# アジュバントデータベース
# 及び
# アジュバントガイドラインについて

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

# 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

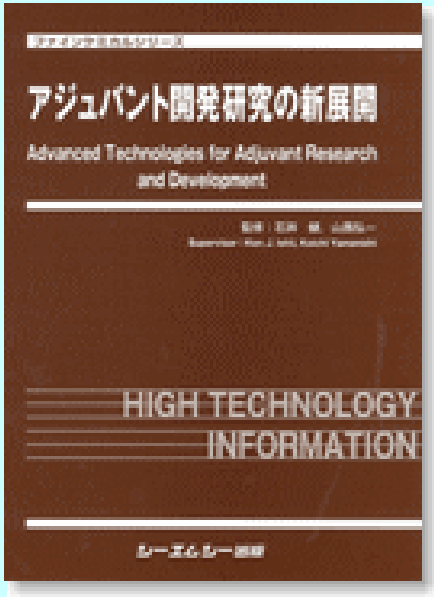
### アジュバント安全性評価法の確立

日本ならではの高品質で安全なアジュバントの創製へ

# 「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
〇審良 静男（大阪大学免疫学フロンティア研究センター拠点長）
〇中西 憲司（兵庫医科大学 学長）
〇清野　宏（東京大学医科学研究所 教授）
〇瀬谷　司（北海道大学大学院医学研究科 教授）
〇石井　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》
〇アステラス製薬㈱　〇大塚製薬㈱　〇塩野義製薬㈱
〇ゼリア新薬工業㈱　〇第一三共㈱　〇大日本住友製薬㈱
〇武田薬品工業㈱　〇田辺三菱製薬㈱　〇中外製薬㈱
〇MSD㈱　〇ｸﾞﾗｸｿ・ｽﾐｽｸﾗｲﾝ㈱　〇ｻﾉﾌｨﾊﾟｽﾂｰﾙ㈱
〇ﾉﾊﾞﾙﾃｨｽﾌｧｰﾏ㈱　〇ファイザー㈱
《ワクチンメーカー》
〇（財）化学及血清療法研究所　〇（学）北里研究所　〇（財）阪大微生物病研究会
《バイオベンチャー》
〇㈱MBR　〇ジーンデザイン㈱　〇セルメディシン㈱




2014年2月までにすでに7回の研究会を開催

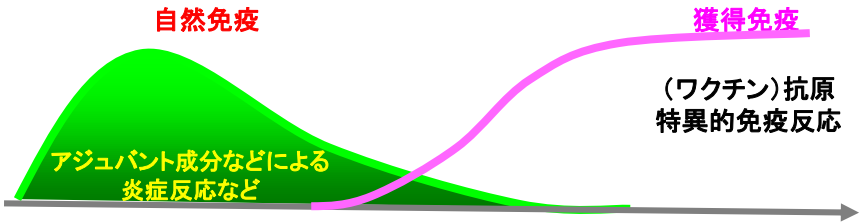
# アジュバントデータベースプロジェクト参画研究者

| ①研究者名 | ②分担する　研究項目 | ④所属研究機関 |
|---|---|---|
| 石井健 | 研究統括および<br>アジュバントの有効性と安全性の理論基盤構築 | 医薬基盤研究所・大阪大学 |
| 山田弘 | トキシコゲノミクスによる毒性バイオマーカーの開発 | 医薬基盤研究所 |
| 水口賢司 | データベース開発<br>および実験データのバイオインフォマティクス解析 | 医薬基盤研究所 |
| 清野宏 | システムワクチンによる粘膜アジュバント開発研究 | 東京大学医科学研究所 |
| 中西賢司 | Th2アジュバントの機能解析、開発研究 | 兵庫医科大学 |
| 瀬谷司 | 抗がん免疫の核酸アジュバントの開発研究 | 北海道大学 |
| 植松智 | 粘膜アジュバントの標的細胞に関する研究 | 東京大学・大阪大学 |
| 浜口　功 | 評価法開発およびDNAマイクロアレイ解析 | 国立感染症研究所 |
| 保富 康宏 | 霊長類を用いた動物実験、アジュバント開発研究 | 医薬基盤研究所・三重大学 |
| Daron M.Standley | データベース開発<br>および実験データのバイオインフォマティクス解析<br>Analysis of wet exp-data and construction of data base | 大阪大学 |
| Cevayir　Coban | 粒子アジュバントの機能解析、開発研究<br>Analysis of particle adjuvants | 大阪大学 |
| 國澤　純 | 粘膜アジュバントの開発と宿主免疫応答の解析 | 医薬基盤研究所・東京大学 |

# 遺伝子発現およびマイクロRNA網羅解析による アジュバントバイオマーカーの探索

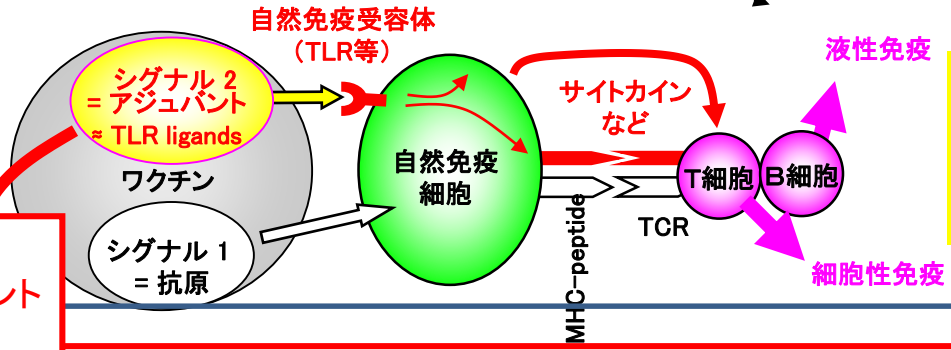
現状、背景

生体レベル




経験的な
ワクチン開発

細胞レベル

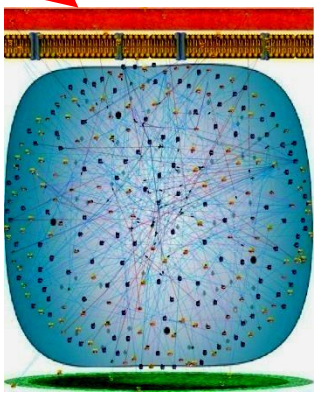



細胞レベルでの
理解の進歩
(免疫学、微生物学)

