバント」青枝大貴, 石井健 日本臨牀 69(9): 1547 -1553 2011

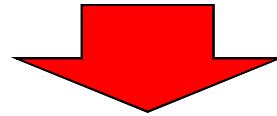
## 日本国内で販売されているアジュバント添加ワクチン

対象疾患	ワクチン名	アジュヴァント	製造販売
ジフテリア	成人用沈降ジフテリアトキソイド” ジフトキ「ビケンF」 ”	リン酸アルミニウム	阪大微研・田辺三菱
破傷風	沈降破傷風トキソイド「生研」	塩化アルミニウム	デンカ・田辺三菱
	沈降破傷風トキソイド” 化血研”	塩化アルミニウム	化血研・アステラス
	沈降破傷風トキソイド「タケダ」	アルミニウム塩	武田
	沈降破傷風トキソイド” 破トキ「ビケンF」 ”	水酸化アルミニウム	阪大微研・田辺三菱
	沈降破傷風トキソイド「S北研」	塩化アルミニウム	北里・第一三共
DT	沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド「生研」	塩化アルミニウム	デンカ
	沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド「タケダ」	アルミニウム塩	武田
	沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド「北研」	塩化アルミニウム	北里・第一三共
	沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド” 化血研”	塩化アルミニウム	化血研・アステラス
	沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド” DTビック”	リン酸アルミニウム	阪大微研・田辺三菱
DTP	沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン	塩化アルミニウム	デンカ
	沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン	塩化アルミニウム	化血研・アステラス
	沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン「タケダ」	アルミニウム塩	武田
	沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン” 化血研シリンジ”	塩化アルミニウム	化血研・アステラス
	沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン「S北研」	塩化アルミニウム	北里・第一三共
	沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン” トリビック”	リン酸アルミニウム	阪大微研・田辺三菱
	沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン「S北研」	塩化アルミニウム	北里・第一三共
B型肝炎	ビームゲン	水酸化アルミニウム	化血研・アステラス
	ヘプタボックスⅡ	硫酸アルミニウム	萬有
HPV	サーバリックス	AS04 水酸化アルミニウム+MPL	GSK
肺炎球菌	プレベナー水性懸濁皮下注	リン酸アルミニウム	ファイザー・武田
インフルエンザ	乳濁細胞培養A型インフルエンザHAワクチン (H1N1株)	MF59(スクワレンを含む)	ノバルティス
	アレパンリックス (H1N1)筋注	AS03(スクワレンを含む)	GSK

