

新規アジュバント国産化プロジェクト による感染症対策研究開発の推進



科学技術振興機構

研究者を繋ぎ、企業を繋いでCOVID-19に立ち向かう

「プランA（ワクチン・治療薬開発）」研究促進も支援するJST「プランB」のあり方

「プランB」は自由に人と会える・集える、経済活動ができる社会を実現する研究開発を推進する
開発中課題の成果でプランA(医療開発)を支援する柔軟な「プランB」という新たな展開に



JST NexTEP支援課題
開発成果の一部を研究供与

純国産アジュバント製造

平成24年度補正NexTEP現行課題/第二回採択課題 概要

『新規汎用型ワクチンアジュバント』

ステージ1

ステージ2

目標

「アジュバント」
製造法

開発成功

第I相臨床試験
用治験薬
開発用の
GMP製造を完了

令和3年3月現在

ステージ2開発中

臨床試験準備中

「アジュバント」とは、ワクチン開発における必須シース

アジュバント（抗原性補強剤）

ワクチンを用いた標的疾患の
予防や治療において免疫応答を
向上させるための製剤成分

ワクチン
感染防御抗原研究

アジュバントの開発

臨床試験、創薬へ

ワクチンと共に投与し
効果を高める
働きをする物質

！ 通常、開発委託目標外の開発実施は許諾しない

「新型コロナウイルス感染症対策特命チーム」
アジュバントは様々なワクチンに利用可能

研究者を繋ぎ、企業を繋いでCOVID-19に立ち向かう



NexTEP支援課題、アジュバント開発の成果 GMP生産可能な「アジュバント」

「新型コロナウイルス感染症対策特命チーム」

アジュバントは開発課題目標とは異種のワクチンにも利用可能である



通常、開発は目標外の成果実施を許諾できないが

✓ 機関保有の特許の実施権を再調整し範囲拡大

✓ 開発企業の要望に合わせて成果を開発期間中に提供可能に

医薬基盤・健康・栄養研究所
北九州市立大学

シーズ元が全面的に支援

JSTが開発実施企業に
開発目標外の用途で成果を
実施許諾が可能に

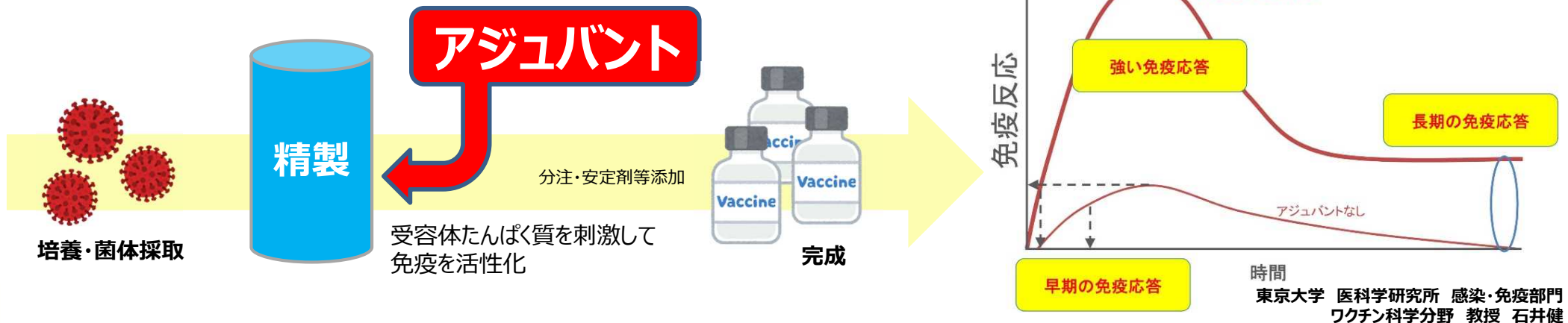
国産ワクチンの研究促進

アジュバントが押し上げる、ワクチンの効果

アジュバントの役割

ラテン語の**助ける**（adjuvare）という言葉が語源の『**アジュバント**』
ワクチンに添加して免疫反応を高め、免疫獲得を助ける物質

ワクチンの製造プロセス



精製した抗原にアジュバントを添加してワクチン化、少ない抗原で大きな効果
安全性の高いワクチンを、より多くの人へ接種可能に

アジュバントが安価であれば必要抗原量が減る = ワクチンの価格が下げられる
感染症流行、パンデミックへの対応において『鍵』となる物質

現在利用されている主たるアジュバント

世界で認可、使用されている代表的なアジュバント

多くのワクチンが開発されているが、アジュバントの種類は非常に少ない

	名称	主な成分	使用されているワクチン	自然免疫需要体・シグナル分子	誘導される獲得免疫
1	Alum	アルミニウム塩 (水酸化アルミニウム等)	B型肝炎ワクチン、破傷風、 DT、DTP	NLRP3(?) Liquid sorting and Syk(Ref.8)	抗体、 Th2
2	AS04	Alum + MPL(3-o-desacyl4'- monophosphory liquidA)	子宮頸がんワクチン (サーバリックス ; GSK)	MPL→TLR4 Alum → Inflammasome(?)	抗体、 Th2
3	MF59	Squalen (Oin in water emulsion)	H1N1インフルエンザワクチン (CELTURA;ノバルティス)	ASC(Ref,17)	抗体、 Th2
4	AS03	Squalen + DL-a-tocopherol (Oin in water emulsion)	H1N1インフルエンザワクチン (アレンパリックス;GSK)	不明	抗体、 Th2

第9回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会研究開発及び生産・流通部会
「ワクチンアジュバント」青枝大貴, 石井健日本臨床69(9): 1547 -1553 2011

安全性に優れた国産アジュバント開発を目指して

ワクチン（アジュバント含む）は薬品の中でも**高い安全性**を求められ、時間がかかる

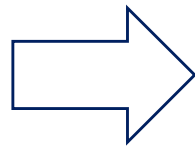
- ✓ 感染予防を目的にして健康かつ幅広い年齢層に投与されるものである
- ✓ 対象感染症の抗原により、評価の内容が変わる