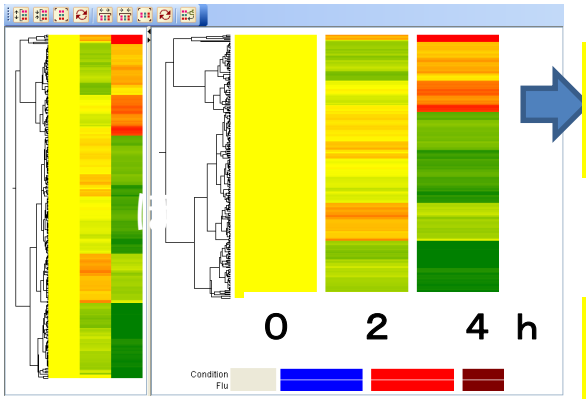
各種
アジュバント
投与

本提案内容

分子(遺伝子)レベル



細胞内シグナル伝達情報




遺伝子発現情報

データベースの構築
バイオマーカーの同定

分子レベルでの理解
に基づいたワクチン開発

# 実際の研究の流れ（例）

## 国立感染症研究所

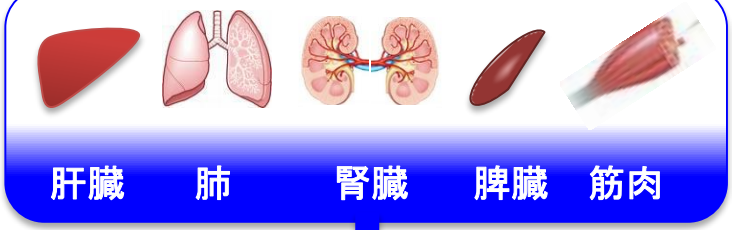
SDラット
（6週齢）
1群2～3匹

Alum、FCA

腹腔内、筋肉内投与

6時間後、24時間後

体重測定

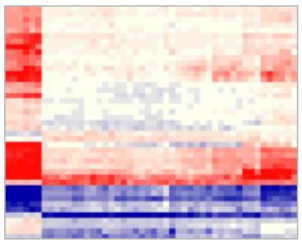


肝臓　肺　腎臓　脾臓　筋肉

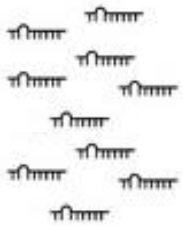
血液

血液学検査、生化学検査

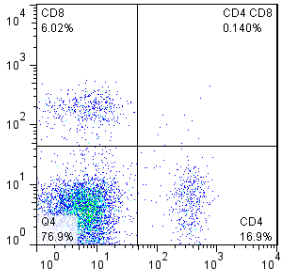
## 医薬基盤研究所



DNAマイクロアレイ解析



miRNA解析




FACS解析

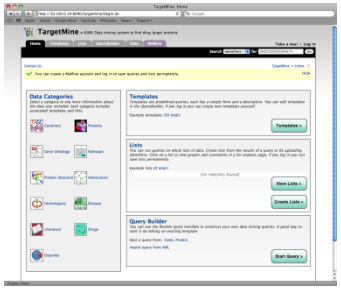
# データベース、安全性予測システムの開発

アジュバント情報データ

動物（マウス、ラットなど）の遺伝子発現情報データ

miRNAなどヒトサンプル解析データ

データ統合のために*InterMine*データウェアハウスシステムなどを利用



（Cambridge Systems Biology Centreでの開発に参加）

Funding wellcome trust

National Human Genome Research Institute

統合データベース開発

タンパク質立体構造などを含むアノテーション付加

Tripos Driving Accelerated Drug Discovery

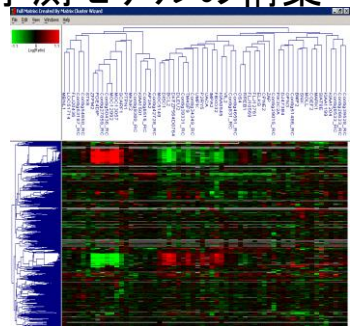
FUGUE

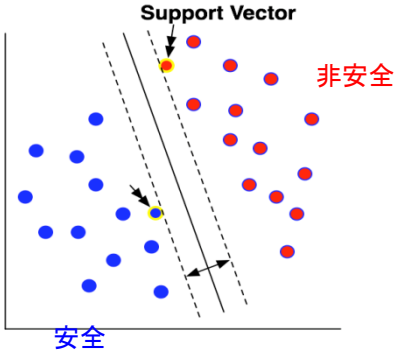
（立体構造予測ソフトウェアとしてもっともよく知られたものの一つ）

*http://tardis.nibio.go.jp/fugue*

## 安全性予測システム

機械学習法などを利用した予測モデルの構築






仮説提唱

モデルの改良

実験による検証

# 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、

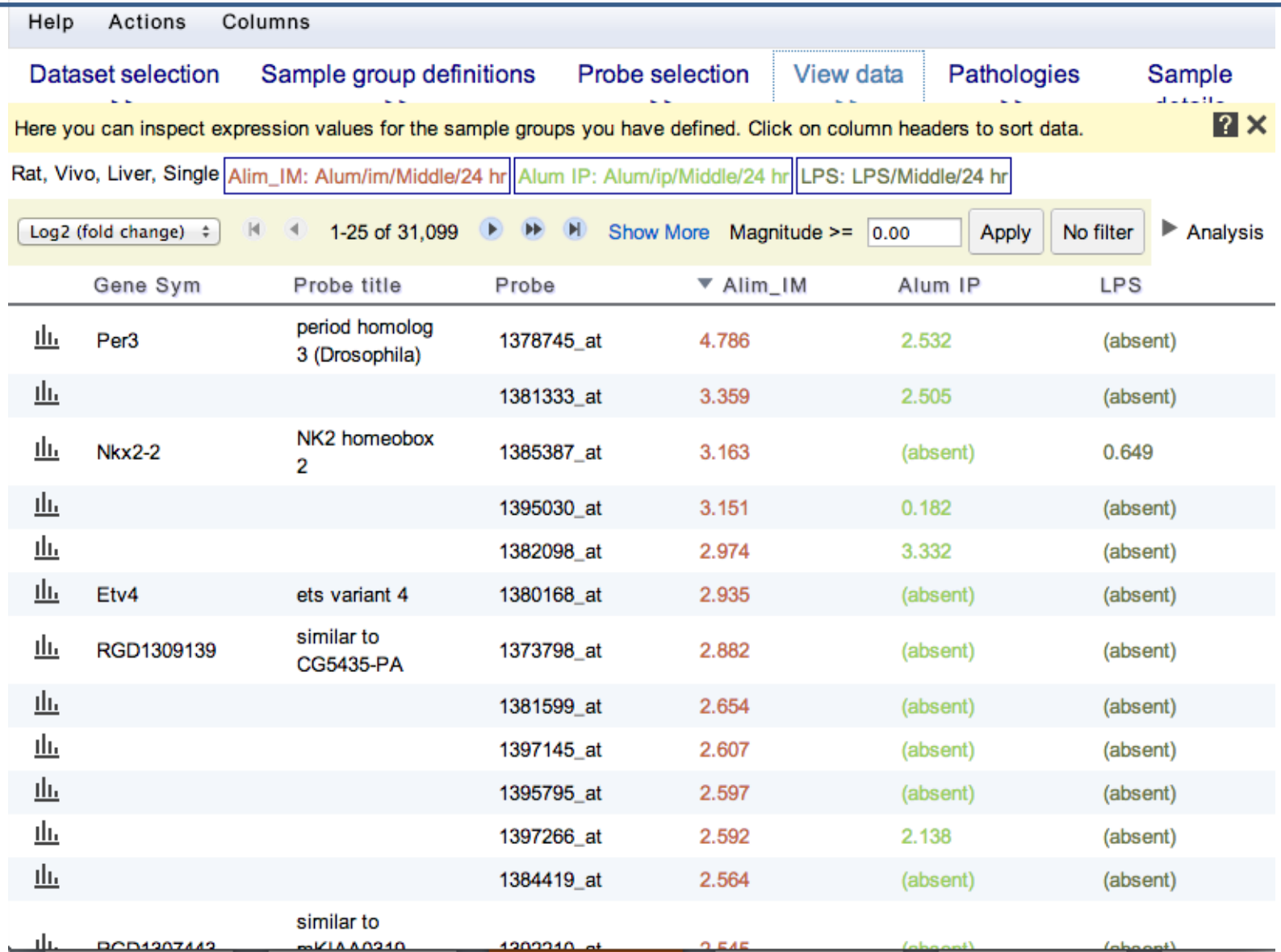
→ **第１世代の核酸アジュバントの医師主導型治験を開始した。第2世代のDDS機能つき核酸アジュバントを開発（企業導出予定）、その他約20種を同定。**

## 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。**

# 成果：アジュバントデータベースプロトタイプが完成

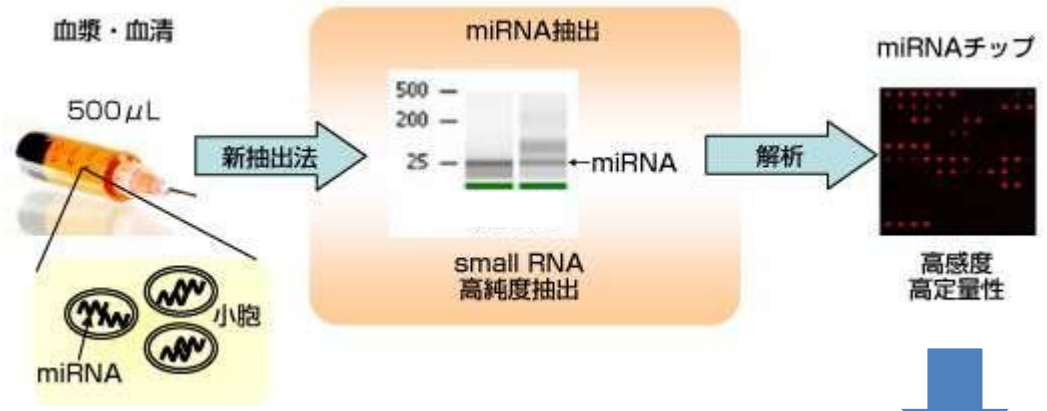
コアチーム＝　基盤研（石井、水口、山田、国澤、保富）
＋感染研（浜口）＋阪大（Standley, Coban）



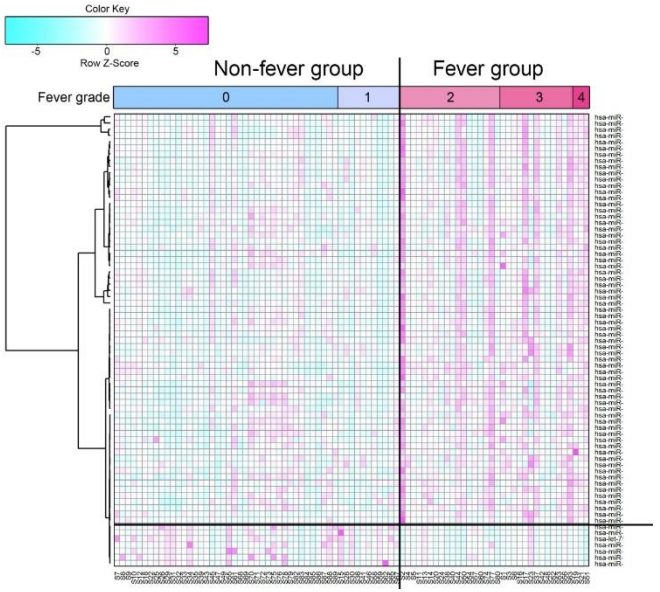

| | Gene Sym | Probe title | Probe | Alim_IM | Alum IP | LPS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Per3 | period homolog 3 (Drosophila) | 1378745_at | 4.786 | 2.532 | (absent) |
| | | | 1381333_at | 3.359 | 2.505 | (absent) |
| | Nkx2-2 | NK2 homeobox 2 | 1385387_at | 3.163 | (absent) | 0.649 |
| | | | 1395030_at | 3.151 | 0.182 | (absent) |
| | | | 1382098_at | 2.974 | 3.332 | (absent) |
| | Etv4 | ets variant 4 | 1380168_at | 2.935 | (absent) | (absent) |
| | RGD1309139 | similar to CG5435-PA | 1373798_at | 2.882 | (absent) | (absent) |
| | | | 1381599_at | 2.654 | (absent) | (absent) |
| | | | 1397145_at | 2.607 | (absent) | (absent) |
| | | | 1395795_at | 2.597 | (absent) | (absent) |
| | | | 1397266_at | 2.592 | 2.138 | (absent) |
| | | | 1384419_at | 2.564 | (absent) | (absent) |
| | RGD1307443 | similar to mKIAA0319 | 1392210_at | 2.545 | (absent) | (absent) |

# 成果；血清バイオマーカーとしてのマイクロRNA網羅的解析

| グループ分け | | 抗体上昇（HI>=16） | |
|---|---|---|---|
| | | あり | なし |
| 発熱 38℃～ | あり | G1 | G2 |
| | なし | G3 | G4 |




血清マイクロRNA(miRNA)の発現解析から、発熱（安全性）、抗体価（有効性）のバイオマーカー候補の同定に成功した。




1）グレード4（39度2日以上）の重度の発熱をおこす患者を接種前の血清miRNAから予測することができる可能性が示された。

2）抗体価が低いのにもかかわらず発熱を起こした患者を接種前の血清miRNAから予測することができる可能性を示した。

# H26年度以降の臨床研究計画

- ヒト血液および末梢血単核球を用いたマイクロRNA研究（基盤研内）
- 術後膵癌に対するペプチドワクチン臨床試験被験者血清を用いたmiRNA解析研究(和歌山医大との共同研究)
- アジュバントを添加したインフルエンザワクチン治験被験者の保存血清を用いたマイクロRNA研究（オーストラリアVaxine社との共同研究)
- マラリアトラベラーズワクチン（BKSE36)第1相治験における披験者血清を用いたマイクロRNA研究
- 経口米ワクチンのFirst in human臨床研究（東大医科研）における披験者血清を用いたマイクロRNA研究

- インフルエンザワクチン治験における副作用と相関するmicroRNA解析研究（北里研究所、第一三共社との共同研究）
- インフルエンザワクチン副作用（アナフィラキシー）が疑われる患者検体を用いた臨床研究（国立病院機構三重病院との共同研究）
- 感染症ワクチン副作用（ADEM）が疑われる患者検体を用いた臨床研究（茅ヶ崎市立病院との共同研究）
- 小児炎症性疾患患者における血清マイクロRNA解析研究（横浜市大との共同研究)
- IgG4関連疾患の病態解明に関するヒト血液および末梢血単核球を用いた臨床研究(兵庫医大との共同研究)

# アジュバントDB共同研究等
# (アジュバント開発PJのみ、分担研究者間以外)

共同研究契約

- 第一三共
- 田辺三菱
- 塩野義
- ジーンデザイン
- ソフセラ
- サノフィ
- 日本全薬工業(阪大)
- ゼリア新薬
- 日本新薬
- 宇部興産　等

MTA等

- アステラス
- Vaxine社(Advax)
- GSK
- Novartis　等

共同研究

- 北海道大学
- 三重大学
- 国立がんセンター
- 東京大学(医科研、薬学部)
- 大阪大学(微研、IFREC，医学部、薬学部、蛋白研等)
- 佐賀大学
- 北九州市立大学　など