# 新規アジュバントの医療ニーズ

## ＜アラムアジュバントの限界および問題点＞

- ・液性免疫は誘導されるが細胞性免疫の誘導が低い
- ・発熱やアレルギー反応誘導 (IgE) などの副反応

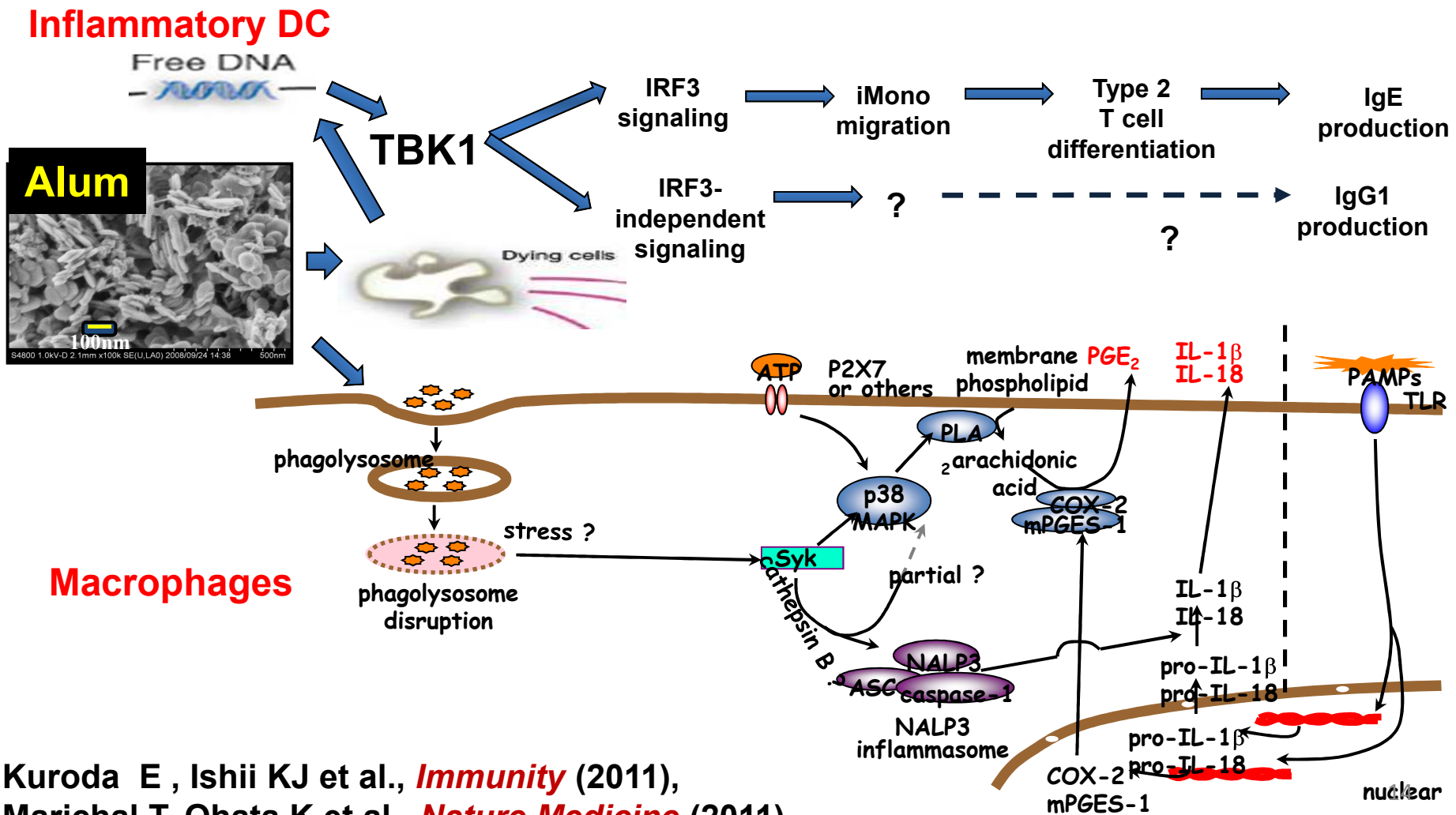


- ・細胞性免疫を誘導するアジュバント
  - 核酸 (DNA、RNA) アジュバント、脂質アジュバント
- ・アラムより副反応が低いアジュバント
  - 低細胞毒性粒子アジュバント、低分子アジュバント
- ・混合アジュバント
  - AS04 (アラム+CpG)