免疫活性化プロセスの安全性を重視したアジュバントの開発も急務

主な既存アジュバント

- Alum ○AS03
- AS04 ○MF59



細胞死や細胞傷害活性を通し自然免疫の活性を促すため
僅かながら副作用の可能性

効果は実証済だが免疫活性化メカニズムに不明点は未だ多い

GSLなど海外企業開発のものを輸入および国内製造して添付



（本日の登壇者より説明）

- ✓ **アジュバント解説、その開発や効果の未来**
- ✓ **多糖核酸複合体（B-グルカン）を利用した
安全性に優れた国産アジュバント開発**

ワクチンアジュバントの基礎と臨床応用

石井 健 (いしい けん)

kenishii@ims.u-tokyo.ac.jp

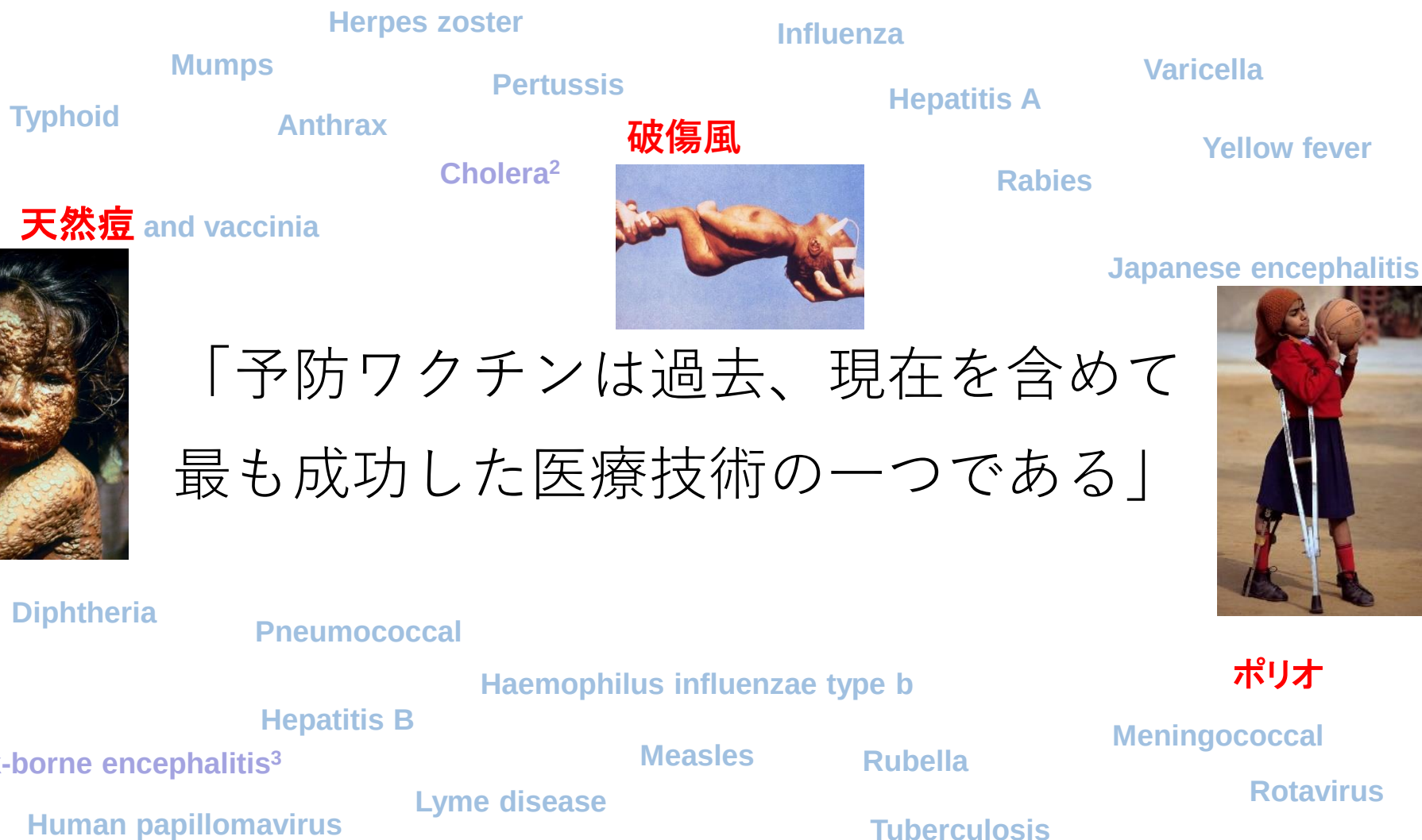
東京大学医科学研究所 ワクチン科学分野

<https://vaccine-science.ims.u-tokyo.ac.jp/>

医薬基盤健康栄養研究所 モックアップワクチンプロジェクト

<http://www.nibiohn.go.jp/adjutant/>

ワクチンで予防できる疾患 (V P D) = 27



1. Centers for Disease Control and Prevention. Vaccines and preventable diseases. Available at: <http://www.cdc.gov/vaccines/vpd-vac/default.htm> (accessed November 2011); 2. Roush S, *et al.* Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR* 1999; **48**:243–248. 3. Centers for Disease Control and Prevention. Special pathogens branch. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/TBE.htm> (accessed November 2011).

ワクチン予防ないし治療が期待される「非」感染症疾患

分類

疾患

標的抗原

神経疾患

アルツハイマー病 (26)
パーキンソン病
クロイツフェルト・ヤコブ病(32)

アミロイドβ
αシヌクレチン
プリオン

循環器疾患

動脈硬化症(33)

Cholesterol ester transfer protein
ApoB100
oxidized LDL
アンジオテンシンII

自己免疫・アレルギー

高血圧症(34)
多発性硬化症

Glatiramer acetate(35)
Myelin Basic Protein
MBP特異的T細胞のT細胞受容体
インスリン、GAD

全てアジュバントが必要

アセチルコリン受容体
特異的T細胞のT細胞受容体
花粉抗原・ネコ抗原などアレルゲン
IL-5

腫瘍

花粉症などアレルギー(38)
気管支喘息(39)

癌抗原

中毒(40)

ニコチン、コカイン、フェンサイクリジン
メタンフェタミン
ヘロイン・モルヒネ

それぞれの中毒物質

炎症

慢性関節リウマチ(41)

