

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06399

研究課題名(和文) マウスモデルにてアジュバント効果を示す候補化合物の同定とメカニズム解析

研究課題名(英文) Identification of effective adjuvants for influenza vaccines in a mouse model

研究代表者

渡辺 登喜子 (Watanabe, Tokiko)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号：60557479

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、現行のインフルエンザワクチンの効果を高めるため、安全性が高く、効果的な免疫賦活作用を持つ新規アジュバント候補物質を同定することを目的として、ヒトでの使用が認可されている145種類の食品添加剤群に着目し、マウスモデルを用いてスクリーニングを行なった。その結果、インフルエンザワクチン免疫個体において、コントロールのアラムと比べて、より高いアジュバント効果を示す41種類の食品添加物を同定した。さらにエボラワクチンや新型コロナワクチンにおいても、同様に高いアジュバント効果を示す複数の化合物を見出した。本研究は、より効果的で安全性の高いアジュバント開発につながる事が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

副反応など安全性の問題から、新規アジュバントの薬事承認には大きなハードルがある。しかし本研究で用いる食品添加剤はヒトでの使用が承認されており、ヒトにおいて安全性が高いことが既に証明されている点に特色がある。そのため、安全面のハードルが低くなり、より早い実用化につながる可能性が高い。また本研究で同定された食品添加物は、食用の産業動物向けのワクチンに添加するアジュバントとしても期待できる。ヒトで安全性が証明されている食品添加剤を、ワクチンアジュバントとして使用することは、食用動物の感染症対策だけでなく、ヒトにおける食の安全性を確保するという点においても大きな強みとなる。

研究成果の概要(英文)：Influenza viruses cause seasonal and pandemic influenza. Vaccination is an effective strategy to control influenza; however, the efficacy of the currently available inactivated influenza virus vaccines is suboptimal, especially in the elderly. Vaccine efficacy can be improved by the addition of adjuvants, but few adjuvants are currently approved for human use. To explore novel, safe, and effective adjuvants for influenza vaccines, we screened 145 compounds from food additives approved in Japan and identified 41 compounds that enhanced the protective efficacy of the commercial influenza HA vaccine against lethal virus challenge in mice. Our results are of value to the development of novel and effective adjuvanted influenza or other vaccines for human and animal use.

研究分野：ウイルス学

キーワード：インフルエンザワクチン アジュバント

1. 研究開始当初の背景

インフルエンザは毎年冬になると流行し、乳幼児や高齢者を中心に多くの犠牲者を出し、社会的な問題となっている。インフルエンザの予防には主にワクチンが用いられているが、依然としてインフルエンザによる被害は大きく、現行ワクチンの効果を疑問視する声は多い。現在我が国では、精製ウイルスから脂質成分を除去したものをインフルエンザワクチンとして使用しているが、以前のワクチンと比べて、副反応を抑えることは出来るようになった反面、免疫原性も低くなってしまい、ワクチンとしての効果の低さが問題点として指摘されている。そのため、効果的なインフルエンザワクチンの開発は喫緊の課題となっている。

2. 研究の目的

上述の通り、現行の不活化ワクチンの問題点の一つは、免疫原性が低いことである。アジュバントは、ワクチンと一緒に投与することによって、そのワクチン効果を高める物質である。しかしながら、アジュバントには副反応などの安全性に懸念が残る。最近、食品添加剤の一つであるサポニンにアジュバント効果が認められ、海外ではワクチンアジュバントとして認可された。そこで本研究では、安全性が高く、効果的な免疫賦活作用を持つ新規アジュバント候補物質を同定することを目的として、以下の研究を行う。1) 自然感染とワクチンによる免疫記憶の誘導メカニズムの違いを調べるため、マウスモデルにおいて、インフルエンザウイルスの自然感染時と、ワクチン接種時における宿主応答との比較解析を行う。2) ヒトでの使用が認可されている食品添加剤群に着目し、マウスモデルを用いて、現行のインフルエンザワクチンの効果を増強する化合物のスクリーニングを行う。3) 老齢マウスにおいて、ワクチン後の宿主応答解析とアジュバント効果の検証を行う。