対象疾患に合わせたきめ細かい  
ワクチンおよびアジュバントの  
デザインが求められている

# アラムの作用機序の研究が進化 アラムはアジュバントではない！ ???

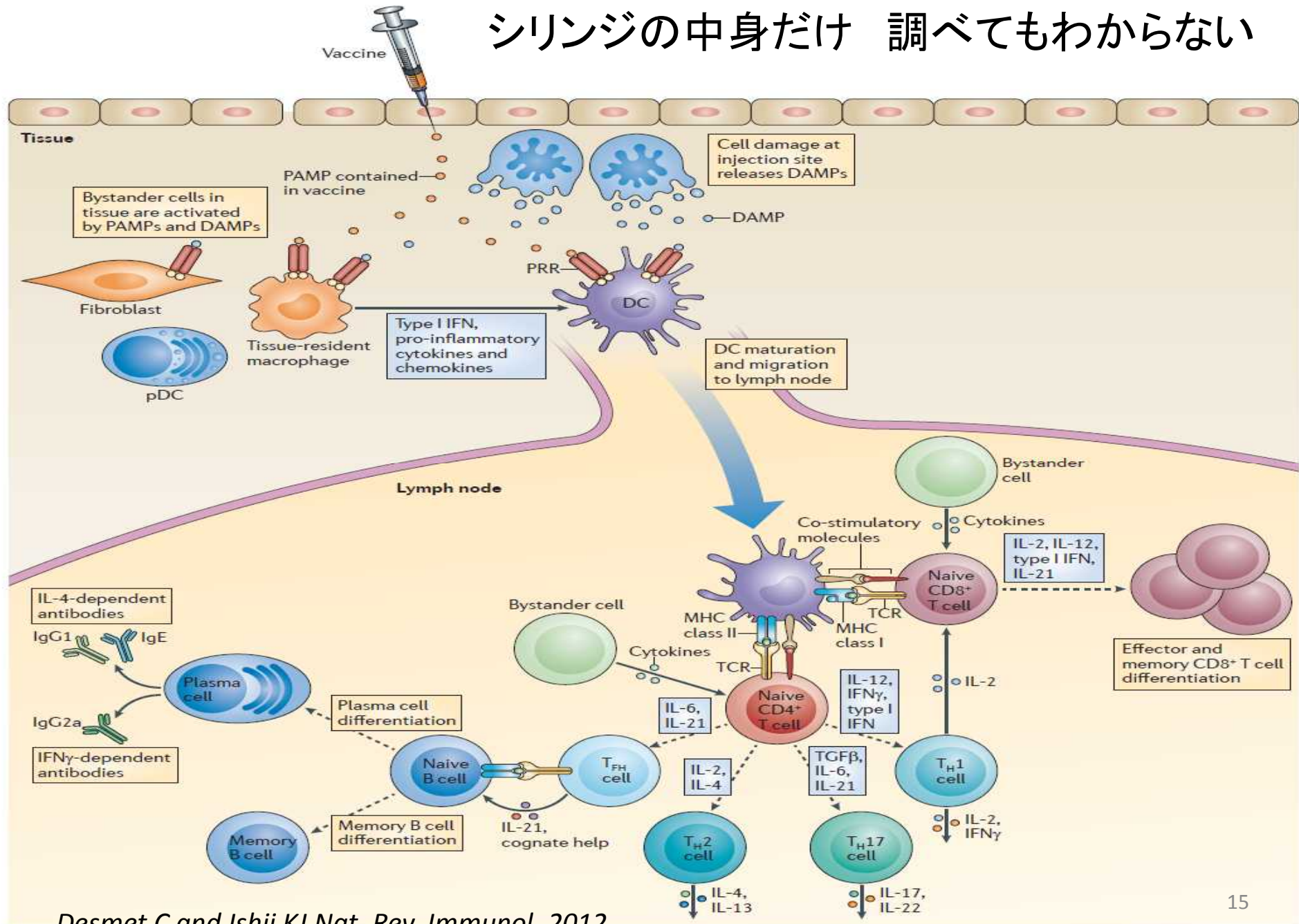
=アラムは「アジュバント誘導因子」である



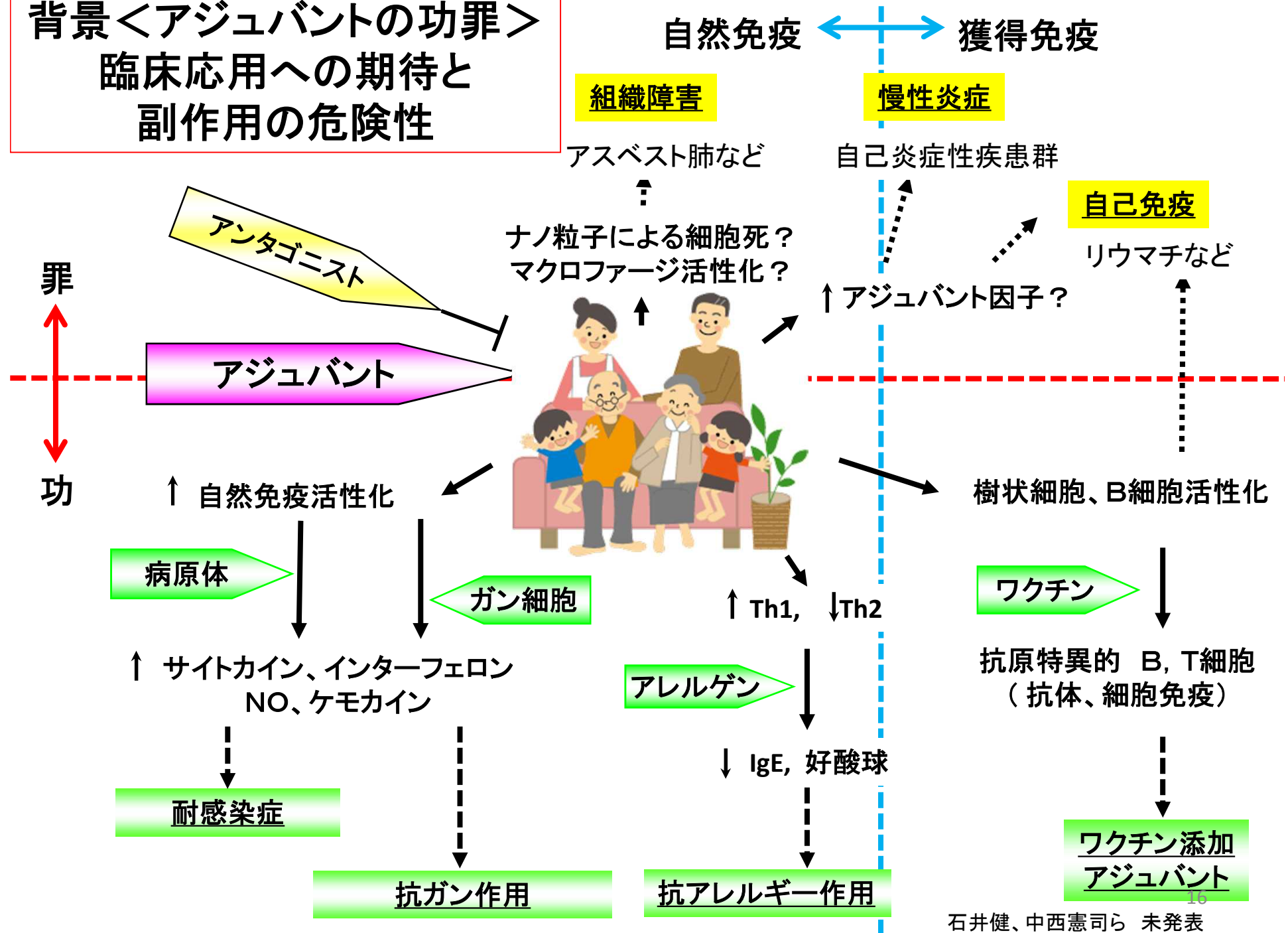
Kuroda E, Ishii KJ et al., *Immunity* (2011),  
Marichal T, Ohata K et al., *Nature Medicine* (2011)



# ワクチン、アジュバントの作用機序の研究が変化： シリンジの中身だけ 調べてもわからない



背景<アジュバントの功罪>  
臨床応用への期待と  
副作用の危険性





## 「次世代アジュバント研究会」について

■ **設立** : 平成22年10月

■ **趣旨** : アジュバント研究促進のための産学官共同研究のプラットフォーム組織

### ■ 研究会メンバー

◎ 米田悦啓 ((独)医薬基盤研究所 理事長兼研究所長) : 会長

○ 審良 静男 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター拠点長)

○ 中西 憲司 (兵庫医科大学 学長)

○ 清野 宏 (東京大学医科学研究所 教授)

○ 瀬谷 司 (北海道大学大学院医学研究科 教授)

○ 石井 健 ((独)医薬基盤研究所 アジュバント開発プロジェクトリーダー)

...以上が研究会幹事...