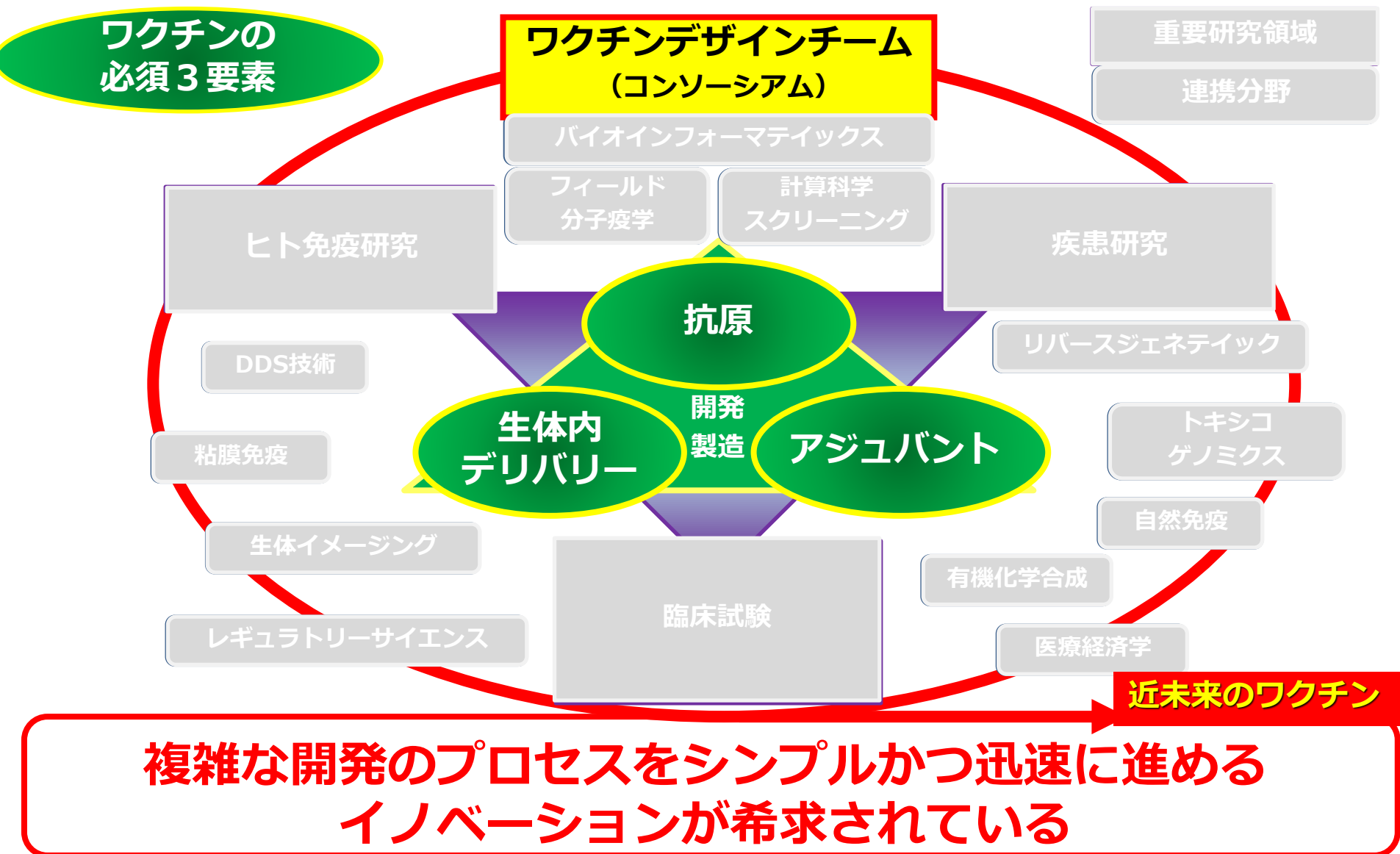
TNFα、IL-6

他

避妊
肥満症(42)
骨粗しょう症(43)

