

令和元年5月17日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01436

研究課題名(和文) 生体影響評価システムの確立とワクチンアジュバント研究への展開

研究課題名(英文) Development of vaccine adjuvant safety evaluation system

研究代表者

青枝 大貴 (Aoshi, Taiki)

大阪大学・微生物病研究所・特任准教授(常勤)

研究者番号：10324344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：赤外線サーモグラフィカメラを用いたマウスの発熱と行動を非侵襲的にかつ経時的に計測するシステムを構築した。またそのデータを用いて異常値を検出して定量化する方法を開発した。これらを用いて、LPS投与によるモデルでの評価や、新規アジュバントの評価を行った。その評価に基づいて、新規アジュバントの改変や改良を行い、より安全性に優れたアジュバントを創出出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果を実験的新規Th1型アジュバントの評価に組み入れることで、数少ない実用化された新しいアジュバントであるAS04やAS03で問題となった、AS04が添加された子宮頸がんワクチン接種後に全身的で多様な痛みを生じる健康被害が報告され日本では事実上ワクチン接種が停止されている事例や、AS03が添加された新型インフルエンザワクチン接種を受けた北欧諸国の人々でのナルコレプシー発症頻度の有意な増加等の事例と類似の将来事例の発生を未然に防げる可能性が高まったと考えられる。新しい安全性の高いワクチンアジュバントの開発研究において学術的にも社会的にも貢献出来ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Development of safe and effective adjuvant is required for creating safe and effective vaccines. However, an experimental evaluation of fever and fatigue is technically difficult, especially in small animals such as mouse and rat. To overcome this issue, non-invasive and continuous thermal imaging system including the equipment and the quantitative analysis algorithms for mice was developed. This system detects body temperature and activity of mice continuously, and the abnormality was quantitatively detected. This system was useful tool to evaluate the adjuvant induced physiological side effect in animal models.

研究分野：ワクチン免疫学

キーワード：ワクチン アジュバント マウス 副作用 評価法 赤外線カメラ 発熱 行動異常

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) アジュバントはワクチンの有効性に必須の成分であり、TLR をはじめとする自然免疫レセプターを刺激する微生物由来物質と、金属塩やオイルエマルジョンなど宿主由来因子の放出と抗原送達によるものと大別されて理解されている。中でも金属塩の一つであるアルミニウム塩は安全性に優れた Th2 型アジュバントとして現在も広く臨床使用されているが、がんや結核などに対しては有効性が低く、これらの疾患に対しても効果が期待される T 細胞性免疫応答を誘導できる PolyIC、R848、CpG 等の Th1 型ワクチンアジュバントの開発が強く求められている。しかしながらこれらの実験的アジュバントはインターフェロン産生誘導などの生理活性には優れたものの臨床使用した際の副作用が強く未だにほとんど実用化されていない。数少ない実用化された新しいアジュバントである AS04 や AS03 についても、AS04 が添加された子宮頸がんワクチン接種後に全身的で多様な痛みを生じる健康被害が報告され日本では事実上ワクチン接種が停止されている事例や、AS03 が添加された新型インフルエンザワクチン接種を受けた北欧諸国の人々でのナルコレプシー発症頻度の有意な増加等の事例は、新規アジュバントの臨床応用の難しさを示している。[注) AS04 : 水酸化アルミニウムと LPS の毒性を軽減した誘導體 MPL の混合物。AS03 : スクワレンとアルファトコフェノールからなるオイルエマルジョン。]

