

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 新規コンセプトによる炎症を誘導しないワクチン用免疫増強剤の開発
2. 研究開発代表者： 鏑田 武志（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 免疫疾患分野）
3. 研究開発の成果

スプリットワクチンなど安全なワクチン開発には免疫原性を増強する免疫増強剤（アジュバント）が必要であるが、既存のアジュバントはいずれも自然免疫系を標的とするために、マクロファージなどの活性化により炎症を惹起する。そこで本研究ではBリンパ球を標的とする新規コンセプトにより炎症をおこさない画期的な免疫増強剤の開発を行った。Bリンパ球に発現する受容体Xのナチュラルリガンドを修飾した化合物を系統的に作成するとともに、ナチュラルリガンドと受容体の結合様式のモデルを作成し、より高活性な化合物の分子設計を行った。

合成した化合物は、受容体Xの組み換えタンパク質への結合親和性と、*in vitro*でのB細胞増殖促進活性を測定して絞り込みを行ったのちに、モデル抗原とともにマウスに投与し、特異抗体産生増強作用を測定した。その結果、研究期間中に新たに合成した約30の化合物の中から、マウス個体に投与して有意に特異抗体産生を増強する化合物を2つ単離した。これらのうち化合物Yは皮下投与をふくめ種々の経路での免疫で抗体産生を安定的に増強することから、最終化合物とした。

これらの化合物は、Bリンパ球に発現する受容体Xを欠損するマウスでは抗体産生を増強しなかったため、オフターゲット作用はないものと考えられた。また、*in vitro*の解析では、Bリンパ球は活性化されるものの、マクロファージや樹状細胞などの自然免疫細胞は活性化しなかった。また、硫酸アルミニウムやCpGオリゴなど既存のアジュバントをマウス個体に投与すると、自然免疫細胞を活性化して炎症性サイトカインの産生がおこるが、我々が合成・単離した化合物をマウス個体に投与しても炎症性サイトカインの産生は検出できなかった。これらの結果から、化合物がBリンパ球に発現する受容体Xにのみ作用し、炎症をおこさずに、個体レベルで抗体産生を増強することが明らかとなった。

化合物をモデル抗原とともに、マウスに投与したのちに、抗原のみを投与して二次免疫応答を誘導したところ、初回免疫時に抗原のみを投与したマウスに比べて二次応答も有意に増強していた。この結果から、化合物により記憶免疫誘導も増強することが明らかとなった。さらに、化合物をインフルエンザスプリットワクチンとともにマウスに投与したのちに、マウスをインフルエンザウイルスに感染させたところ、化合物とともにワクチンと接種した群ではワクチン単独投与群に比べて症状や病理所見が顕著に改善していることが明らかとなった。以上の結果から、この化合物がワクチンアジュバントとして有用であることが示された。

最終化合物Yについて、PMDAとの相談後に、ラットを用いたGLP基準対応の単回投与毒性試験を行った。「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」をもとに決定した量の化合物を投与し14日間観察を行ったが異常は認めず、毒性学的影響を認めなかった。

化合物の作用機序についての解析も行った。化合物はBリンパ球の抗原受容体架橋による活性化はむしろ抑制した。しかし、通常の免疫応答では抗原受容体を介するシグナル伝達とともに、Bリンパ球上のCD40分子などを介するTリンパ球からのヘルプの共存によってBリンパ球が活性化する。化合物はCD40を介するBリンパ球の活性化を増強し、さらに、抗原受容体シグナル伝達とCD40を介するシグナル伝達の双方を必要とする*in vitro*Bリンパ球活性化系を樹立して化合物を作用させたところ、化合物が抗原受容体とCD40を介する両方の刺激によるBリンパ球の活性化を増強することが明らかとなった。このような作用により、抗原投与の際の抗体産生を増強するものと考えられた。

以上のように、本研究においてBリンパ球を標的とすることで、炎症をおこさない安全で有効なワクチンアジュバントとして化合物Yを合成・単離することに成功した。