HCG、GnRH
Ghrelin
TRANCE/RANKL

現代（近未来）のワクチン開発研究は、科学技術の集合体



アジュバントとは？

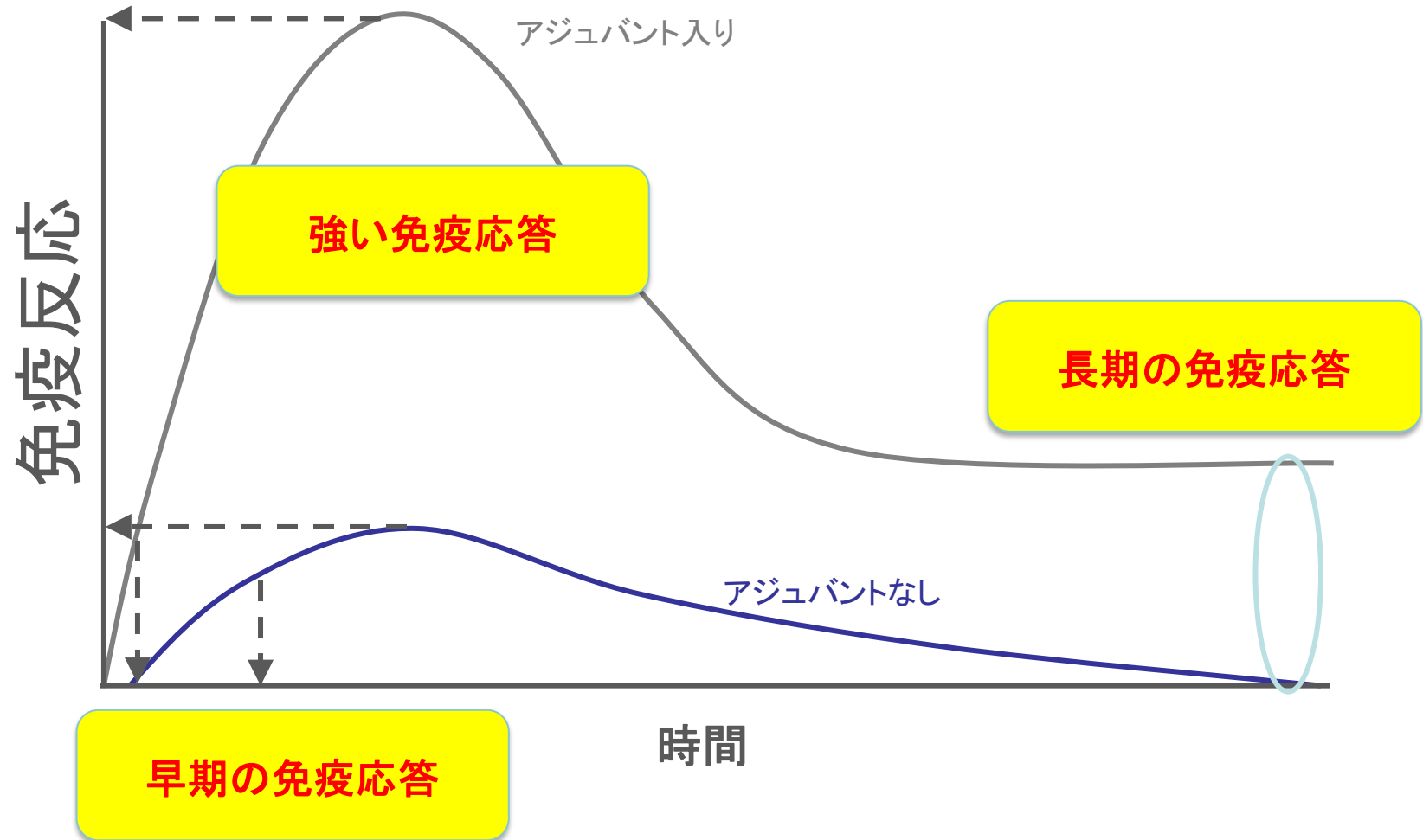
1) ワクチンの効果を増強する因子の総称

2) ラテン語の助けるという意味を持つ”adjuvare”(アジュヴァーレ)が語源

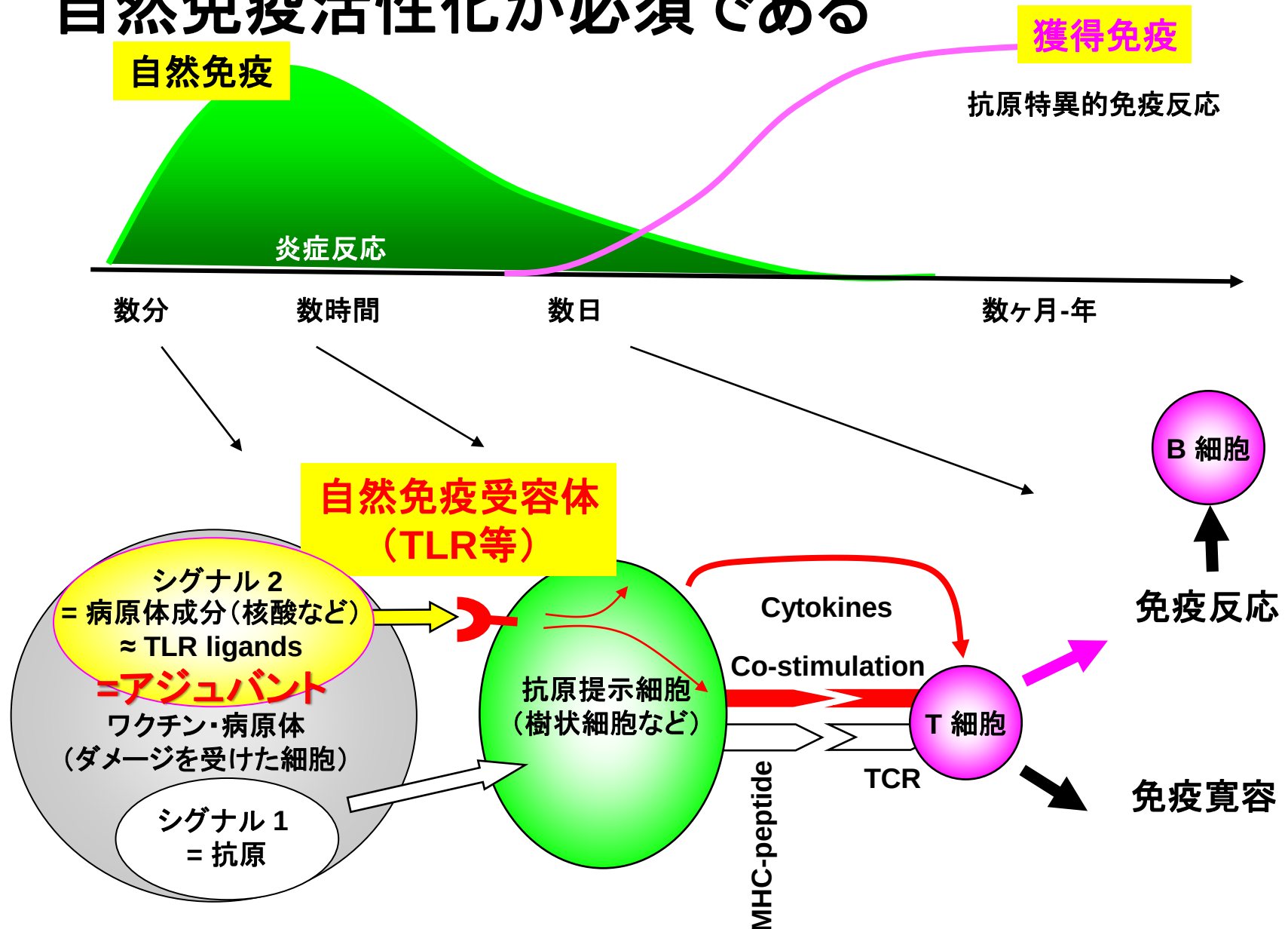
1) Immunologist's dirty little secret (C Janeway 1989)

(抗原にアジュバントをいれないと免疫が起きないことは免疫学者は皆知っていたにもかかわらず、なぜ必要かという作用機序がはっきりせず、論文などの発表でもあまり表立って記載されていなかった。)