(2) これらの事例は、Th1 型アジュバント研究開発の最大のボトルネックは、その有効性ではなく安全性の担保にあり、既存の安全性評価には限界があることを示している。現状の非臨床試験では器質的影響の有無に重点が置かれているが、ワクチン接種後に最も高頻度に認められる副作用は発熱や全身倦怠感であり、ほとんどの場合は一過性であるが日常生活に大きな影響を及ぼしている。一般的により強い免疫応答を惹起すると考えられる Th1 型アジュバント添加ワクチンでは病原体感染時と似た発熱や全身倦怠感が強く誘導されやすく、AS04 が添加された子宮頸がんワクチンの事例についても接種時の強い痛みを含めた生理学的な生体反応が影響している可能性を否定出来ない。にもかかわらず現状ではアジュバント投与後の必ずしも器質的变化を伴わない全身的影響をマウスなどの実験動物を用いて簡易に信頼性良く測定・定量できる実験系は確立しておらず、既存のワクチン開発および安全性評価の盲点となっていると考えられている。

2. 研究の目的

がんや結核など既存ワクチンの有効性が限られた疾患に対しては T 細胞性免疫応答を誘導できる Th1 型アジュバントが添加されたワクチンの実用化が強く求められているが、Th1 型アジュバントの臨床応用は安全性への懸念からほとんど進んでいない。本研究では申請者が独自に開発した赤外線サーモグラフィーによるマウス発熱測定システムを発展させてアジュバントによる生体影響(発熱や倦怠感)を定量化する装置およびアルゴリズムを確立することで、安全性と有効性に優れた次世代 Th1 型アジュバントの開発研究に不可欠となる個体レベルでの生体影響評価法を構築することを目的とする。

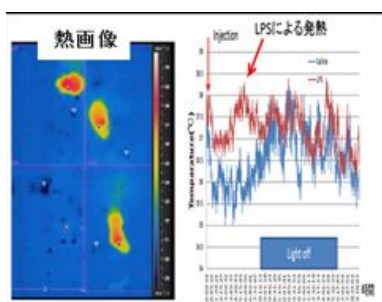
3. 研究の方法

個体レベル生体影響測定装置、インターフェースボックス及びソフトウェアを作成する。また LPS 投与モデルを用いたシステムの性能と機能を確認する。さらに種々のアジュバントをマウスに投与したデータ(体温と活動性の 2 週間連続データ)を取得し、未投与コントロールに対する有意変化検出アルゴリズムによって定量的な生体影響指標の定義を行う。

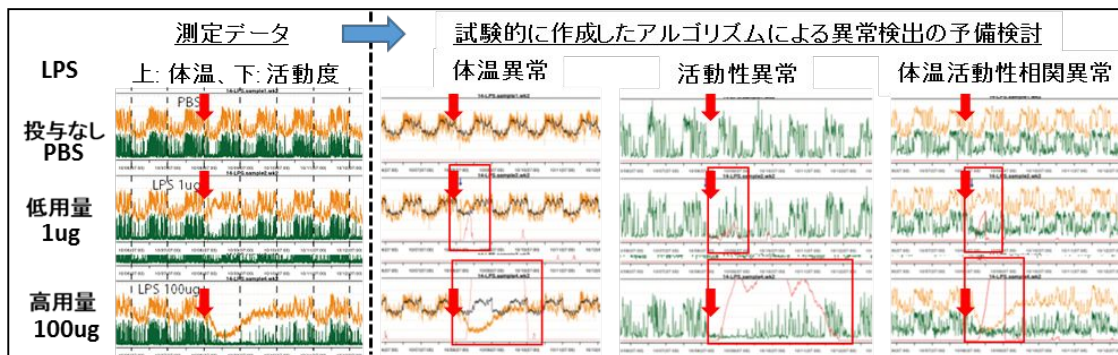
4. 研究成果

(1) 仕様として最大 8 台の赤外線サーモグラフィーカメラを用いて 32 匹までのマウスの体温を個別に、実験者が介在することなく 1 分間隔で連続 14 日間、非侵襲的に測定可能なシステムを構築した。テレメトリーシステムで必要だったプローブの埋め込みなどの外科的措置も必要がなく、極めて容易にマウスへの生体影響を評価出来る。