### [その他の研究会メンバー]

以下の企業の研究者

#### 《製薬企業》

○ アステラス製薬(株)

○ 大塚製薬(株)

○ 塩野義製薬(株)

○ ゼリア新薬工業(株)

○ 第一三共(株)

○ 大日本住友製薬(株)

○ 武田薬品工業(株)

○ 田辺三菱製薬(株)

○ 中外製薬(株)

○ MSD(株)

○ グラクソ・スミスクライン(株)

○ サファイパツール(株)

○ ハルティスファーマ(株)

○ ファイザー(株)など

#### 《ワクチンメーカー》

○ (財)化学及血清療法研究所

○ (学)北里研究所

○ (財)阪大微生物病研究会

#### 《バイオベンチャー》

○ (株)MBR

○ ジーンデザイン(株)

○ セルメディシン(株)など



現在までに8回の次世代アジュバント研究会 を開催

# アジュバントデータベースプロジェクト (厚生労働省科研費指定研究H24-29)

次世代の免疫医薬として期待されるアジュバントの  
開発研究(有効性)および審査行政(安全性)に寄与する  
バイオマーカー探索可能なデータベースを構築する。

## アジュバント有効性マーカーの必要性

- ワクチン医療による予防医学の普及は医療費削減につながり、アジュバントはコスト削減に寄与
- そのため感染症、ガン、アレルギーワクチンへのアジュバントの開発研究は世界的な競争に
- しかし、他の創薬(低分子医薬、抗体医薬)に比べ、アジュバントの有効性指標は未開拓分野

## アジュバント安全性マーカーの必要性

- 外資のアジュバント付与新型インフルワクチンの導入などによるアジュバントの安全性への社会的関心の高まり
- 日本の産学官連携や支援、そして審査行政の立ち遅れ
- アジュバントの安全性に関する有効な指標の不足

## 日本発の次世代アジュバント創薬

アジュバント開発企業との  
有効性指標、免疫制御バイ  
オマーカーの検索

アジュバント開発研究  
産学官コンソーシアム

認可済み、臨床試験中、開発中のア  
ジュバントによるヒト細胞、マウス個  
体の生物反応を総合的に解析した  
データベースを構築

検定、審査機関との評  
価法バリデーション

## アジュバント安全性評価法の確立

日本ならではの高品質で安全なアジュバントの創製へ

# 平成24－26年度の研究進捗状況まとめ

## 課題1 マウス、ラットにおけるアジュバント投与後の各種臓器の遺伝子発現解析の実施

- 基盤研、感染研、およびCROで動物実験を行い、採取された臓器サンプルの遺伝子発現データ取得および解析を進め、

➡ アジュバントデータベースのプロトタイプを完成させた。

## 課題2 アジュバント関連治験ヒトサンプルから取得されたmiRNAデータの解析

- 血清中からチップで取得された約1200のヒトmiRNAデータの解析を進め、

➡ 各種表現型(発熱, 抗体価)およびアジュバントに関連した数種のバイオマーカー候補の抽出を達成した。

## 課題3 新規ワクチン、アジュバントの開発研究およびアウトリーチ活動

- チーム研究による新規ワクチン、アジュバントの開発研究を推進し、

➡ 第1世代の核酸アジュバントの医師主導型治験を開始した。第2世代のDCS機能つき核酸アジュバントを開発(企業導出予定)、その他約20種を同定。

## 課題4 ワクチン、アジュバント開発研究の橋渡し、また審査行政等への働きかけ

➡ 「次世代アジュバント研究会」の開催、PMDAの科学委員会、アジュバントガイドライン作成におけるWHO会議などのアウトリーチ活動を行った。

# 次世代型ワクチンの実用化に向けた検討及び品質管理に関する基準の在り方に関する研究班(H24-27)

## 目的

【背景】近年、新型インフルエンザ等の新興ウイルス感染症により社会に深刻な影響が生じるなどの脅威が増大

【国民の要望】感染予防のためには、安全で効果の高い感染症予防ワクチンの迅速な実用化が不可欠

感染症予防ワクチンの実用化促進のためには、個々のワクチンに合わせた、開発のための安全性及び有効性の評価法をより具体的に示すことが必要不可欠

## 感染症予防ワクチンの迅速な実用化のプロセス

(医薬品開発のプロセス)



感染症予防ワクチンの非臨床及び臨床試験ガイドラインの作成

感染症予防ワクチンにおける非臨床及び臨床試験ガイドラインのガイダンスの作成

## 【研究方法】

- (1) アジュバント及び遺伝子組み換え技術を応用したワクチンに関するガイドラインと生物製剤基準改定の国内外の現状把握
- (2) アジュバント及び遺伝子組み換え技術を応用したワクチンに関するガイドライン案と生物製剤基準改定案検討