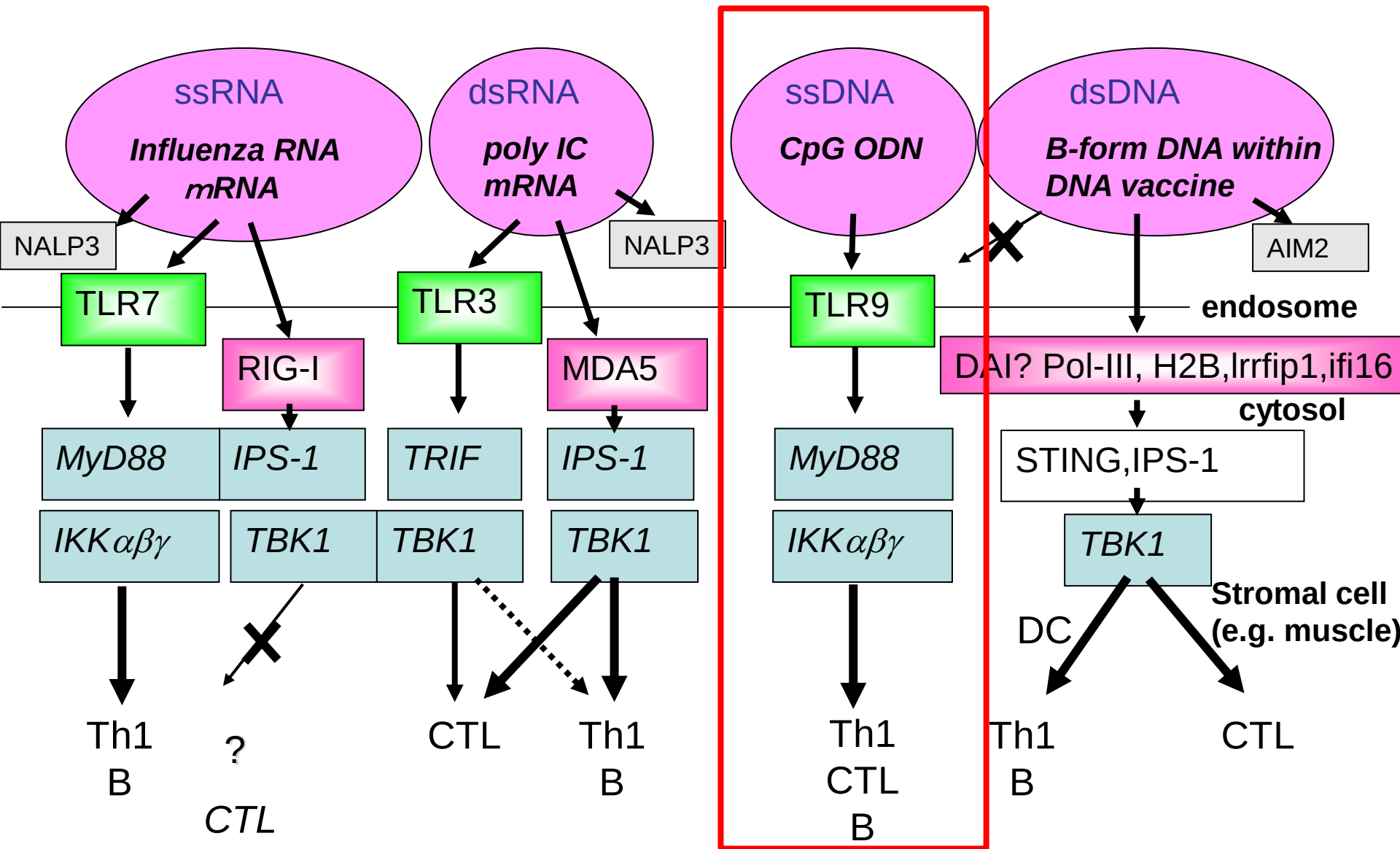
アジュバントの効果とは



有効な免疫(ワクチン効果)を獲得するには 自然免疫活性化が必須である



内因性、外因性の核酸アジュバント



CpG DNA (モチーフ) とは?

CpG motifs (mouse) Pu-Pu-C-G-Py-Py Immunostimulatory Activity

CpG ODN T-C-A-A-C-G-T-T-G-A ++++

Non CpG ODN T-C-A-A-G-C-T-T-G-A -

CpG ODN T-C-G-A-C-G-T-C-G-A ++++

Methyl CpG ODN T-C-GA^mC-G-T-C-G-A -

Non CpG ODN T-C-T-C-C-G-G-A-G-A -

CpG DNA (ODN) の臨床応用の可能性

CpG ODN



↑ Innate immune activation
(↑ pDC, B, Mφ ⇒ ↑ NK cell)