- カロリンスカ研究所(スウェーデン)
- 国立シンガポール大学
- リージュ大学(ベルギー)
- 北京清華大学
- 台湾国立清華大学

# 成果；産官学AROによる治験実施体制の構築

**医薬基盤研究所**
**アジュバント開発PJ**
（プロトコル・ICF・概要書取りまとめ
治験分担医師）

大阪大学医学部附属病院未来医療開発部
未来医療センター
（治験責任医師・分担医師
DM/モニター/治験事務局/IRB対応/CRC）

大阪大学微生物病研究所
分子原虫学分野
研究資金（文科省科研費）

大阪大学医学部附属病院
呼吸器・免疫アレルギー内科
薬剤部
臨床検査部

阪大微生物病研究会
BK-SE36

ジーンデザイン社
CpG-ODN(K3)

治験薬提供

治験実施

監査（イーピーエス株式会社）

独立安全性評価委員会

# 成果: 産官学AROによる日本初の核酸アジュバント入りマラリアワクチン治験を開始

ヒト型CpGODN（K3）をアジュバントとしたマラリアトラベラーズワクチンの前臨床試験を終了。PMDA治験前相談を平成24年3月29日に終え、12月阪大附属病院のIRB、1月にPMDAに治験届、2月より治験（スクリーンニング）を開始した。平成25年度中に医師主導型治験終了予定

ヒト型CpG-ODNの開発研究を国内ベンチャー企業と協同して行い、平成22年度にGMP基準での製造に成功した。このことは日本初の核酸アジュバントの製造・品質保証を意味し、マラリアワクチン試験へ向けたステップとしても意義が高い。

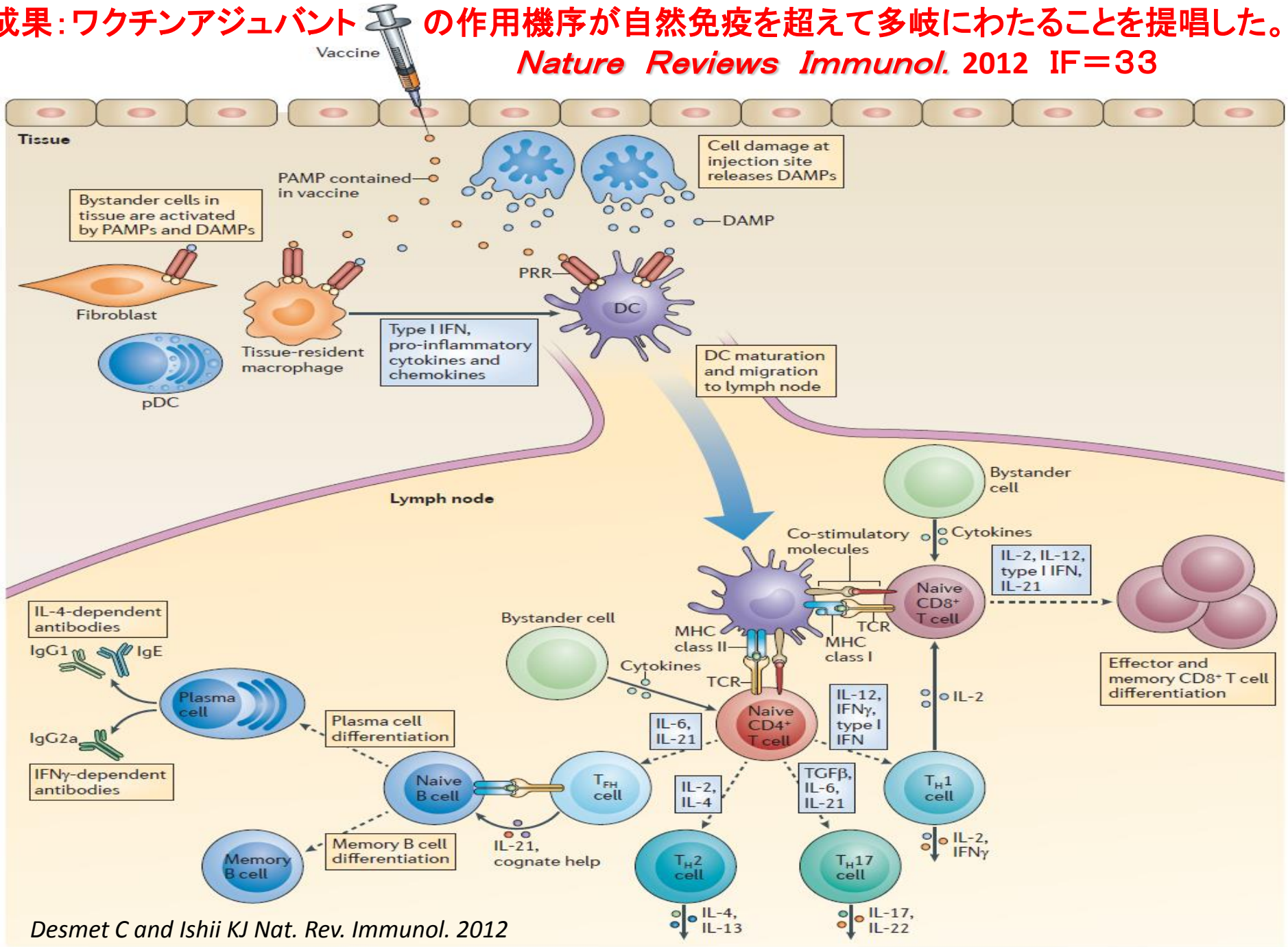
＊＊＊　上記の成果を受けて、マラリアワクチンに加え、日本で開発予定の肺炎球菌ワクチン、インフルエンザワクチン、ガンワクチンにおいても、ヒト型CpG-ODNを添加したワクチンの開発を目指した前臨床試験にむけ共同研究を予定している（一部すでに開始）。

# 成果；新規アジュバントの開発状況（基盤研：シーズから動物でのPOCのレベルまで）

- 第2世代（抗原提示細胞をターゲットとするDDS機能付加）TLRリガンドアジュバント＝K3－SPG （*PNAS* 2014）
  - インフル、ガンワクチンでの高い効果確認済み
  - 前臨床試験準備段階－**導出（企業＋JST）**
- 新規アジュバントのIn vitro, In vivoスクリーニングによる候補分子同定（核酸；約20、低分子3、粒子（高分子）3）
  - 既に厚生労働省認可済み添加剤－ベータシクロデキストリンの高いアジュバント効果（インフルワクチン）と安全性確認（IgEが出ない）
  - 上市寸前の低分子薬（DMXAA）のアジュバント効果、メカニズム解明
- 導入のものも含めたアジュバント候補のうち、アジュバント機能解析済み（3）、新規メカニズム解明（2）、サル、フェレットによるPOC（2）
  - 一部すでに動物ワクチン用のアジュバントとして企業導出
  - 企業との共同研究中（5件）、開始予定（3件）

# 成果：ワクチンアジュバントの作用機序が自然免疫を超えて多岐にわたることを提唱した。

*Nature Reviews Immunol.* 2012 IF＝33




*Desmet C and Ishii KJ Nat. Rev. Immunol. 2012*

# 成果：WHO によるアジュバント入りワクチンのガイドライン作成に（最初から最後まで）貢献

- ワクチンアジュバントとアジュバント添加ワクチンの非臨床ガイドライン案

2011年9月 第1回 専門家会議（@ FDA）

↓ drafting group の結成

2012年↓9月 1st draft　11月 2nd draft

↓

11月27・28日　スイス・ジュネーブ WHO 本部で専門家会議

・ 20ヶ国、約40名の産官学メンバーの参加

↓

12月19日　WHO ECBS による考査、承認

→ WHO TRS として発出

日本医療研究開発機構研究費（医薬品等規制調和・評価研究事業研究事業）

## 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

| ①研究者名 | ②分担する研究項目 | ④所属研究機関 |
|---|---|---|
| (研究代表者)<br>石井　健 | 研究の総括<br>アジュバントに関するガイダンスの検討・作成 | 医薬基盤研究所<br>ｱｼﾞｭﾊﾞﾝﾄ開発ﾌﾟﾛｼﾞｪｸﾄ |
| (研究分担者)<br>伊藤　澄信 | 臨床評価ガイドラインのガイダンス検討・作成 | 国立病院機構本部<br>総合研究ｾﾝﾀｰ |
| (研究分担者)<br>加藤　篤 | 生物学的製剤基準のあり方に関する検討 | 国立感染症研究所<br>品質保証・管理部 |
| (研究分担者)<br>川上　浩司 | 非臨床・臨床評価ガイドラインの国際調和の観点からのガイダンス検討・作成 | 京都大学大学院<br>医学研究科・ |
| (研究分担者)<br>倉田　毅 | 非臨床評価ガイドラインのガイダンス検討・作成 | 国際医療福祉大学<br>塩谷病院 |
| (研究分担者)<br>駒瀬　勝啓 | 臨床評価ガイドラインのガイダンス検討・作成 | 国立感染症研究所<br>ウイルス第３部 |
| (研究分担者)<br>浜口　功 | 非臨床評価ガイドラインのガイダンス検討・作成 | 国立感染症研究所・血液・安全性研究部 |
| (研究分担者)<br>宮﨑　義継 | 非臨床・臨床評価ガイドラインのガイダンス検討・作成 | 国立感染症研究所<br>真菌部 |
| 國澤　純 | アジュバントに関するガイダンスの検討・作成 | 医薬基盤研究所ﾜｸﾁﾝﾏﾃﾘｱﾙﾌﾟﾛｼﾞｪｸﾄ |

# 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

**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）

（安全性、有効性を確認する試験）

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

# 感染症に対するアジュバント添加ワクチンの非臨床試験ガイドライン（案）

目次


１．緒言
　１．１　背景
　１．２　目的
　１．３　範囲
２．一般的な考え方
　２．１　アジュバントの説明・分類
３．アジュバント添加ワクチンの製造・品質管理３．１　性状解析
４．アジュバントの添加に関する論理的根拠
　４．２　In vivo(POC)試験
　４．３　In vitro試験
５．薬力学試験
　５．１　試験デザイン
　５．２　動物種/モデルの選択
　５．３　被検物質
６．安全性試験
　６．１　試験デザイン
　６．２　動物種/モデルの選択
　６．３　被検物質
　６．４　投与経路
　６．５　基本的な安全性評価：個別留意事項
　６．５．１　安全性薬理試験
　６．５．２　急性毒性試験
　６．５．３　反復投与毒性試験
　６．５．４　生殖発生毒性試験
　６．５．５　遺伝毒性試験
　６．５．６　がん原性試験
　６．５．７　トキシコキネティクス
　６．５．８　免疫毒性試験
　６．５．９　局所刺激性試験
　６．５．１０　特別な留意事項及び更に考慮すべき事
　　６．５．１０．１　アジュバント単独の毒性試験
　　６．５．１０．２　幼若モデルを用いたアジュバント毒性評価
　　６．５．１０．３　自己免疫疾患との関わり
　　６．５．１０．４　生体内分布
　　６．５．１０．５　行動毒性試験
７．動物試験の限界
８．ヒト初回投与試験の実施に向けた考察
９．用語解説