## 【研究成果】

アジュバント及び遺伝子組み換え技術を応用したワクチンに関するガイドライン案と生物製剤基準改定案作成

## 【研究成果による効果】

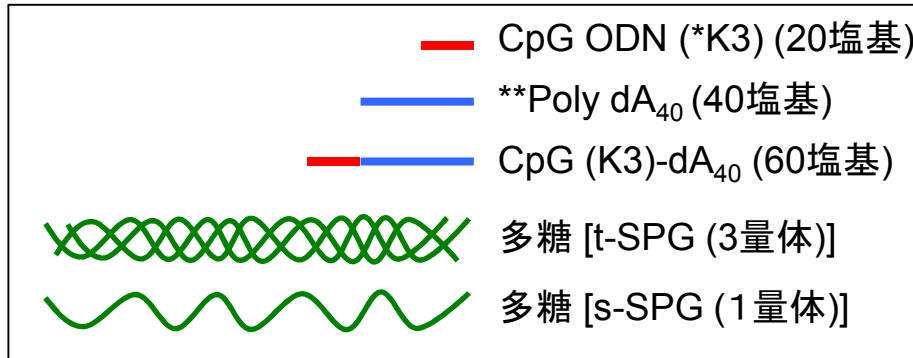
感染症予防ワクチンの迅速な実用化及び承認審査のタイムラグ解消

# 參考資料



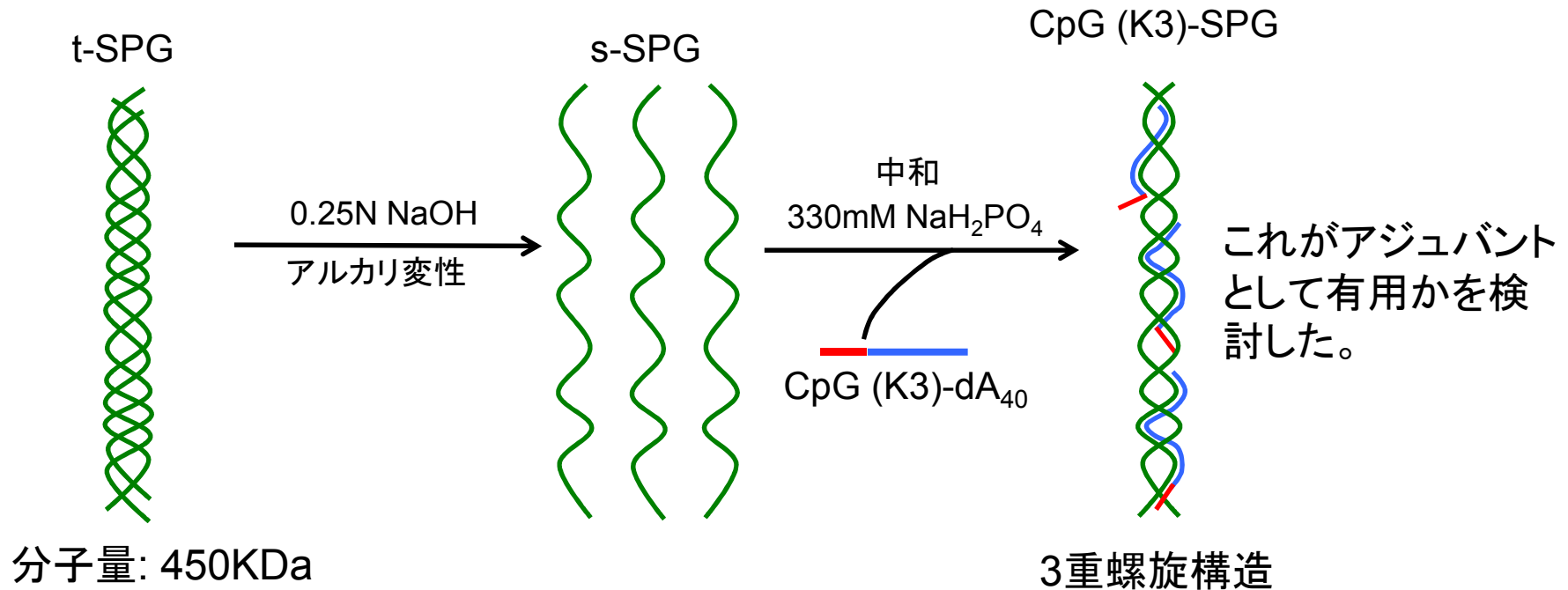
# 第2世代核酸アジュバントの開発 = K3-SPG

医薬基盤研究所 石井健ら



\*合成核酸であるCpG ODNにはいくつかの型があり、今回はK型と呼ばれるCpG ODN (K3)を使用した。

\*\*多糖と核酸の複合体作製にはこの配列が必須である。

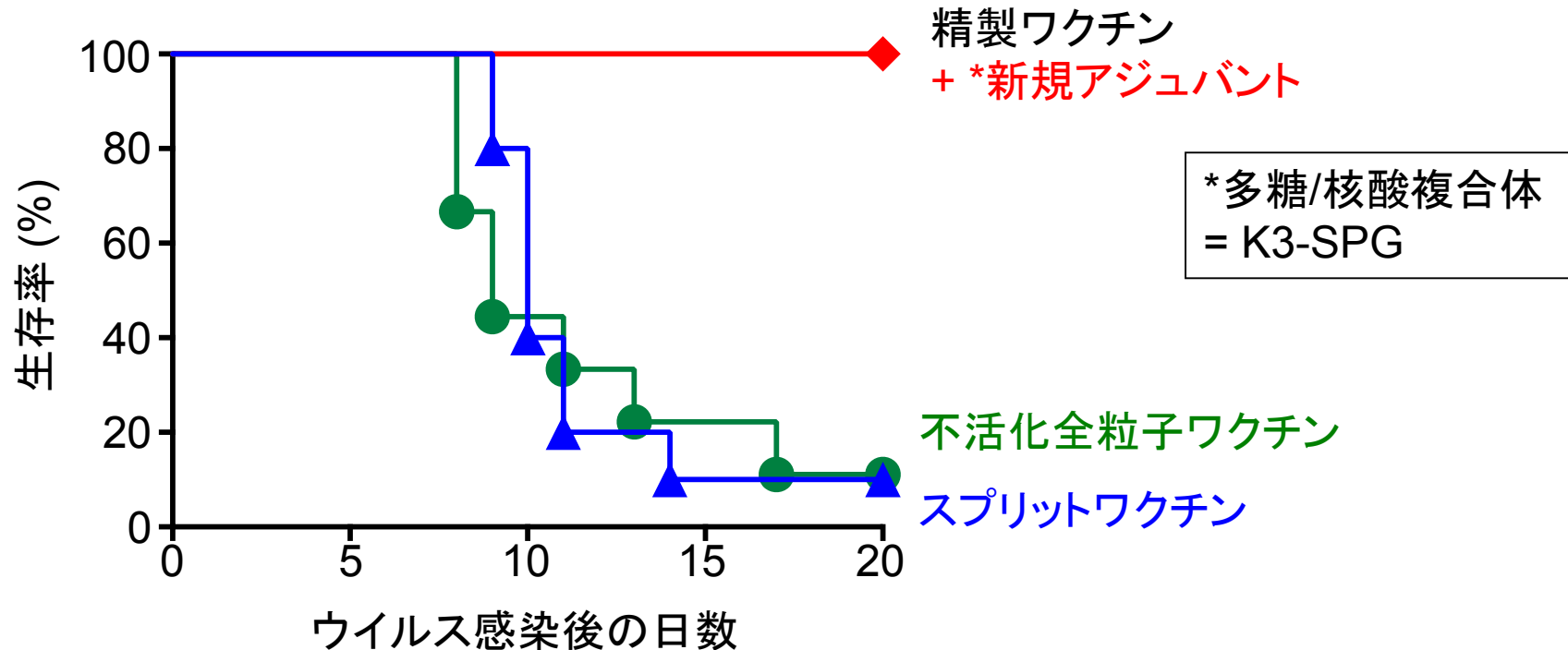


# 第2世代核酸アジュバントの開発 = K3-SPG

医薬基盤研究所 石井健ら

## 実験スケジュール

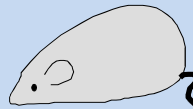
マウス → 2回免疫 → 2週間後 → 致死量のインフルエンザウイルス感染



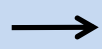
インフルエンザスプリットワクチンの溶液と混ぜるだけで非常に高い有効性(感染防御能)を示す。

## K3-SPGアジュバントのイメージング

アジュバントの開発CMCにおけるバイオディストリビューションの評価系の構築が必須である———>2光子顕微鏡を使用することによりリンパ節におけるアジュバント取り込み細胞のイメージングに成功した———>新たな評価系