微生物

腫瘍

↑ IFNs, IL12, NO, Chemokines
NK killing, phagocytosis

耐感染症作用

抗癌作用

↑ Th1, ↓ Th2

アレルゲン

抗アレルギー作用

DC maturation
B cell activation

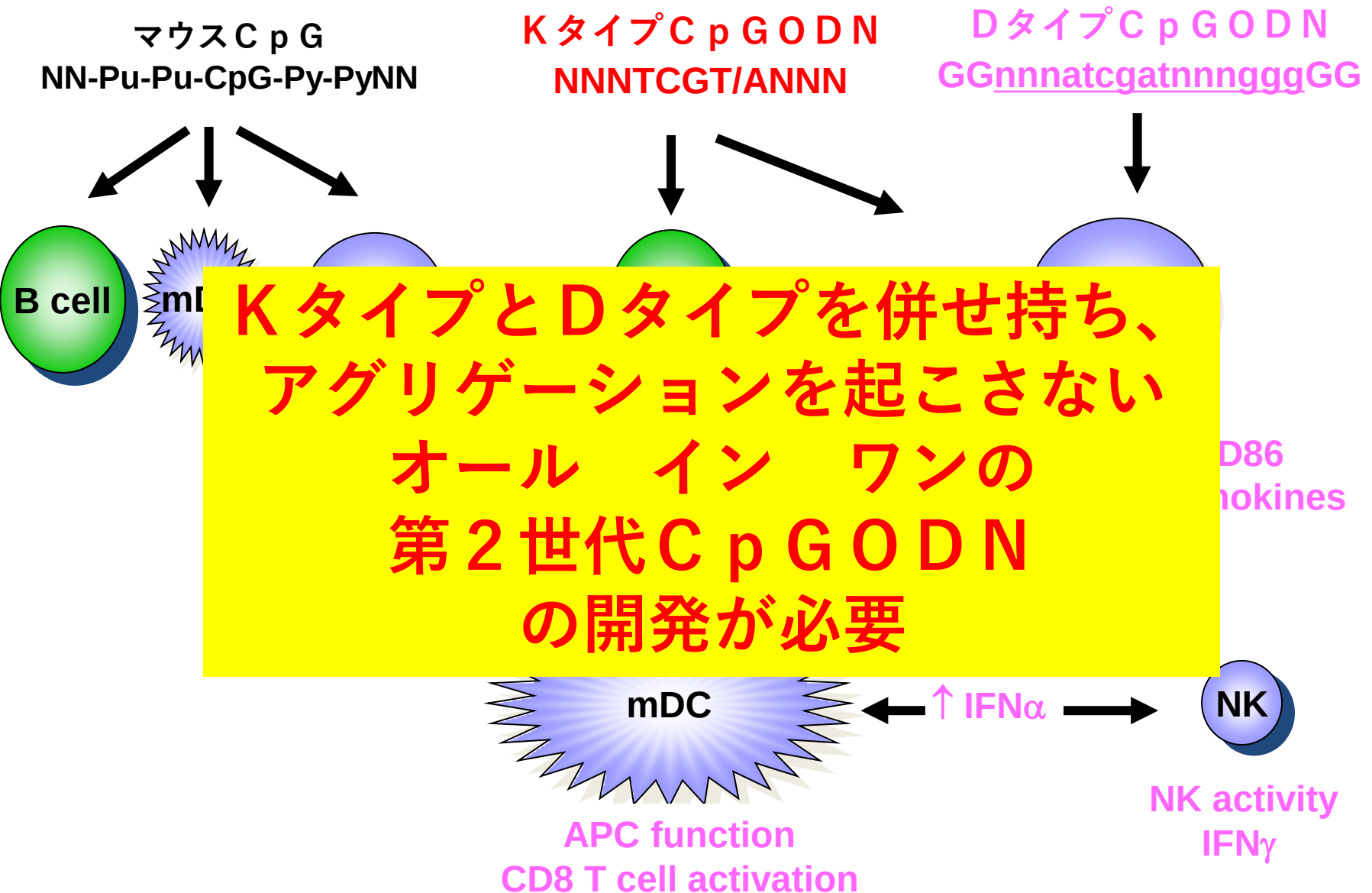
ワクチン

IgG2a, IFN γ , CTL

細胞性免疫を指向する
あらたな アジュバント

第1世代ヒト型TLR9リガンド; CpG ODNの開発研究

ヒト化(配列、構造)→2種のCpG



第2世代 核酸アジュバント: DDS機能つきナノ粒子

— CpG ODN (*K3) (20塩基)

— **Poly dA₄₀ (40塩基)

