

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業
産学連携医療イノベーション創出プログラム 基本スキーム (ACT-M)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 効果的な生体成分経口アジュバント創薬研究
(英語) Study on the development of effective oral adjuvant derived from human constituent

研究開発実施期間: 平成30年9月11日～令和3年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 木戸 博
(英語) Hiroshi Kido

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立大学法人徳島大学 先端酵素学研究所 特任教授
(英語) Tokushima University, Institute of Advanced Medical Sciences, Specially appointed professor

II 研究開発の概要

本研究の目的

本プロジェクトが提案する「効果的な生体成分経口アジュバント創薬研究」は、従来コレラ毒素のように経口アジュバントとして効果はあるものの安全上の問題が指摘されていたアジュバント以外で有力な候補のなかった経口粘膜アジュバント領域において、研究代表者等が生体成分・肺サーファクタントの生理活性に基づく調査研究から、安全で有効な経口粘膜アジュバント活性を見出したことから、季節性インフルエンザ経口粘膜ワクチンの実用化を目指した。開発プロジェクトは、徳島大学先端酵素学研究所の木戸博を研究代表者とし、徳島大学が発明した以下に述べる人工合成粘膜アジュバント SF-10 の独占的通常実施権を保有する徳島大学発ベンチャーの応用酵素医学研究所株式会社の鈴木宏一社長と、感染症臨床研究で実績のある国立病院機構三重病院の藤澤隆夫病院長を研究分担者とする組織で実施した。粘膜アジュバント添加型インフルエンザワクチンは、通常、血液中の抗ウイルス特異的 IgG 抗体と、気道・消化管粘膜が分泌する抗ウイルス特異的 IgA 抗体、さらに特異的細胞性免疫を誘導するため、理想的な感染防御ワクチンとされているが未だ実用化例は無い。実用化に至っていない理由の一つに、実用化が可能な安全で有効な経口粘膜アジュバントが見いだされていないことが挙げられる。

本研究の成果と意義

本プロジェクトでは、研究代表者等がこれまでに開発してきた人工合成肺サーファクタント粘膜アジュバント・SF-10 の研究成果を基盤に、2019 年度前期までにヒト肺サーファクタントを構成する成分の中で、粘膜アジュバント活性に不可欠な成分とされた構成成分の中から、経口接種粘膜アジュバントの最適剤型化を実施し、2020 年度内にマウスを用いた非臨床安全性毒性試験を完了させて、安全性に問題の無いことを確認した上で治験薬製造の骨格を固めた。これまで経鼻・経気道接種インフルエンザ粘膜ワクチン、経口接種インフルエンザ粘膜ワクチンの実用化例が無いために、粘膜ワクチンの際立った特徴となっている感染防御能の高い気道粘膜分泌液中の抗ウイルス IgA 抗体の持つ、感染防御抗体としての有効性を示す基準値が国際的に明らかになっていなかったことから、この基準値を明らかにするためのコホート研究を実施した。季節性インフルエンザに罹患した患者は、同じ年度と翌年に同亜型インフルエンザに罹患する確率が低いことから、罹患した各年齢層の患者の感染前後の血液抗インフルエンザ IgG 抗体価と鼻汁中の抗インフルエンザ IgA 抗体価を調査して、感染防御効果の発現に必要な鼻汁中の抗インフルエンザ IgA 抗体価と血液 IgG 抗体価を明らかにすることで、今後の粘膜ワクチン開発の参考データを得ることができた。実施した研究内容とその成果と意義について開発項目別に以下に記載する。

(研究開発項目 1) SF-10 アジュバント添加経口インフルエンザヘマグルチニン(HA_v) 製剤の最適化と剤型の決定、マイクロカプセル封入剤型の検討、非臨床安全性毒性試験の実施、GMP 準拠下治験薬製造の実施、腸間膜リンパ組織への SF-10 アジュバントの作用機序解析、これらを基盤にした知財と出口戦略立案、SF-10 アジュバント製造レベルのスケールアップとその品質管理法の確立: これらの検討は、全て BALB/cCrSlc マウス (6-8 週齢) を用い、3 週間隔の 2 回ワクチン接種の条件で実施され、血清抗インフルエンザ IgG 抗体価と気管支肺胞洗浄液(BALF) 抗インフルエンザ IgA 抗体価が測定された。