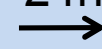


Mice: WT B6



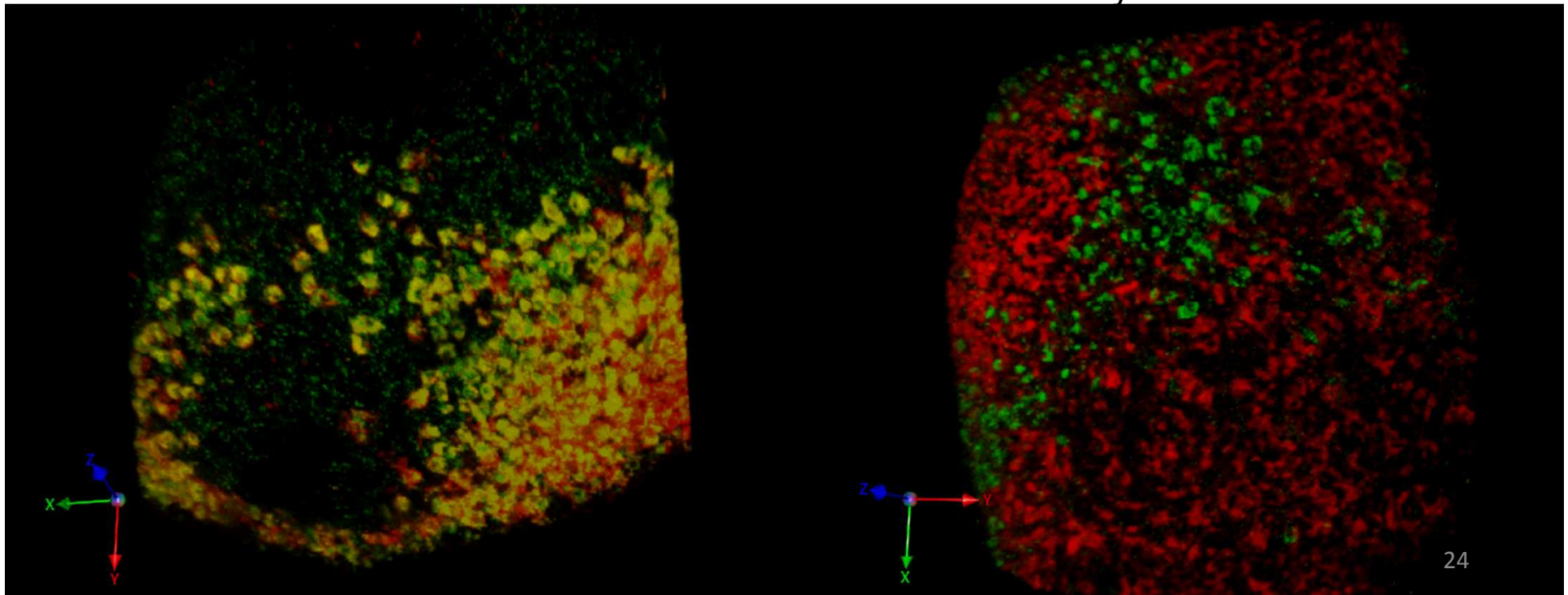
蛍光ラベルした抗原、アジュバントを投与

24h



所属リンパ節を  
2光子顕微鏡で  
撮影

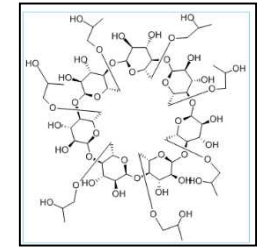
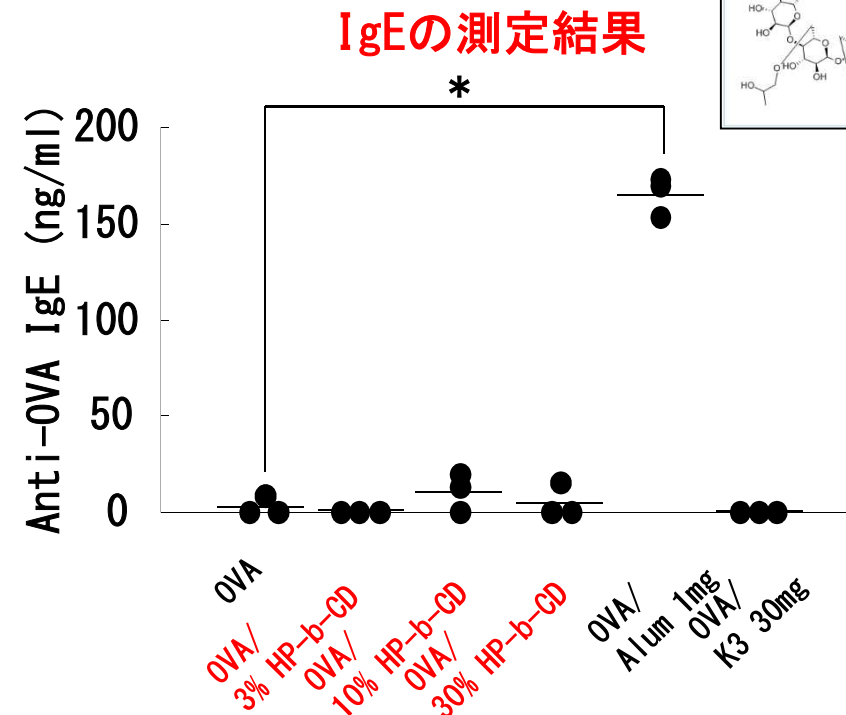
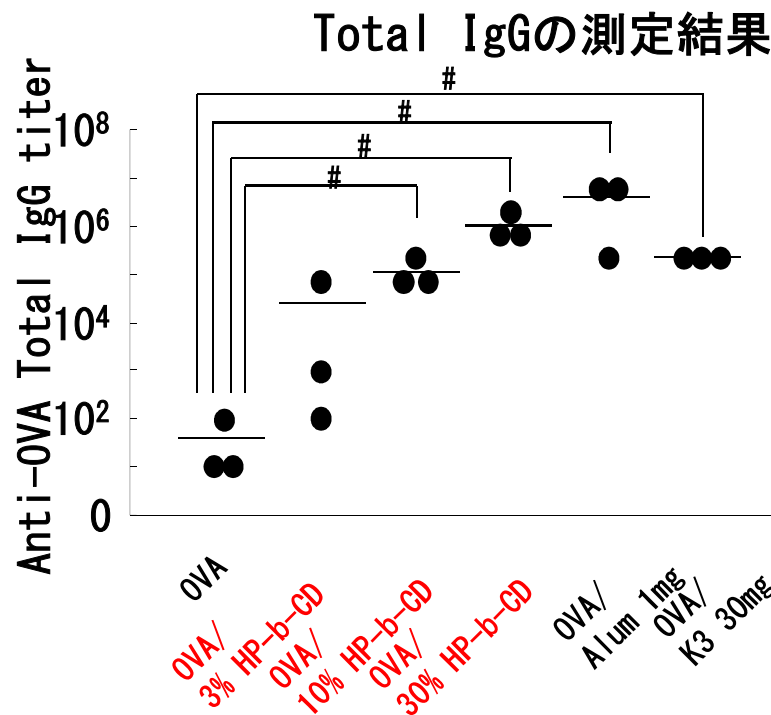
Kobiyama K et al *PNAS* 2014