— CpG (K3)-dA₄₀ (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。

t-SPG

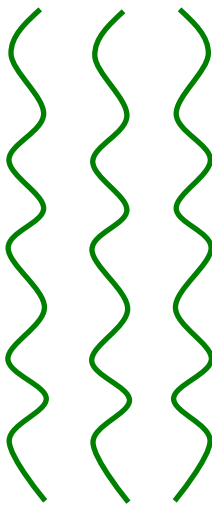


分子量: 450KDa

0.25N NaOH

アルカリ変性

s-SPG



中和

330mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

CpG (K3)-dA<sub>40</sub>

CpG (K3)-SPG



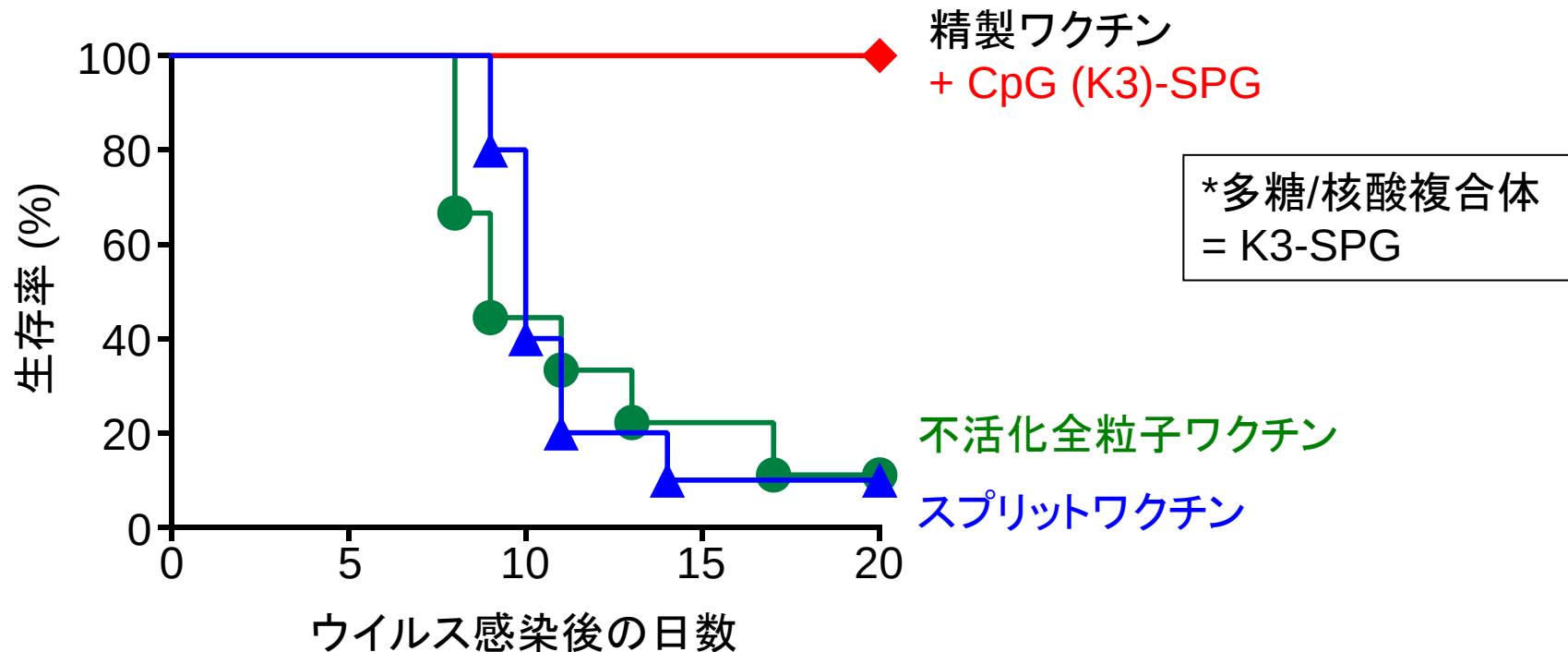
これがアジュバントとして有用かを検討した。

3重螺旋構造

# 第2世代核酸アジュバントは現状のインフルワクチンに混ぜるだけで致死感染に耐えうる効果を発揮する

## 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

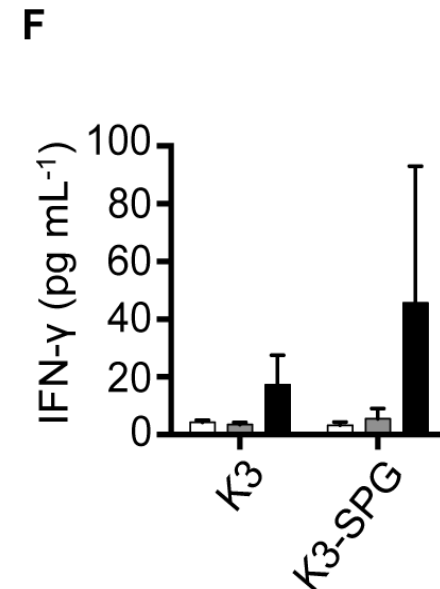
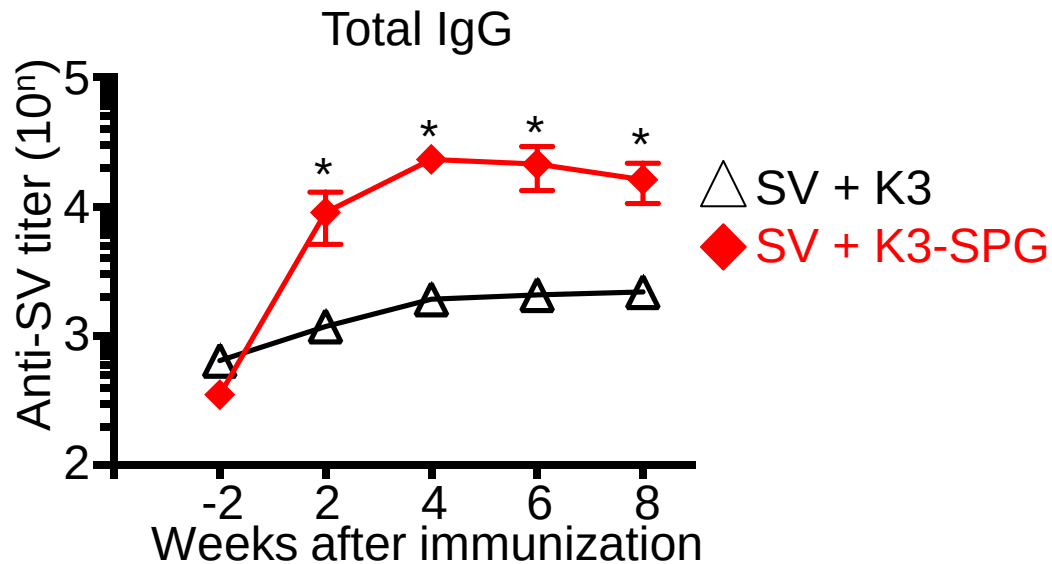


# カニクイザルでのK3-SPGの免疫原性の検証

Crab-eating monkey (NIBIO)

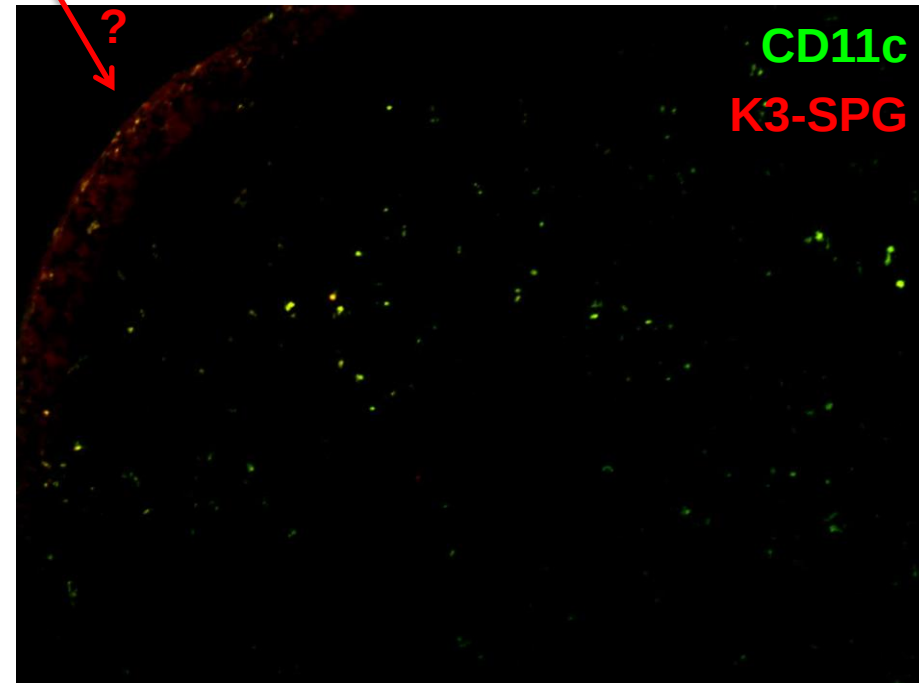
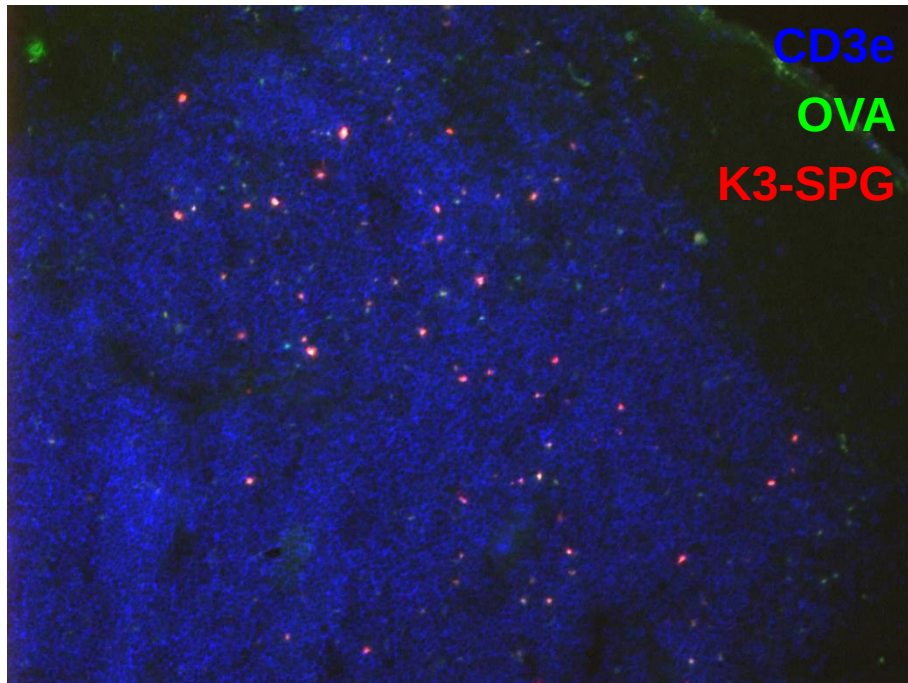
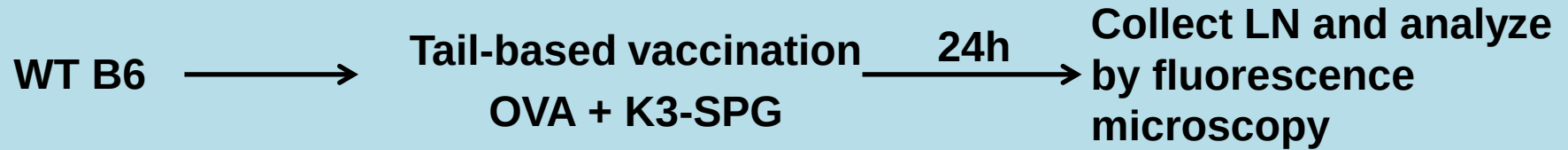