＊＊内容は案であり、変更される可能性があります＊＊

# スライド①-⑨の参考資料

# 成果：第2世代核酸アジュバントの開発＝K3－SPG

研究代表者　医薬基盤研究所　石井健ら

CpG ODN (*K3) (20塩基)

**Poly $dA_{40}$ (40塩基)

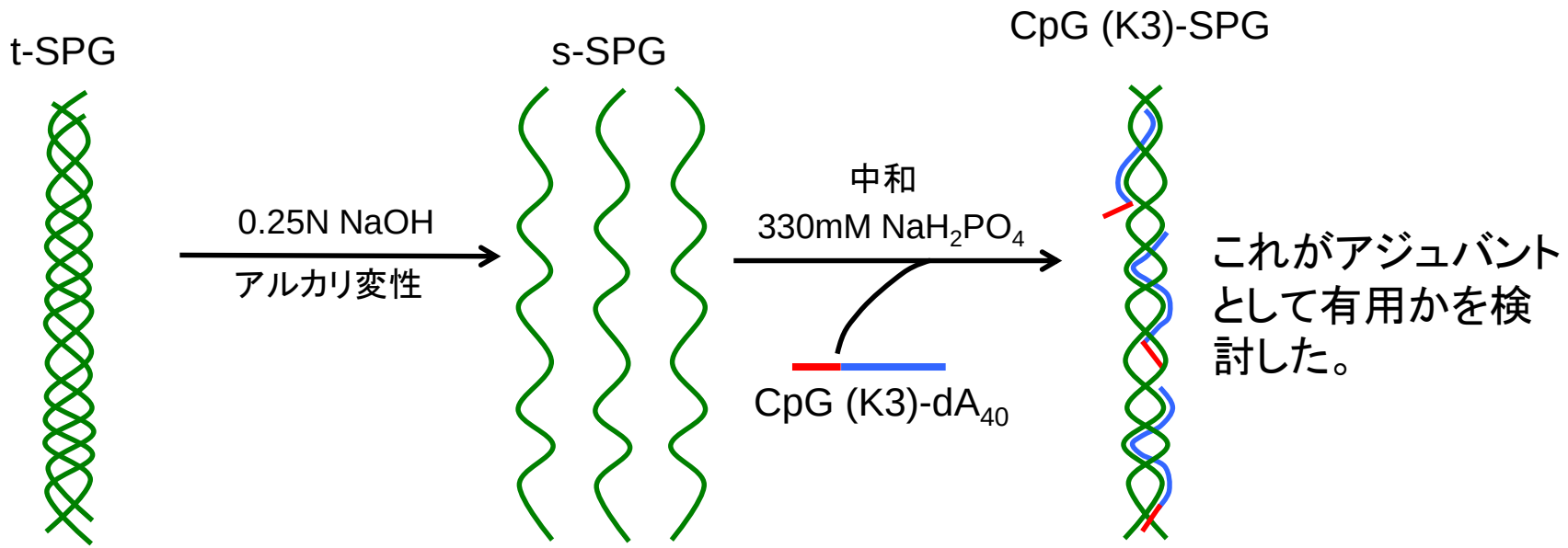
CpG (K3)-$dA_{40}$ (60塩基)

多糖 [t-SPG (3量体)]

多糖 [s-SPG (1量体)]

*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。




分子量: 450KDa

3重螺旋構造

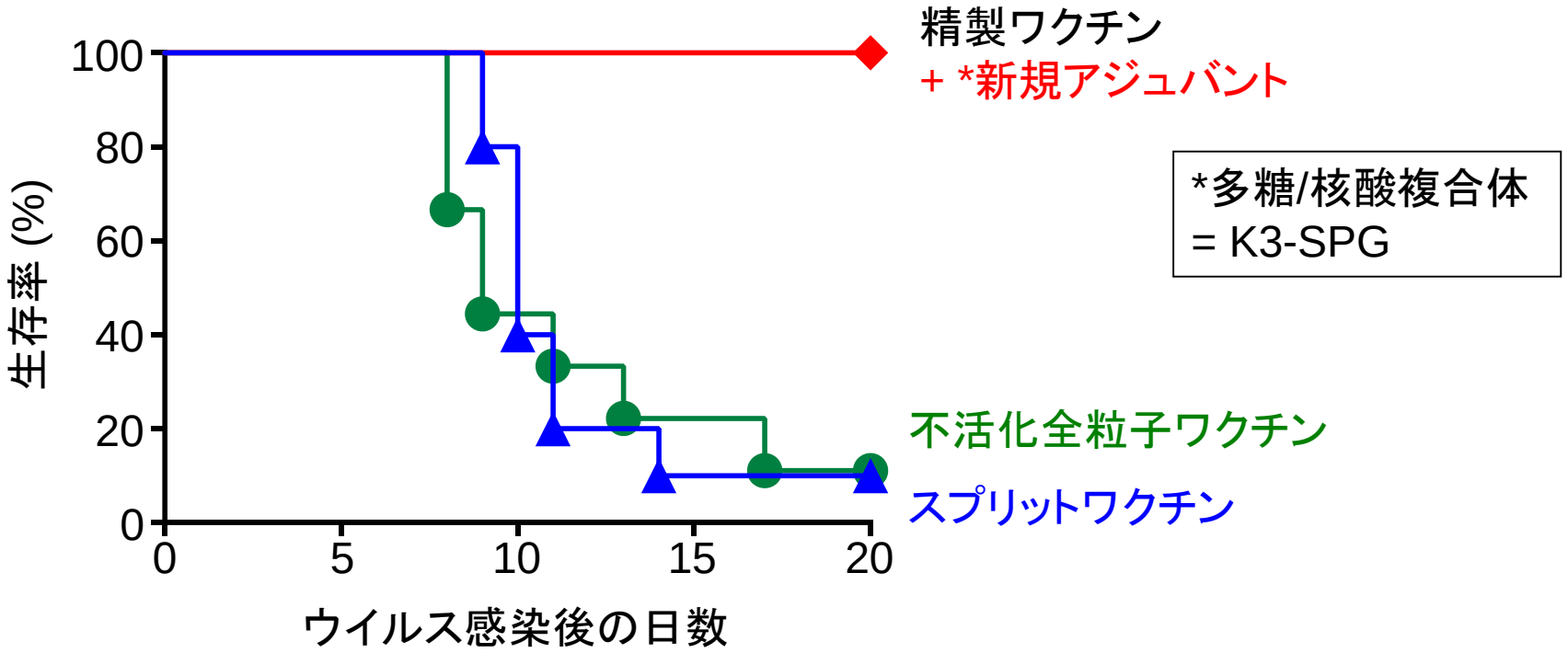
Kobiyama K et al ***PNAS*** 2014

# 成果：第2世代核酸アジュバントの開発＝K3－SPG

研究代表者　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

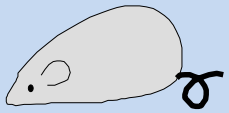



**インフルエンザスプリットワクチンの溶液と混ぜるだけで非常に高い有効性（感染防御能）を示す。**

Kobiyama K et al ***PNAS*** 2014

# 成果：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ーーーーーー＞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ーーー＞新たな評価系



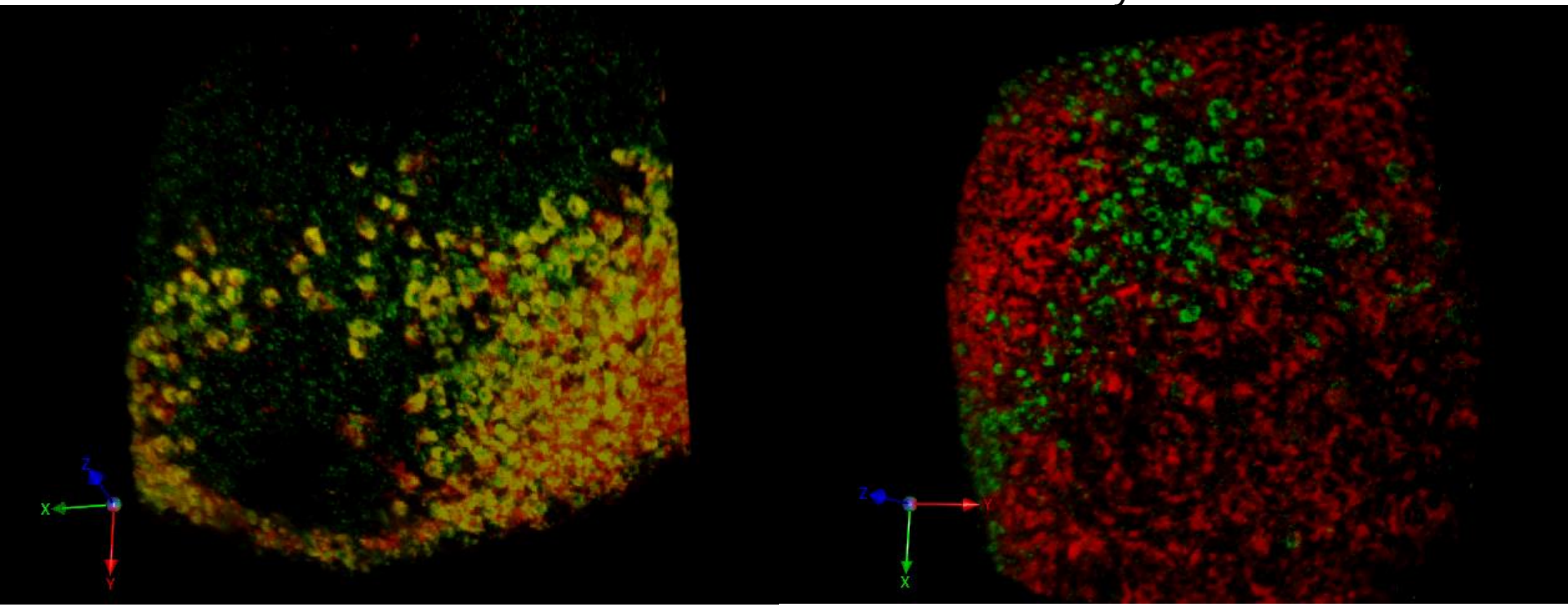
Mice: WT B6

s.c. vaccination
Alexa488-K3, Alexa488-K3-SPG
(10μg/mouse)