3. 研究の方法

1) マウスにおける自然感染とワクチン後の宿主応答解析

本研究では、ワクチン接種後の宿主応答を体系的に捉えるため、マウスモデルを用いて、ワクチン(アジュバントなし=現行ワクチン)を接種したワクチン群と、インフルエンザウイルスを感染させた自然感染群において、宿主応答を調べる。自然感染とワクチン後の宿主応答の間で、発現に有意な差がある遺伝子について詳細に解析し、自然感染とワクチン接種の間で異なる宿主応答を同定する。

2) マウスモデルにおいてアジュバント活性を示す食品添加剤の探索

申請者らはこれまでに、数多くの食品添加物のリストから 145 個の候補化合物を選択し、入手している。本研究ではまずアジュバントスクリーニングの条件設定を行い、ワクチン抗原のドーズ、およびアジュバント候補化合物のドーズを決定した。決定した条件下にて、ワクチン抗原とそれぞれの食品添加剤をマウスに 2 週間間隔で 2 回免疫したのち、血清中の抗体価を測定する。アラムコントロールと同等かそれ以上の抗体価を示した化合物を選択する。選択した化合物においては、ワクチン後のマウスに致死量のインフルエンザウイルスを感染させ、感染防御効果を調べる。アラムコントロールと同等かそれ以上の感染防御効果を示した化合物を、有望なアジュバント候補化合物として同定する。

3) 老齢マウスにおけるワクチン後の宿主応答解析とアジュバント効果の検証

高齢者ではインフルエンザワクチンの効果が低く、インフルエンザが重症化する傾向にあり、大きな問題となっている。老齢マウスを用いた実験でも、年齢がワクチンに対する応答ならびにインフルエンザウイルス感染に対する免疫系細胞の動態に影響を及ぼすことが示されている。本研究では、高齢者でワクチン効果が低いメカニズムを明らかにするため、老齢マウスをモデルとして用いて、上記 1)、2) の実験を行う。

4. 研究成果

ヒトでの使用が認可されている食品添加剤群に着目し、マウスモデルを用いて、現行ワクチンの効果を増強する化合物の探索を試みた。食品添加物のリストから、本研究に供する 145 個の化合物を選択した。現行のインフルエンザワクチンとそれぞれの食品添加物を、マウスに 2 週間間隔で 2 回免疫したのち、血清中のウイルス抗原に対する抗体価を測定した。アジュバントコントロールとしてはアラムを使用した。コントロールと同等かそれ以上の抗体価を示した化合物においては、ワクチン後のマウスに致死量のインフルエンザウイルスを感染させ、感染防御効果を調べた。その結果、現行ワクチンの効果を高める 41 種類の食品添加物を同定した (Feng et al., Vaccines, 2019)。同定された化合物には、18 種類の新規アジュバント候補、15 種類のインフルエンザワクチンでの新規アジュバント候補 (インフルエンザ以外のワクチンにおいて、既にアジュバント効果が示されているもの) および 8 種類の既知のインフルエンザワクチンのアジュバント候補が含まれていた。本研究で同定された候補化合物は、他のワクチンにも応用可能であり、食用の産業動物向けのワクチンに添加するアジュバント候補としても期待できる。さらに食品添加物以外にも、アジュバント効果を示す化合物を見出した (Feng et al., 2019a, Front Microbiol; Feng et al., 2019b, Front Microbiol)。