HA_v : SF-10 アジュバントの混合比検討では、種々の混合比が検討され最終的に HA_v : SF-10 = 1:10 が最適と判定した。この最適混合比において、HA_v 接種抗原量は、HA_v (0.001~1 μg)/匹の条件で検討され、血液抗 HA_v IgG 抗体誘導、BALF 抗 HA_v IgA 抗体誘導が共に 0.01~1 μg/匹でプラトー値を示し、0.01 μg の微量 HA_v 抗原で最大効果が達成され、SF-10 無添加の HA_v 抗原単独に比して約 10,000 倍の高い抗体誘導効果を示した。この値は、これまでに報告のあったインフルエンザ抗体誘導効果の中で最も高い誘導効果であった。HA_v 抗原の胃酸変性、ペプシン消化の影響を考慮して、炭酸緩衝液 pH 10.0 で調製した HA_v-SF-10 ワクチン効果を検討したが、炭酸緩衝液の有無に係わらず抗体誘導効果は一定の効果を示し、胃酸対策としてのカプセル製剤化の検討は不用と判定した。HA_v-SF-10 ワクチンの接種回数を 1~4 回の条件で検討したが、接種回数は 2 回で十分と判定された。上記の最適接種条件での感染防御能評価では、実験動物用の強毒型インフルエンザウイルス株 PR8(H1N1)の大過剰投与量 (LD₅₀ 値の 50 倍量~1000 倍量) 経鼻投与条件で、コレラ毒素アジュバントを陽性コントロールとして実施された。その結果、コレラ毒素アジュバント添加 HA_v 経口ワクチンに比べて、HA_v-SF10 アジュバント添加経口ワクチンは、血清の HA_v-IgG 抗体誘導効果で 5.5 倍、BALF 抗 HA_v-IgA 抗体誘導効果で 63 倍の強い誘導効果を示し、現時点で文献的には最も強力な粘膜アジュバントと評価された。感染防御能を生存率で評価した実験結果では、陽性コントロールのコレラ毒素アジュバント添加 HA_v 経口ワクチンが生存率 20%しか示さない濃厚感染 (LD₅₀ 値の 50 倍量) 条件でも、HA_v-SF10 アジュバント添加経口ワクチンは 100%の生存率を示し、極めて高い防御能と判定した。HA_v-SF10 アジュバント添加インフルエンザワクチンの雌雄 BALB/cCrSlc マウスへの反復経口投与非臨床安全性毒性試験では、「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」(薬食審査発 0527 第 1 号) に従った各項目で検証され、いずれの検査項目においても、毒性学的に意義のある所見は検出されず、HA_v-SF10 ワクチンの安全性は確認された。GMP 準拠下治験薬製造の検討では、製造各工程での品質管理方法が検討され、最適管理方法が判明した。SF-10 アジュバントの作用機序解析では、BALF 中の IgA 抗体誘導効果が特に優れている原因として、SF-10

は脾臓細胞での Th1、Th2、Th17 免疫応答において、Th2 に比して Th1、Th17 サイトカインを著しく誘導したことから、小腸リンパ節樹状細胞 CD11b⁺CD103⁻細胞からの、IFN- λ と IL-17 サイトカイン産生エフェクター T 細胞を介した IgA 産生誘導の促進効果と、CD11b⁺CD103⁺細胞からの CD25⁺Foxp3⁺ 制御性 T 細胞を介した IgA 産生誘導の促進効果が共に作用して、特徴的な抗原特異的粘膜 IgA の分泌促進効果が生じていると推定された。

(研究開発項目 2) 感染防御を目標とした SF-10 アジュバント添加経口インフルエンザワクチンの抗体誘導の目標値設定のためのヒトでの調査研究：インフルエンザ H3N2 亜型の流行年度に、H3N2 亜型自然感染患者 (194 名、PCR にて亜型を特定) を対象に、感染前 (Pre)、あるいは感染により抗体価が上昇を始める感染後 48 時間以内に採取した鼻腔洗浄液と血液中の抗体価の測定と、感染誘導により抗体価の上がりきった感染後 (Post) 1 月目のそれぞれの抗体価を用いて、ワクチン有効性の評価に繋がる抗体価の調査を実施した。感染による鼻腔洗浄液中の抗 H3N2 亜型 IgA 抗体誘導は著しく、年齢による増加率に違いがあるものの約 4 ~14 倍の有意な増加が見られた。一方血清中の抗 H3N2 亜型 IgG 抗体価では、抗体増加前の初診時 (Pre) に比べて、感染約 1 月後 (Post) の抗体価は、鼻汁の抗 H3N2 IgA 抗体の増加率には及ばないものの、約 2.2 ~ 6.8 倍の有意な増加が認められた。なお感染者の約半数は当該年度に現行の皮下注射インフルエンザワクチン接種を受けていたが、ワクチン接種者と非接種者間に血液 IgG 抗体と鼻腔洗浄液 IgA 抗体の感染抗体誘導率に違いは認められなかった。感染前 (Pre) と感染後 (Post) の 2 変数を用いた ROC 解析では、鼻腔洗浄液 H3N2 亜型 IgA は AUC=0.92 を、血液 H3N2 亜型 IgG は AUC=0.87 と共に高い診断精度を示し、感染防御能を示唆する明確なカットオフ値を得ることができた。この方法により、鼻腔洗浄液 IgA 抗体が示す感染防御抗体価の基準値が初めて明らかになったが、この調査法が示す血液 H3N2 亜型 IgG 抗体においては、感染防御抗体指標の HI 値が示すカットオフ値は、有効なインフルエンザワクチンの国際的基準値とされている現行の皮下注射インフルエンザワクチン HI 値の目標値と一致していたことから、本調査法の信頼性が確認された。さらにこのカットオフ値の実装性を評価するため、三重県津市の保育園、幼稚園に協力を求め、0~6 歳児 (151 名) を対象にインフルエンザ H3N2 亜型流行期前の夏季に前もって園児から鼻汁を採取しておき、インフルエンザ流行期に罹患者と非罹患者の 2 群間で抗 H3N2 亜型 IgA 抗体価を調査した結果、ROC 解析が示す抗 H3N2 亜型 IgA 抗体価のカットオフ値を超えた児には感染者は見られず、感染者は全員がカットオフ値以下であったことから、同定したカットオフ値の実装性が確認された。今後インフルエンザの各亜型に関する大規模の調査を実施することで、粘膜ワクチンの感染防御抗体誘導の目標値を設定できると推察された。以上、本プロジェクトでは当初目標とした各項目の目標をほぼ 100%達成することができた。