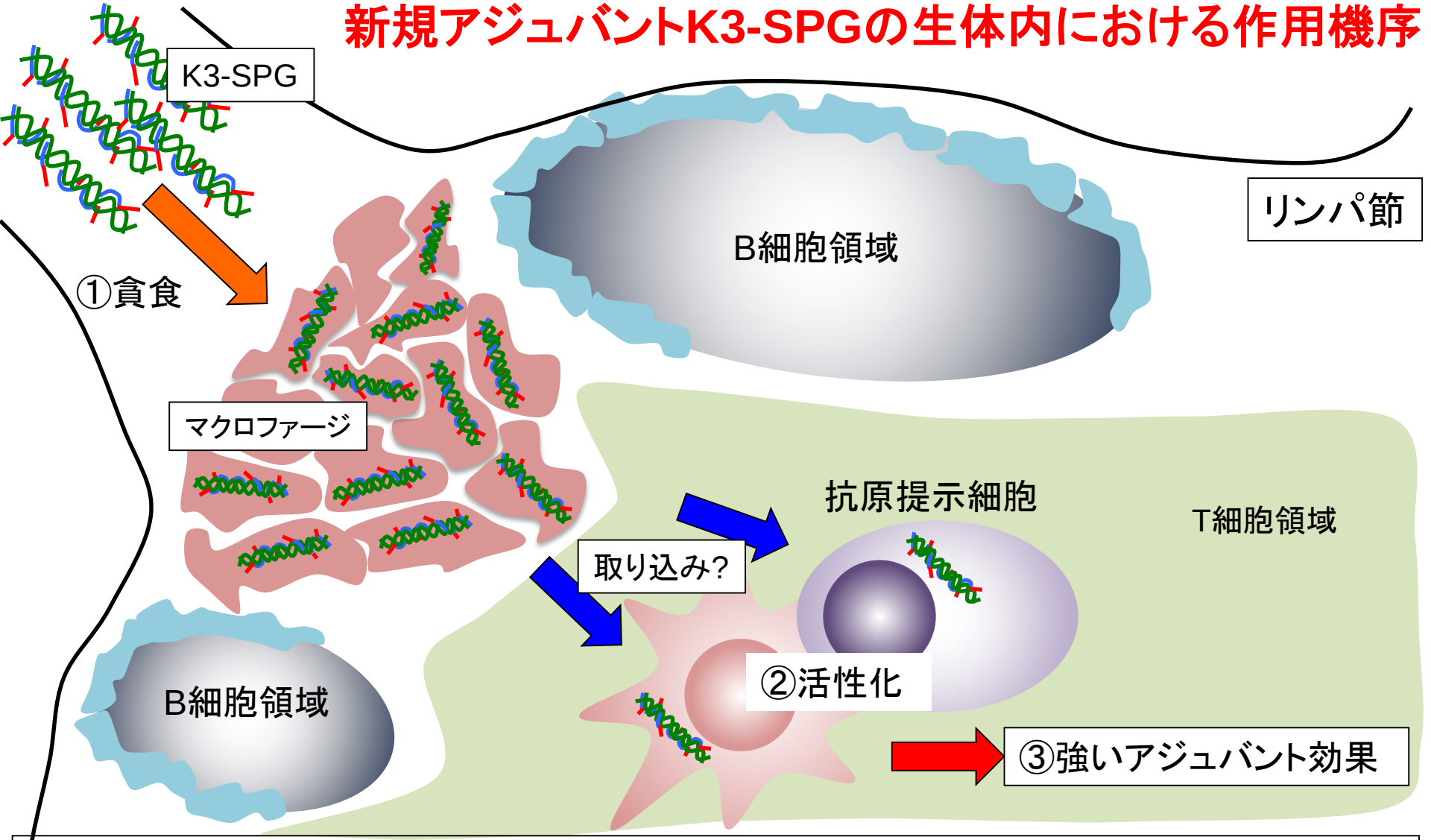
24h

Collection of LN
and analyze by
2P microscope

Kobiyama K et al ***PNAS*** 2014



# 新規アジュバントK3-SPGの生体内における作用機序

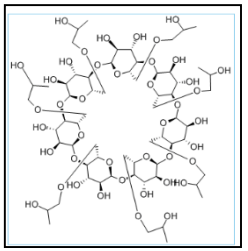


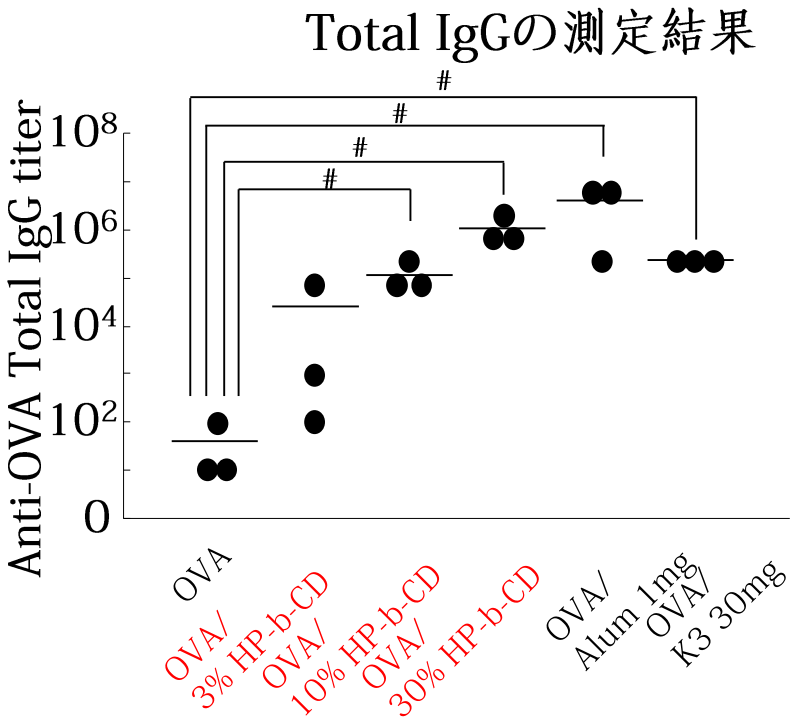

投与された新規アジュバントK3-SPGは①リンパの流れに乗ってリンパ節の表面に存在するマクロファージによって取り込まれる。②その後抗原提示細胞に取り込まれ、強く活性化する。③抗原提示細胞の活性化により強い獲得免疫応答 (アジュバント効果)を誘導する。

