

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：迅速な製造が可能な新型インフルエンザワクチンの開発技術に関する研究
2. 研究開発代表者：信澤枝里
3. 研究開発の成果

本研究課題では、季節性及び新型インフルエンザワクチン株作製技術の改良によりパンデミック発生時に迅速にワクチン製造、供給を可能にし、かつ、製造されたワクチンがパンデミックウイルスはもちろん、その後出現する変異株に対しても有効性を示すようなワクチン接種法の開発を目指して各課題を遂行した。その結果、(1)高増殖株の開発では、H26年度に開発した細胞培養ワクチン株作製用母体ウイルス hg-PR8 株を用いてリアソータントワクチン株(H7N9)を作製し(hg-PR8/H7N9)、NIID-MDCK 細胞で増殖させた際の性状を調べた結果、高増殖能、高タンパク収量および抗原的、遺伝的安定性を示した。さらに hg-PR8/H7N9 と同じ配列の HA, NA 遺伝子を持つ鶏卵培養用ワクチン株を対象に、そのタンパク収量を比較すると hg-PR8/H7N9 株の方が約 2 倍高いタンパク収量を示し、hgPR8 の細胞培養ワクチン母体ウイルスとしての有用性が確認された。また、母体ウイルスとして H3N2 亜型ウイルスを用いた母体ウイルスの開発にも着手した。(2)高 HA 収量株回収系の開発では、H1N1pdm09 ワクチン株(CA 株)で HA C 末および NA N 末の配列を母体ウイルスである PR8 株のそれと置換したキメラ HA, NA は一過性タンパク発現系での発現量増加が確認された。また、HA, NA 遺伝子の非コード領域 (URL) の配列を PR8 株の配列と置換したウイルスや上記キメラ HA, NA の遺伝子 URL を PR8 株由来配列に置換した結果、SIAT 細胞でのウイルス回収率が改善し、URL 配列がウイルス増殖に及ぼす影響が示唆された。一方、CA 株の HA 遺伝子全長に対してコドン最適化を行ったが、HA 発現量への影響は見られなかった。(3) 新型ワクチン株収量改善法の開発では、H5N1 ワクチン株 20 株を用いて、鶏卵で増殖後のタンパク収量および HA 収量を測定した。各ワクチン株の遺伝子配列から推定されるアミノ酸配列と HA 収量の違いを比較した。その結果、クレード 2.2 に属するワクチン株のうち、HA および NA のアミノ酸配列の違いが少いにも拘らず HA 収量に 2 倍以上の差がある株を同定した。これらの株は母体ウイルスが異なるため、母体ウイルスを一致されたリアソータントウイルスを作製し、収量を再度比較した。その結果、両ウイルスのタンパク/HA 収量は、ほぼ同程度の値を示した。H5N1 ワクチン株のタンパク/HA 収量には、母体ウイルスの影響が大きい場合があることを明らかにした。(4) ワクチンによる効果的免疫誘導系の開発では、不活化 H3N2 ワクチンを複数の免疫増強剤とともにマウスに皮下接種した。一部のワクチンについては経鼻ルートから接種し、誘導される胚中心の持続性を比較した。その結果、今回使用したワクチン剤形と免疫増強剤では、経鼻と皮下ルートで IgG 陽性の胚中心 B 細胞の持続性に大きな変化は認められなかった。しかし、免疫増強剤毎に誘導される胚中心の持続性が異なり、より持続性に優れた胚中心を誘導する免疫増強剤を特定することができた。