(2) ライト ON 時には体温が低く、ライト OFF 時(マウス活動時には体温が高くなる概日リズムと LPS による発熱用いたシステム検証を行い、このシステムが十分な機能を有していることを確認した(図 1)。



(3) 体温と活動性の評価を目的に、2 週間の連続データを取得し、未投与コントロールに対する投与群の有意変化検出アルゴリズムを用いて定量的な生体影響指標の評価を行った。個体レベル生体影響の定量評価法を確立した。



(4) この評価モデルを用いて、種々の新規開発アジュバントについて、生体影響評価を行った。またその結果を基に、アジュバントの改良を行い、安全性に優れた新規アジュバントの開発に成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

- Nagamata S, Aoshi T, Kawabata A, Yamagishi Y, Nishimura M, Kuwabara S, Murakami K, Yamada H, Mori Y, Identification of CD4 and H-2Kd-restricted cytotoxic T lymphocyte epitopes on the human herpesvirus 6B glycoprotein Q1 protein., 2019, Scientific reports 9(1) 3911, 査読有, DOI:10.1038/s41598-019-40372-5
- Aoshi T, Modes of Action for Mucosal Vaccine Adjuvants., 2017, Viral Immunol, 30, 463-470., 査読有, DOI:10.1089/vim.2017.0026
- Urakami A, Sakurai A, Ishikawa M, Yap ML, Flores-Garcia Y, Haseda Y, Aoshi T, Zavala FP, Rossmann MG, Kuno S, Ueno R, Akahata W., Development of a novel virus-like particle vaccine platform that mimics immature form of alphavirus., 2017, Clin Vaccine Immunol, 24:e00090-17., 査読有, DOI:10.1128/CVI.00090-17
- Nakatsu N, Igarashi Y, Aoshi T, Hamaguchi I, Saito M, Mizukami T, Momose H, Ishii KJ, Yamada H., Isoflurane is a suitable alternative to ether for anesthetizing rats prior to euthanasia for gene expression analysis., 2017, J Toxicol Sci, 42:491-497., 査読有, DOI:10.2131/jts.42.491
- Wijaya E, Igarashi Y, Nakatsu N, Haseda Y, Billaud J, Chen YA, Mizuguchi K, Yamada H, Ishii K, Aoshi T, Quantifying the relative immune cell activation from whole tissue/organ-derived differentially expressed gene data., 2017, Sci Rep, 7:12847., 査読有, DOI:10.1038/s41598-017-12970-8
- 青枝大貴, ワクチンアジュバントの基礎と将来展望, 2016, 化学療法の領域, 32, 1131-1141, 査読無

〔学会発表〕(計6件)

- 谷本佳彦, 宗像理紗, 長彰翁, 孟潔, 長谷田泰成, 小山正平, 鈴木亮, 青枝大貴, D35 アジュバント含有脂質ナノ粒子の腫瘍治療への応用, 第12回次世代アジュバント研究会, 2019
- 谷本佳彦, 宗像理紗, 長彰翁, 孟潔, 長谷田泰成, 吉岡靖雄, 岡田欣晃, 小山正平, 鈴木亮, 青枝大貴, D35 と脂質複合化による抗腫瘍効果, 第22回日本ワクチン学会学術集会, 2018
- 孟潔, 青枝大貴, Induction of IL-12p70 by a novel oligonucleotide in human PBMC., 第11回次世代アジュバント研究会, 2018
- 長谷田泰成, 孟潔, 青枝大貴, Adjuvant X can induce both cellular and humoral immunity even at very low antigen dose., 第11回次世代アジュバント研究会, 2018
- 奥谷三慧, 河端暁子, 西村光広, 長又哲史, 森康子, 青枝大貴, T cell response analysis against human herpesvirus 6B glycoprotein complex vaccination., 第11回次世代アジュバント研究会, 2018
- 青枝大貴, Modulation of A/D-type CpG ODN aiming for clinical use., 第10回次世代アジュバント研究会, 2017

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。