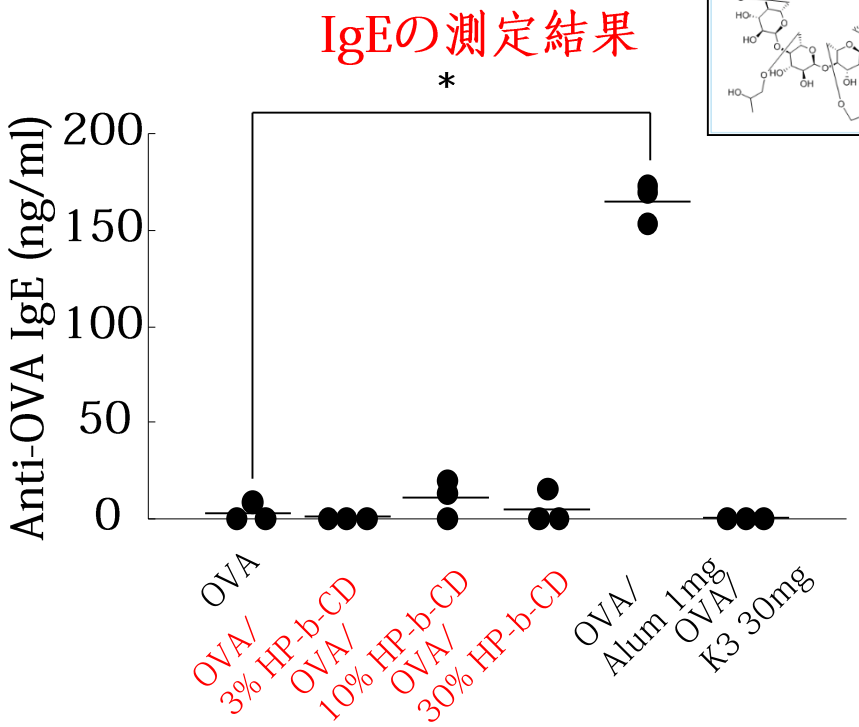
Kobiyama K et al ***PNAS*** 2014

# 成果：安全性の高い添加剤がアジュバントになることを発見ーシクロデキストリン（Hydroxypropyl−b−CD）

研究代表　石井健ら





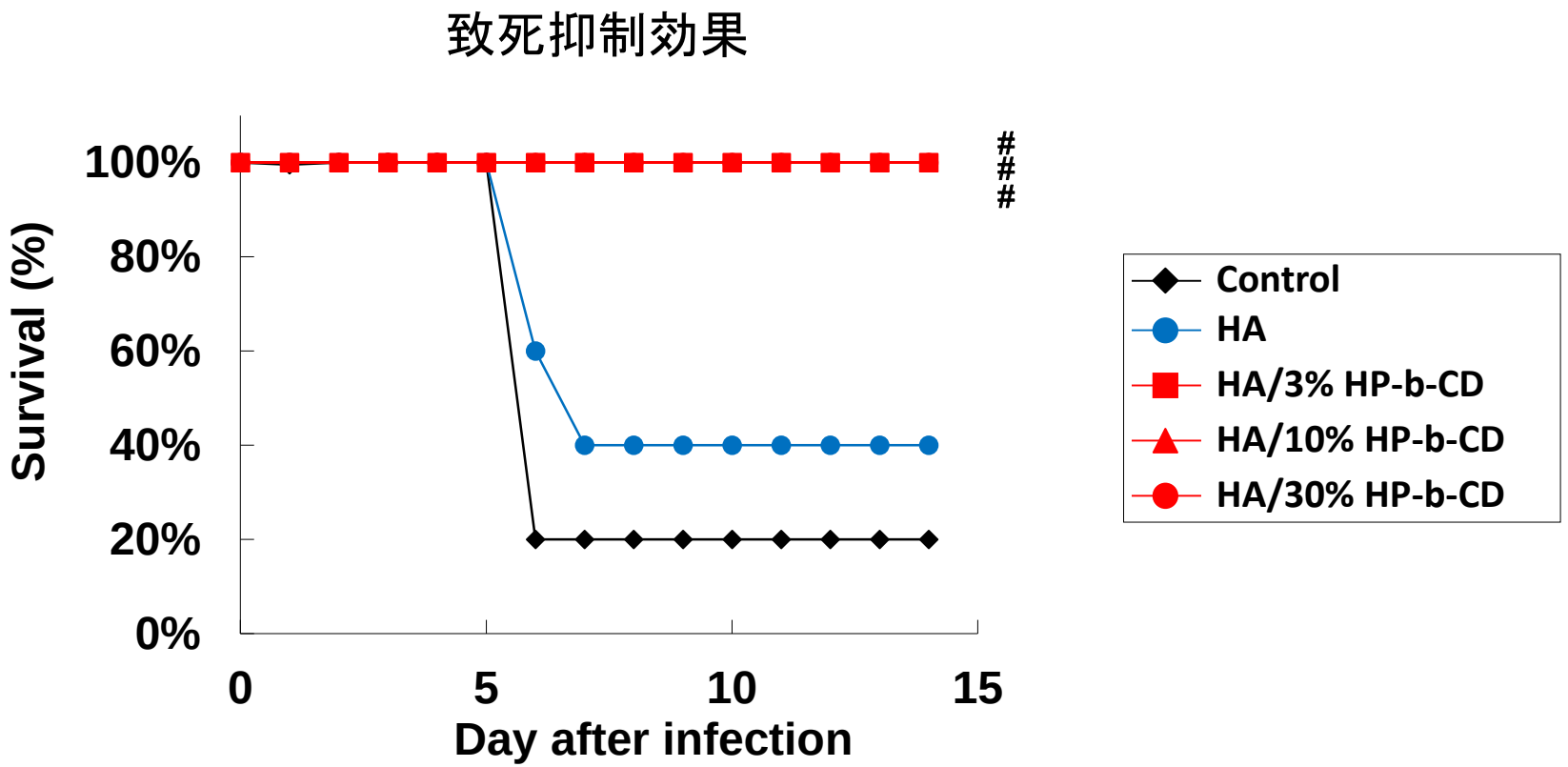




**HP−b−CDはアラムアジュバント（Alum）と同等のIgG能を持つが、アラムの副作用でもあるIgEの産生誘導が低い**

論文投稿中

# 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−b−CD）のアジュバント効果

Virus: 4x10$^4$ TCID$_{50}$ A/Osaka/129/2009 (H1N1)