In the field of oral mucosal adjuvants, where there have been no promising candidates other than cholera toxin, which is effective as an oral adjuvant but has been pointed out to have serious safety problems, the principal investigators of this project have found safe and effective oral mucosal adjuvant compound in the studies on the bioactivity of pulmonary surfactant as a natural human constituent. The development of this project was led by Dr. Hiroshi Kido of the Institute for Advanced Enzyme Research at the University of Tokushima as the principal investigator, Koichi Suzuki, president of the Applied Medical Enzyme Research Institute Co., Ltd., a venture company originating from the University of Tokushima, which holds the non-exclusive license for SF-10, a synthetic mucosal pulmonary surfactant adjuvant invented by the University of Tokushima and Dr. Takao Fujisawa, director of the National Hospital Organization Mie Hospital, who has a proven track record in clinical research on infectious diseases. The adjuvanted mucosal influenza vaccine is considered to be an ideal vaccine to protect against infection because it induces antiviral-specific IgG antibodies in the blood, antiviral-specific IgA

antibodies secreted by the respiratory and gastrointestinal mucosa, and specific cellular immunity.

In this project, based on the research results of the synthetic pulmonary surfactant mucosal adjuvant SF-10, which has been developed by the principal investigator and others, we will develop an oral mucosal adjuvant from the components of the human pulmonary surfactant that are essential for mucosal adjuvanticity and optimize the formulation of the orally inoculated mucosal adjuvant by the first half of FY2019. By the end of FY2020, we completed a non-clinical safety toxicity study using mice to confirm that there are no safety issues and establish the framework for the production of investigational new drugs. Since there have been no practical examples of intranasal/trans-airway inoculation influenza mucosal vaccines or oral inoculation influenza mucosal vaccines, it has been difficult to determine the reference value for the efficacy of antiviral IgA antibody levels in airway mucosal secretions as anti-infection protective immunities, which is a distinctive feature of mucosal vaccines. Therefore, we conducted a cohort study to clarify the reference value. Since patients with seasonal influenza have a low probability of contracting the same subtype of influenza in the same year and the following year, we investigated blood anti-influenza IgG antibody titers and nasal anti-influenza IgA antibody titers before and after infection in patients of various age groups, and determined the nasal anti-influenza IgA antibody titer and blood anti-influenza IgG antibody titer necessary for the development of infection protection. We were able to obtain reference data for the future development of mucosal vaccines by clarifying the influenza IgA and blood IgG antibody titers required for the development of infection protection.

To evaluate the implementability of the newly found anti-influenza IgA antibody titer described above, we further collected nasal secretions from 151 children aged 0-6 years during the summer before the influenza H3N2 subtype pandemic, and investigated the anti-H3N2 subtype IgA antibody titer between two groups of affected and non-affected children during the influenza pandemic. As a result, no infected children were found among those who exceeded the reference value for anti-H3N2 subtype IgA antibody titer, and all infected children were below the reference value. These results indicate that the newly found anti-influenza IgA antibody titer described above are useful for the development of infection protection. As described above, this project achieved almost 100% of its initial goals for each item.

III 事後評価総合所見

新しいタイプのワクチン開発で社会的ニーズが明確であり、経口製剤の最適化、経口剤として有効性確認、非臨床安全性試験、GMP 準拠治験薬製造、SF-10 の作用機序、ヒトでの抗体誘導値目標に関する調査など、多くの項目で当初予定した目標をほぼ達成していることが高く評価された。

一方で、経口ワクチンのサルに対する安全性、有効性試験を速やかに実施するための導出企業との連携状況、臨床試験に関する具体的プロトコールの案などが明確にはされておらず、支援終了後の見込みが確定していないことが懸念される。今後、ますます経口インフルエンザワクチンのニーズは高まることが予想され、実用化に向けた進展を大いに期待する。