# 安全性の高い添加剤がアジュバントになることを発見—シクロデキストリン (Hydroxypropyl- $\beta$ -CD)

医薬基盤研究所 石井健ら

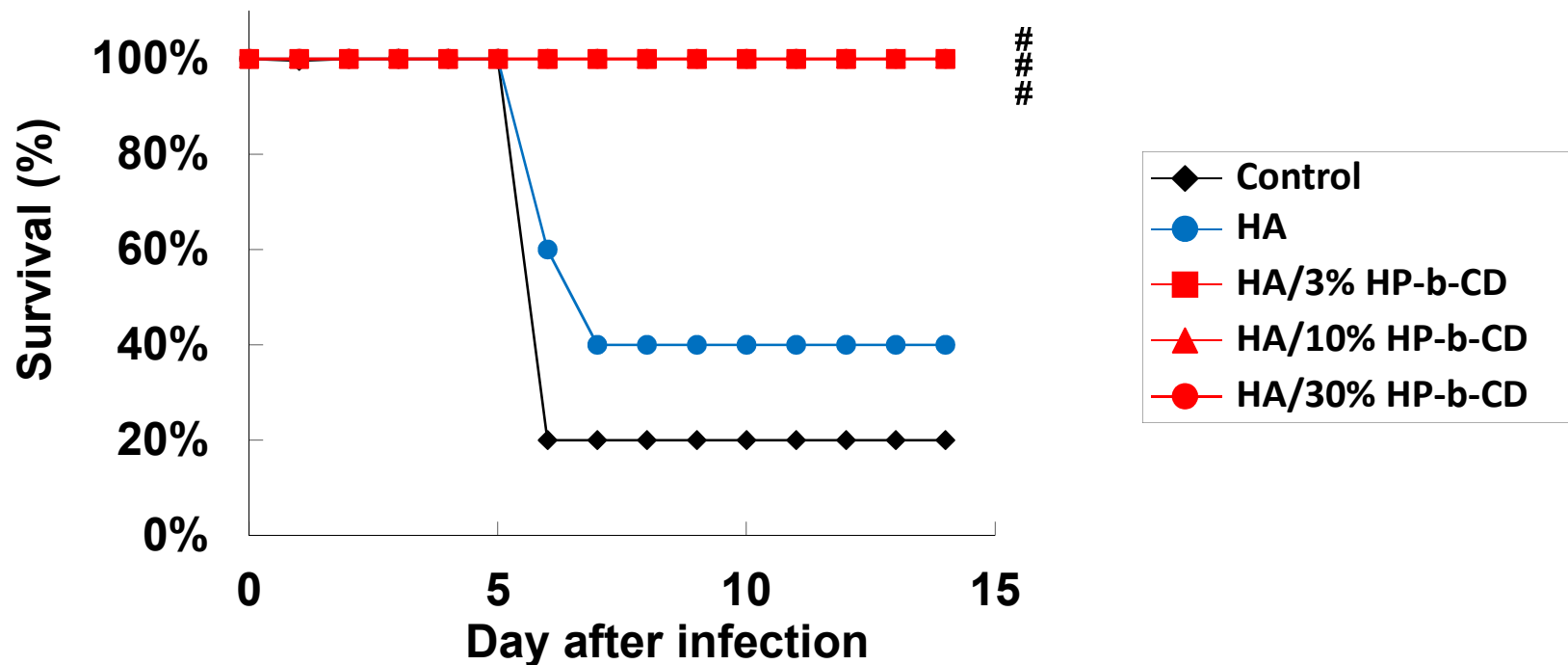


HP- $\beta$ -CDはアラムアジュバント (Alum) と同等のIgG能を持つが、アラムの副作用でもあるIgEの産生誘導が低い

# インフルエンザ HA split ワクチンにおけるシクロデキストリン (Hydroxypropyl- $\beta$ -CD) のアジュバント効果

Virus:  $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub> A/Osaka/129/2009 (H1N1)

## 致死抑制効果

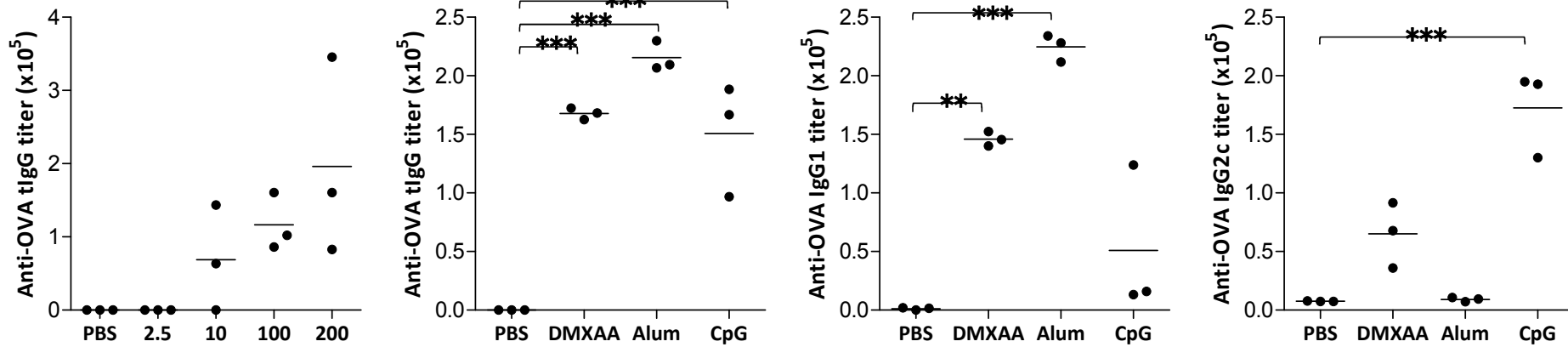
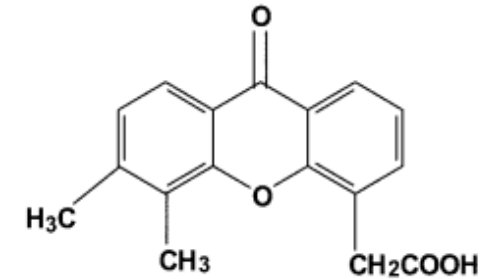


# p<0.05 vs HA, Log-rank test and wilcoxon's test

**HP-b-CDはHA split ワクチンの致死抑制効果を高めた。**

# 低分子抗がん薬 (DMXAA) のワクチンアジュバント効果

- フラボノイドの一種である低分子化合物:  
5-6-dimethylxanthenone-4-acetic acid  
= DMXAAのアジュバント機能を検証



DMXAAはSTINGリガンドとして自然免疫を活性化し、アルミニウム塩アジュバント (Alum) 以上の強いアジュバント活性を示す

# 上市されているアジュバント入りインフルワクチンに 匹敵する防御効果を、新規アジュバント「ヘモゾイン」で達成

<フェレットを用いたインフルエンザワクチン、感染モデル>