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

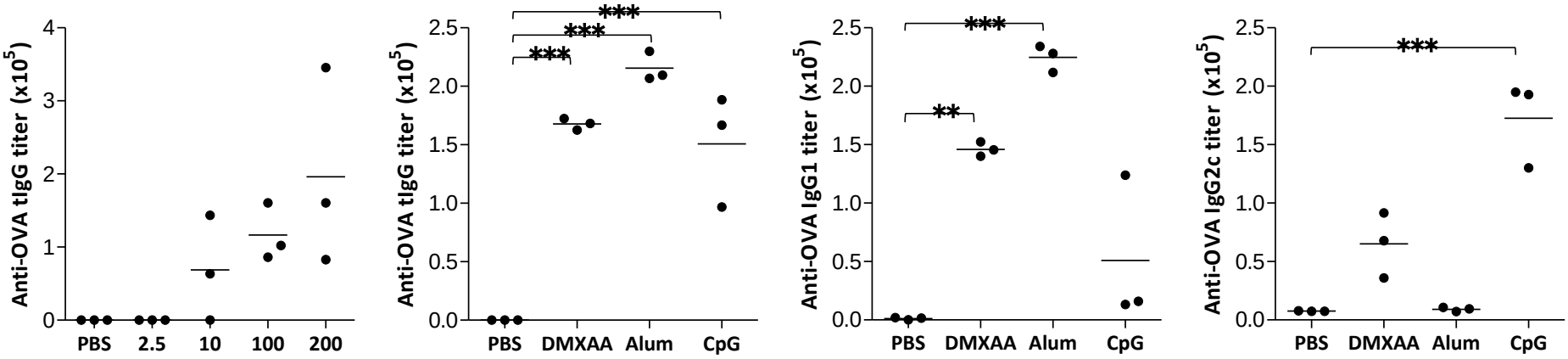
**HP-b-CDはHA split ワクチンの致死抑制効果を高めた。**

論文投稿中

# 成果：低分子抗がん薬のワクチンアジュバント効果を証明（DMXAA）

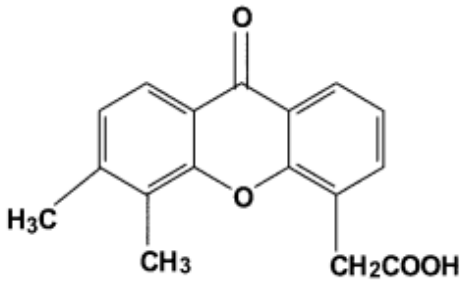
## 研究代表　石井健　および分担　水口賢司の共同研究成果

- 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**

- アジュバント活性の作用機序の解明
- 感染モデルへの応用

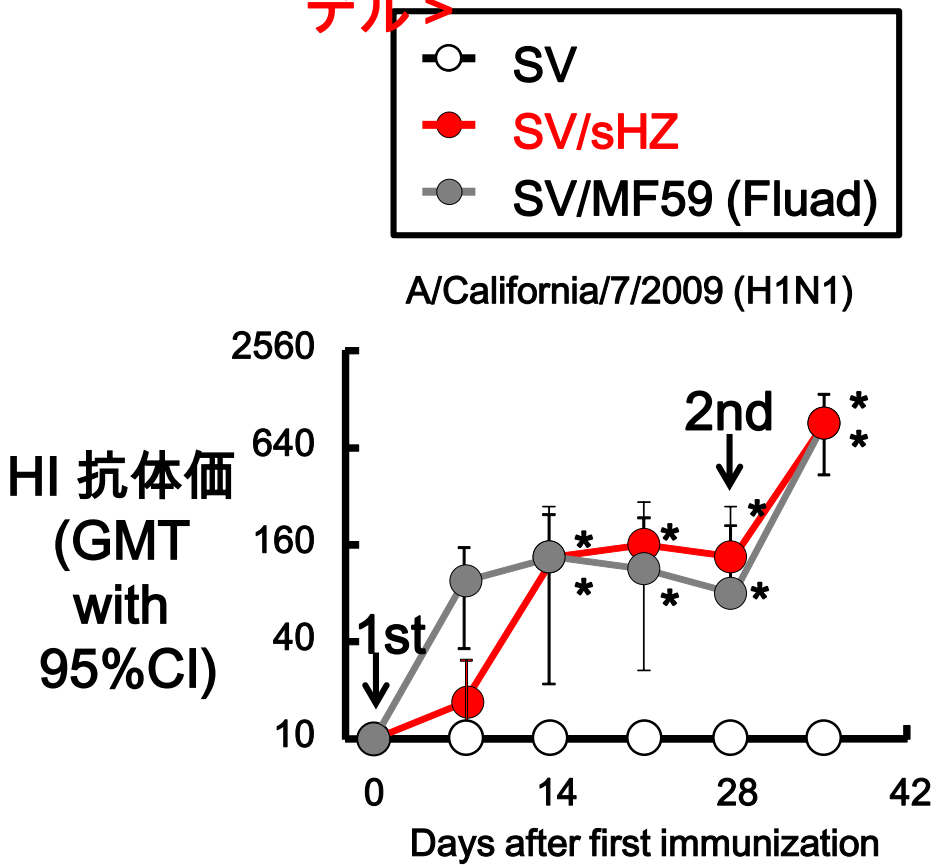


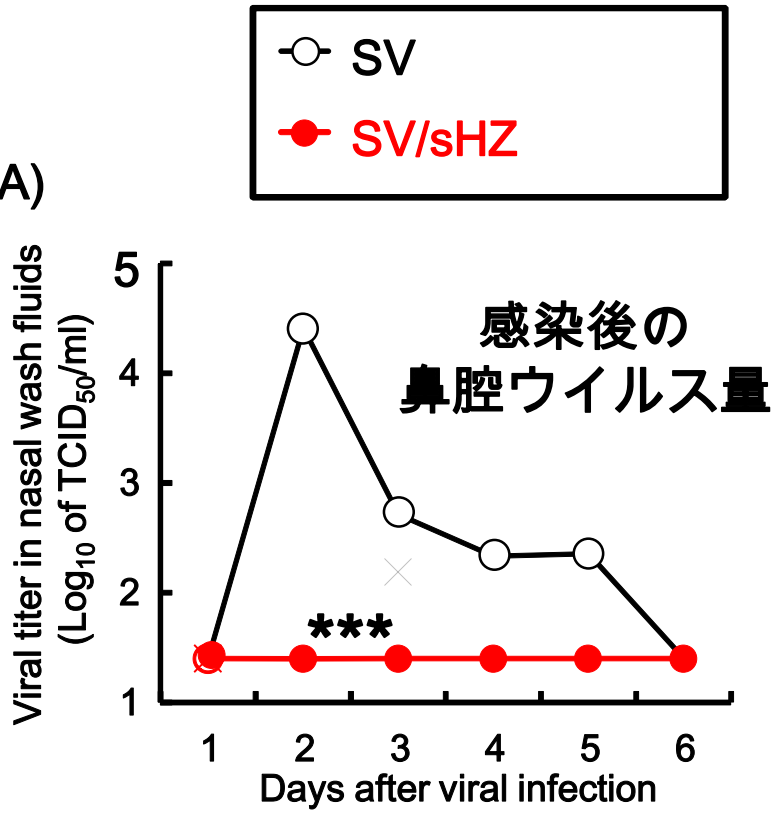

Tang CK et al　Plos One 2013

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

## ( 分担研究者：大阪大学　　Dr. Cevayir Coban )

＜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＞



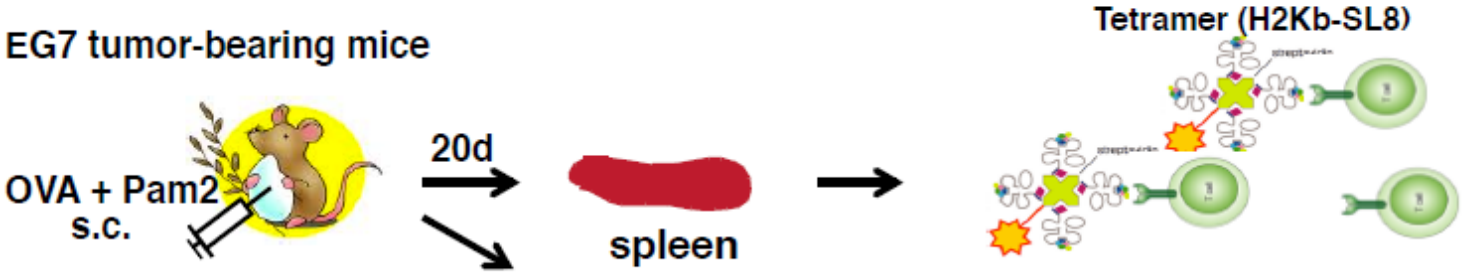

論文投稿中

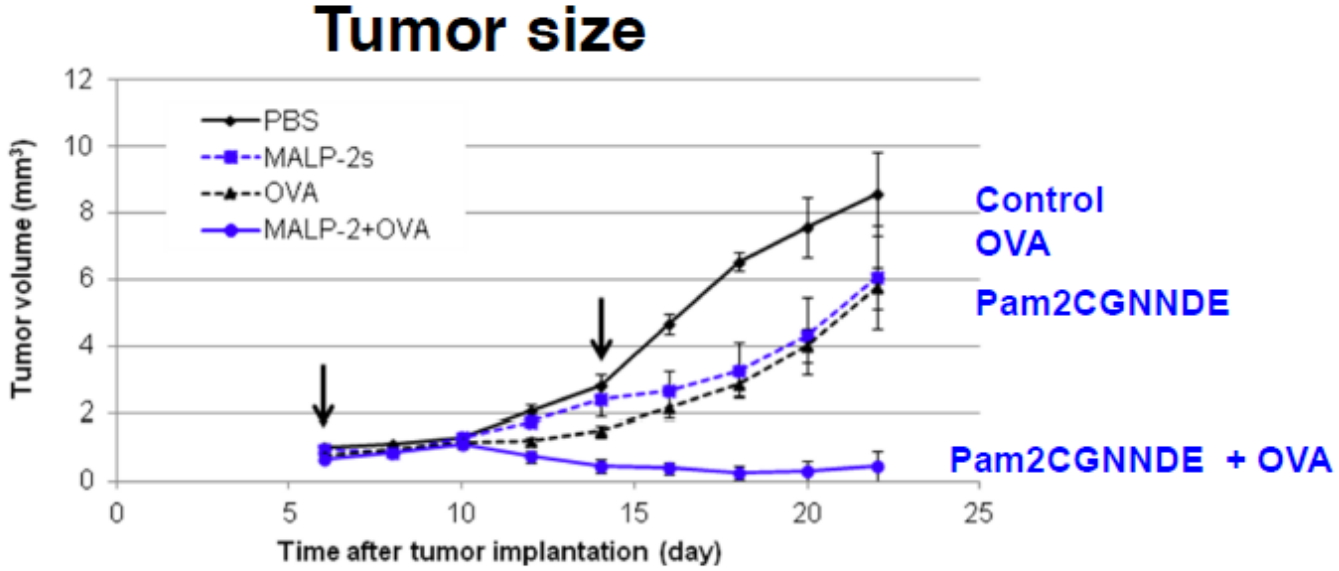
# 成果：TLR2アゴニスト（Pam2s）はマウス移植がんモデルで強いアジュバント効果によるがん退縮を誘導した。

分担研究者：北海道大学　瀬谷司

## EG7 tumor regression by Pam2 +OVA

MALP-2s: Pam2CGNNDE
Mycoplasmal Pam2 NK direct 活性化がなくprotumor 活性が無い




Pam2 は Treg の影響は殆ど受けないでCTLを誘導する

# 成果：Th2アジュバントの機能解析と開発

## （分担研究者　兵庫医科大学　　中西憲司，安田好文）

この3年間、線虫、花粉といった、Th2応答を誘導する生物体をマウスに作用させてTh2応答の誘導機序を研究した。その結果、これらの生物体がTh2アジュバント活性を発揮する機序として、IL-33の発現を誘導することが本体である明らかとなった。

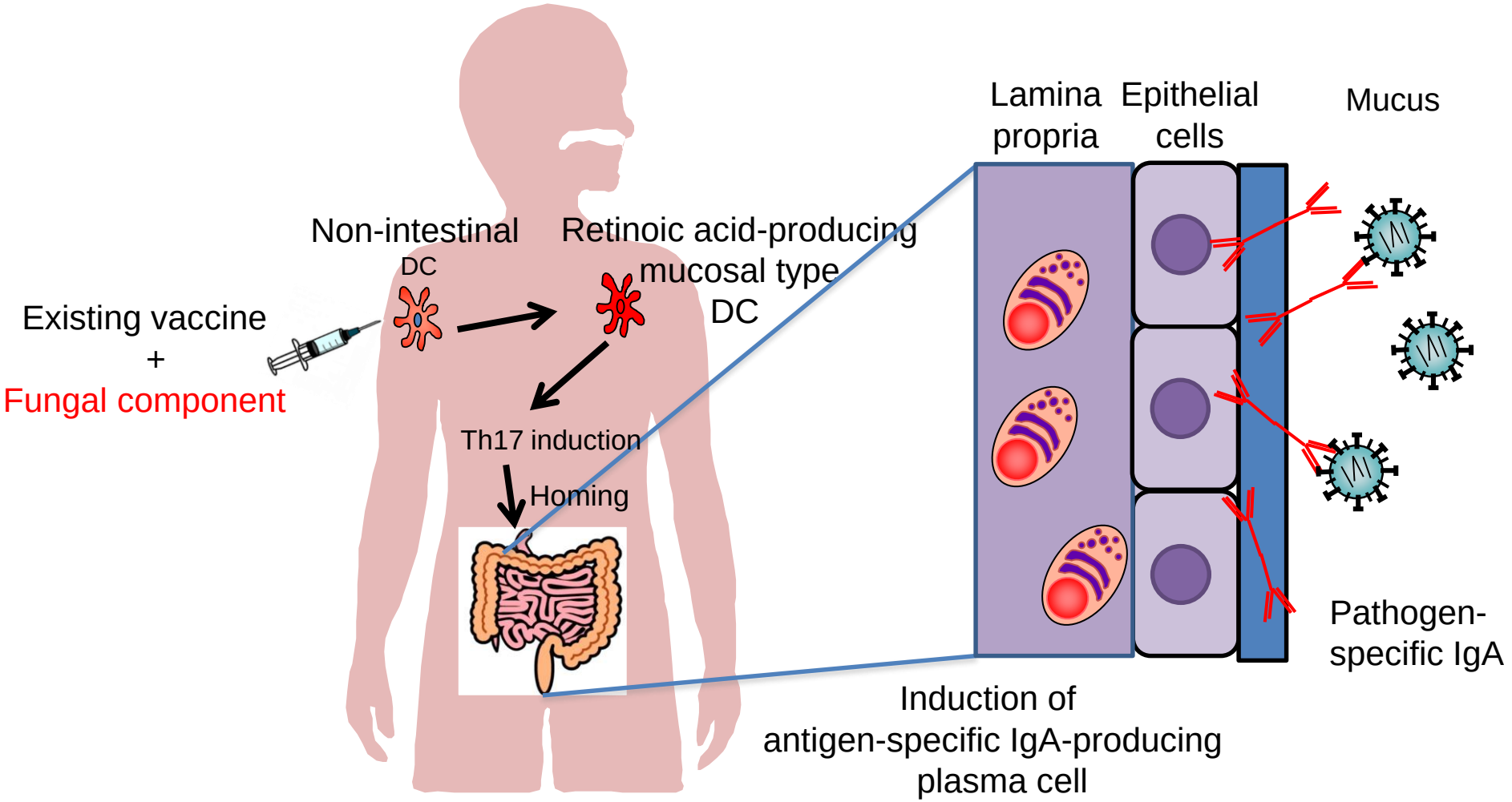
発表論文

1.A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. Haenuki, Y. et al.J Allergy Clin Immunol 130: 184-94. 2012.
2.Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode-infected mice. Yasuda, K. et al. Proc Natl Acad Sci USA;109: 3451-3456. 2012
3.Skin-specific expression of IL-33 activates group 2 innate lymphoid cells and elicits atopic dermatitis-like inflammation in mice. Imai **Y, et al.** Proc Natl Acad Sci USA;110: 13921-13926. 2013

線虫感染では虫体成分であるchitinの作用で2型肺胞上皮細胞(ATII; alveolar epithelial type II)の数とIL-33発現が増加する。それに伴い、IL-33の作用で肺組織内で2型自然リンパ球(ILC2)の数が増加するとともに、IL-33の刺激を受けたILC2がIL-5とIL-13を産生することで、好酸球性肺炎を発症させる。さらに、遺伝子改変マウスを用いてIL-33を皮膚に特異的に発現させることにより、ILC2の活性化を誘導し、アトピー性皮膚炎の特徴を再現することに世界で初めて成功した。
これらの研究は、Th2アジュバントがIL-33とILC2を誘導することで好酸球主体のアレルギー炎症の病態形成に極めて重要であることを示すものである。また、これらを標的とする新しい治療法の開発に大きな貢献が期待される。実際に、抑制法としてステロイド投与で、これらの発症が阻止されることを明らかにした。

# 成果：通常の皮下投与ワクチンによる粘膜免疫誘導に成功

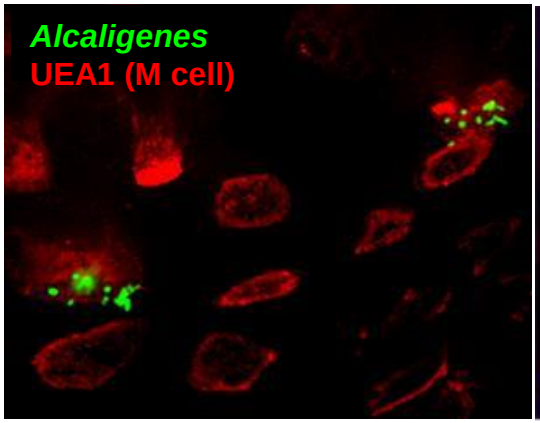
分担研究者　東京大学医科学研究所　植松　智

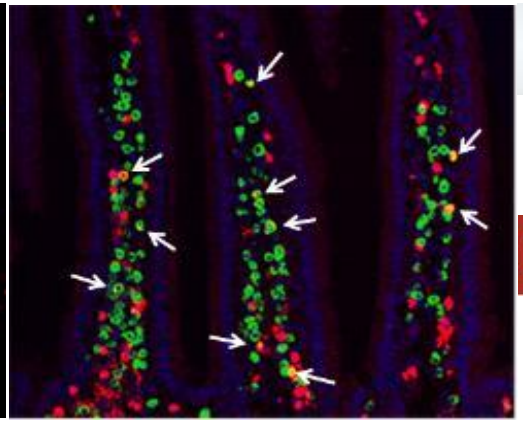


# 成果：アジュバント開発に重要な粘膜免疫機構の解明

## 分担研究者　国澤純　（基盤研）

### パイエル板標的型ワクチンデリバリー・アジュバントの開発と粘膜ワクチン標的組織としてのパイエル板の機能解析



nature COMMUNICATIONS

Science

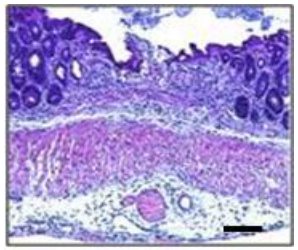
THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY

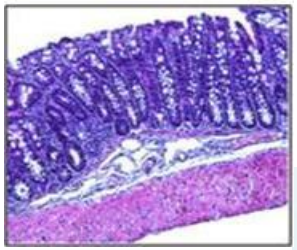
frontiers IN IMMUNOLOGY

Mucosal Immunology

Advanced DRUG DELIVERY Reviews

### ビタミンや脂質、核酸による免疫制御とワクチン開発への展開





Immunity

nature COMMUNICATIONS

THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY

frontiers IN IMMUNOLOGY

DRUG DISCOVERY TODAY

PLOS

代表的論文

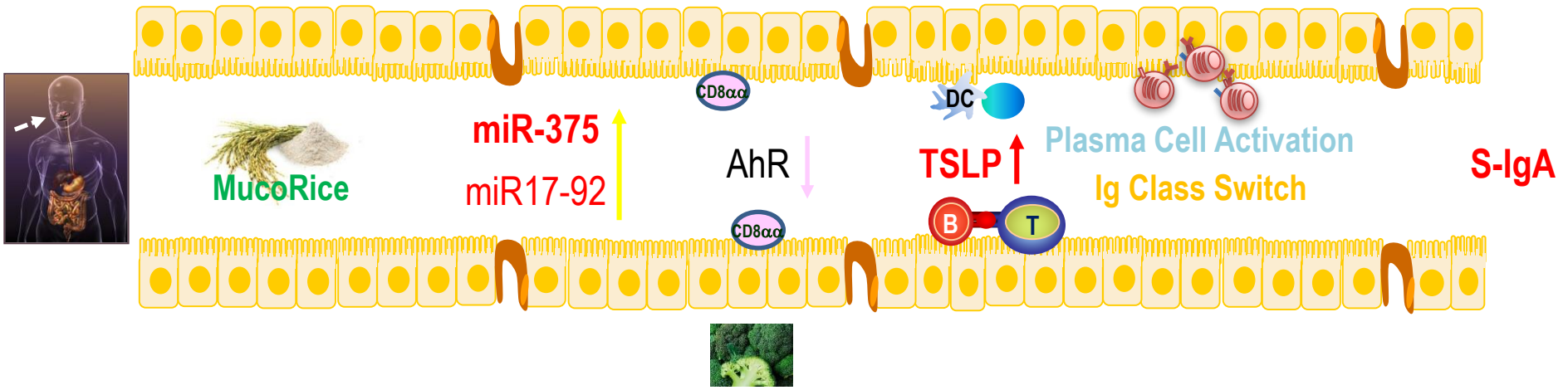
**Kurashima et al, Immunity (accepted)**
**Kunisawa et al, Nat Commun (2013)**
**Obata and Shibata et al, J Immunol (2013)**
**Kishino et al, PNAS (2013)**
**Sato et al, Mucosal Immunol (2013)**
**Kunisawa et al, Front Immunol (2013&2012)**
**Kurashima et al, Nat Commun (2012)**
**Sonnenberg et al, Science (2012)**
**Kunisawa et al, Adv Drug Del Rev (2012)**
など

# 成果：miRNA等によるムコライス粘膜ワクチンの評価法開発

分担研究者　東京大学　清野宏

Antigen-specific regional T memory was found in lymphoid and non-lymphoid organs after mucosal immunizations.

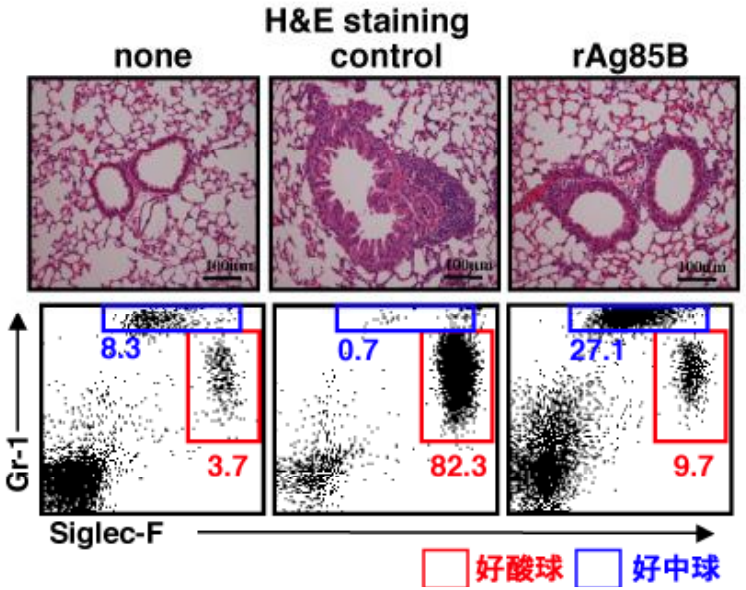
Certain miRNAs (e.g., miR-375 or miR17-92 cluster) would involve in plasma-cell relocation and/or secretory IgA production at effector sites in the gut through mediating activation of relevant key molecules, upon repeated oral vaccinations.

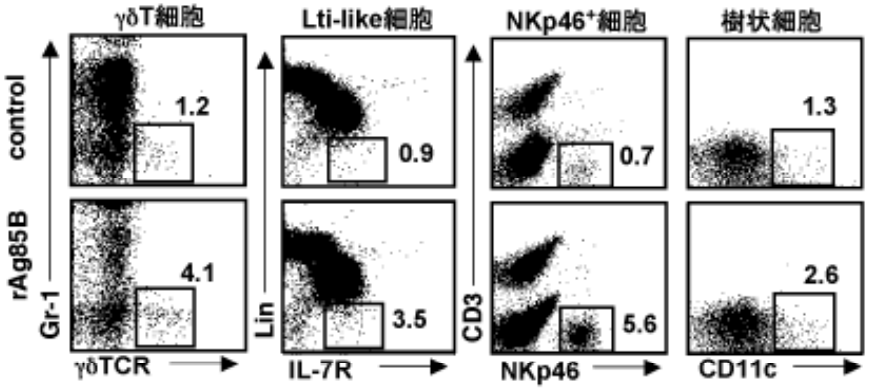


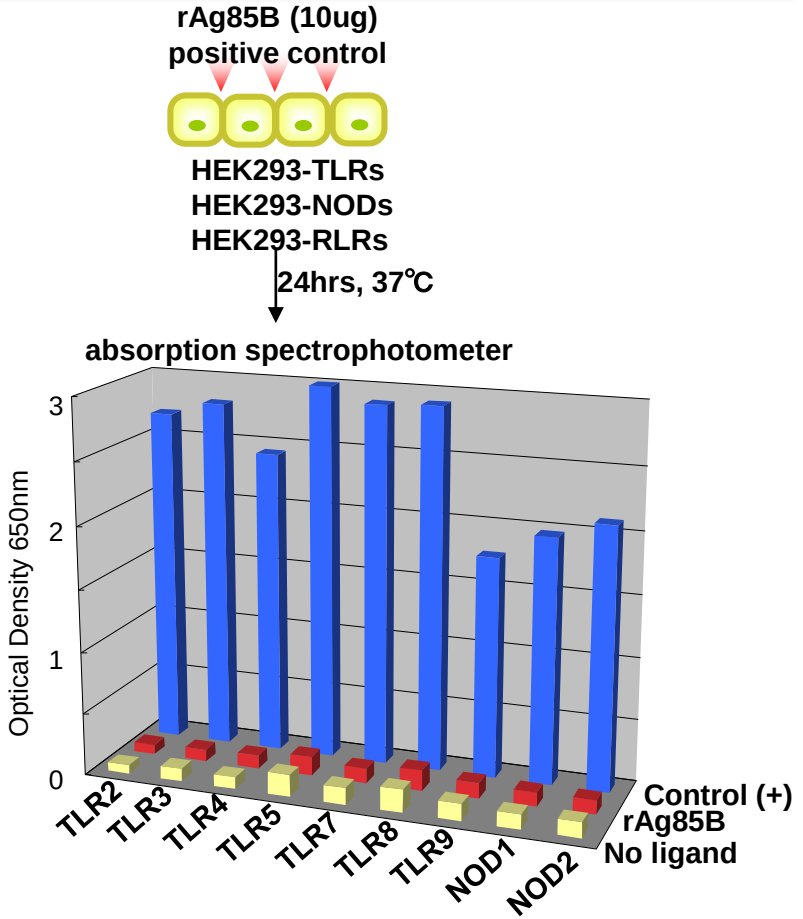
# 成果：抗酸菌分泌抗原Ag85Bのアジュバントメカニズム解析

分担研究者： 医薬基盤研究所　保富　康宏

- 抗酸菌が分泌する主要な蛋白（325aa）
- 結核菌に対しワクチン効果(Vaacine in presss)
  非常に強力なTh1タイプのサイトカイン産生によりアレルギー・アトピー性疾患の治療効果（Mori,H. et al., *Arch Dermatol.*2009, Karamatsu, K. et al, *J.Asthama Allergy*, 2012, Kitagawa,H. et al., *Plos One* 2013 ）、癌治療（Kuromatsu, I. et al., *Cancer Gene Ther.* 2001）、ワクチンのアジュバント効果（Takamura,S. et al., *J.Immunol.* 2005 ）




Tsujimura,Y et al in submitti

# 評価委員のコメントへの対応

評価委員会コメントへの対応状況

1)「研究者間の連携が必要」

全体での頻回のミーティングが必要とのコメントは、継続申請書の進捗状況に定期的に行っている班会議の記述がなかったためと考えております。実際は毎週2回、基盤研、阪大の班員で班会議を行っており、毎月1回全体の班会議と外部向けのセミナー、毎年1回は次世代アジュバント研究会を開催。

2)「分担研究者の役割の見える化」

分担研究者との連携、具体的貢献が見えるよう、毎週2回の基盤研、阪大のメンバーによるコア班会議、毎月1回、全員にて班会議、基盤研セミナーの開催、毎年1回の公開での次世代アジュバント研究会、平成25年度に日本ワクチン学会、国際ワクチン学会、免疫学会などにおいて分担研究者主催のシンポジウム、セッションを開催した。

3)「ICH、サルの実験に対するコメント」

ICHでのガイドライン作成の指摘は「WHO, ICH主導で行っているガイドライン作成」と記載されいてる部分を誤解されており(WHOガイドライン著者にICH委員がいるという意味)、サルでの検証は有用ではないといった指摘に対してはヨーロッパ以外ではいまだにサルでの検証がルーチンで開発、審査で行われておりますので必要であるという意見が一般的と考えている。