また上記で同定された化合物について、他のワクチンでも効果を示すかどうかを検証した。エボラウイルスのウイルス様粒子 (virus-like particle: VLP) をワクチンとして用いて、そのワクチン効果を増強させるアジュバント候補化合物のスクリーニングをマウスモデルにおいて行なった。まずはじめに、日本においてヒトへの使用が承認された注射用添加剤のライブラリーを準備した。その中から、インフルエンザワクチンにおいてアジュバント効果を示した 24 種類の化合物を選定した。それらの化合物を、エボラ VLP ワクチンとともに、2 週間おきに 3 回、マウスに筋肉内接種した。免疫したマウスから採取した血清中に含まれる、ウイルス特異的 IgG 抗体を、ELISA 法によって測定した。その結果、ウイルス特異的 IgG 抗体価を有意に増強する 6 つの化合物を同定することができた (Feng et al., Vaccines, 2020)。さらに新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に対するワクチンについても、アジュバントの効果を調べた。化合物 A について、不活化 SARS-CoV-2 ウイルスとともに、2 週間おきに 2 回、ハムスターに筋肉内接種したのち、血清中のウイルス抗原に対する抗体価を測定した。アジュバントコントロールとしてはアラムを使用した。また免疫後のハムスターに SARS-CoV-2 を感染させ、感染防御効果を調べた。その結果、化合物 A は、コントロールのアラムよりも、不活化 SARS-CoV-2 ウイルスのワクチン効果を高めることが見出された (論文準備中)。これらのアジュバント候補化合物は、すでにヒトでの使用が承認されているため、安全性プロファイルが不明なアジュバントに比べて、実用化に近いことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Feng H, Nakatsu S, Lopes TJDS, Imai M, Yamayoshi S, Yamashita M, Watanabe T, Kawaoka Y.	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of Novel Adjuvants for Ebola Virus-Like Particle Vaccine.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Vaccines (Basel)	6. 最初と最後の頁 215
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/vaccines8020215	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Feng Huapeng, Yamashita Makoto, da Silva Lopes Tiago Jose, Watanabe Tokiko, Kawaoka Yoshihiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Injectable Excipients as Novel Influenza Vaccine Adjuvants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2019.00019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Feng Huapeng, Nakajima Noriko, Wu Li, Yamashita Makoto, Lopes Tiago J. S., Tsuji Moriya, Hasegawa Hideki, Watanabe Tokiko, Kawaoka Yoshihiro	4. 巻 10
2. 論文標題 A Glycolipid Adjuvant, 7DW8-5, Enhances the Protective Immune Response to the Current Split Influenza Vaccine in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2019.02157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Feng Huapeng, Yamashita Makoto, Wu Li, Jose da Silva Lopes Tiago, Watanabe Tokiko, Kawaoka Yoshihiro	4. 巻 7
2. 論文標題 Food Additives as Novel Influenza Vaccine Adjuvants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Vaccines	6. 最初と最後の頁 127 ~ 127
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/vaccines7040127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 渡辺登喜子	4. 巻 49
2. 論文標題 輸入感染症・脅威となる海外の感染症 鳥インフルエンザ	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床とウイルス	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 渡辺登喜子	4. 巻 9
2. 論文標題 A型インフルエンザの流行の特徴	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 チャイルドヘルス	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 渡辺登喜子	4. 巻 20
2. 論文標題 季節性インフルエンザの流行について	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 インフルエンザ その他の呼吸器感染症	6. 最初と最後の頁 39-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 渡辺登喜子	4. 巻 21
2. 論文標題 鳥インフルエンザA(H5N1)について	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 インフルエンザ その他の呼吸器感染症	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 渡辺 登喜子
2. 発表標題 輸入感染症・脅威となる海外の感染症「鳥インフルエンザ」
3. 学会等名 第62回日本臨床ウイルス学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡辺登喜子、河岡義裕
2. 発表標題 Emerging zoonotic viruses: from avian influenza viruses to SARS-CoV-2.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Watanabe T
2. 発表標題 New approaches to the development of effective influenza vaccines.
3. 学会等名 The 7th International Conference & Exhibition on Influenza Vaccines for The World.（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	ウイスコンシン大学			