→ 3 monkeys/group  
s.c. vaccination  
Split + K3, Split + K3-SPG  
× 2 → Serum Antibody



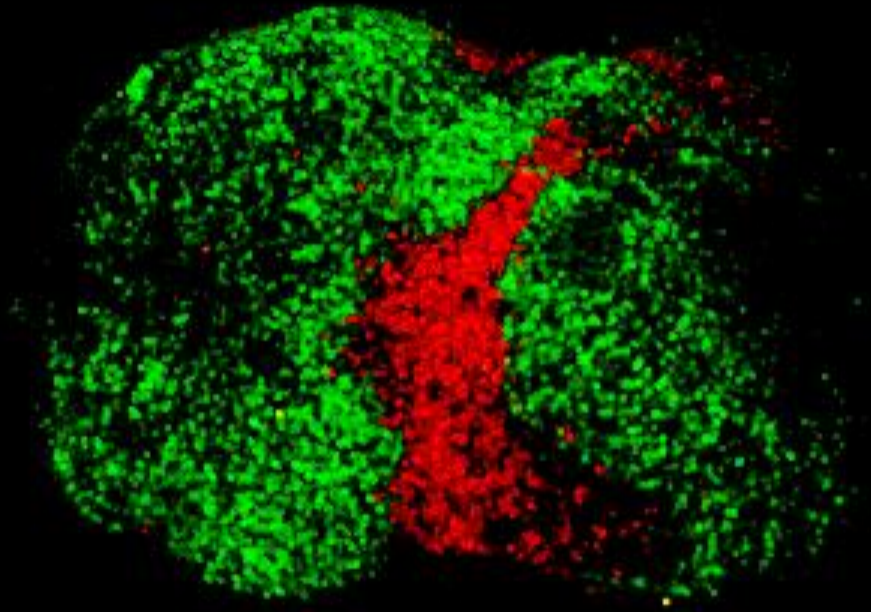
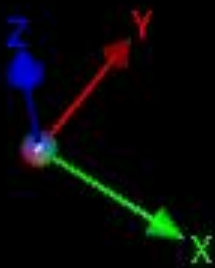
K3-SPG works as a prominent vaccine adjuvant at least non-human primate.

# K3-SPG は抗原と共にリンパ節の樹状細胞に取り込まれる



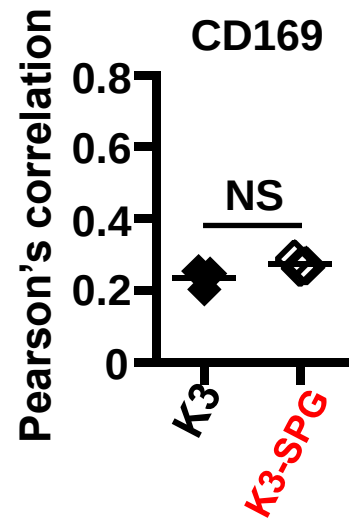
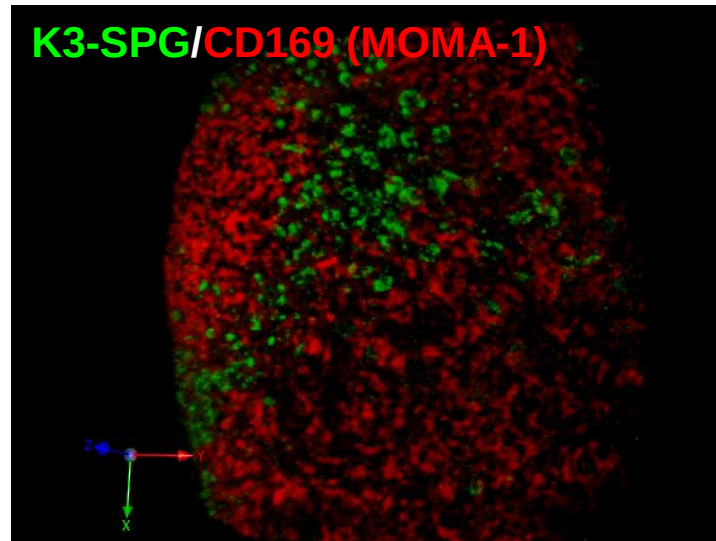
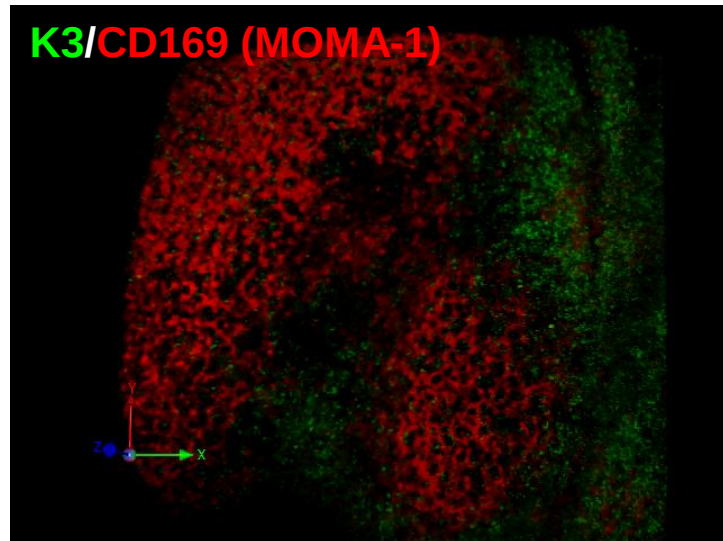
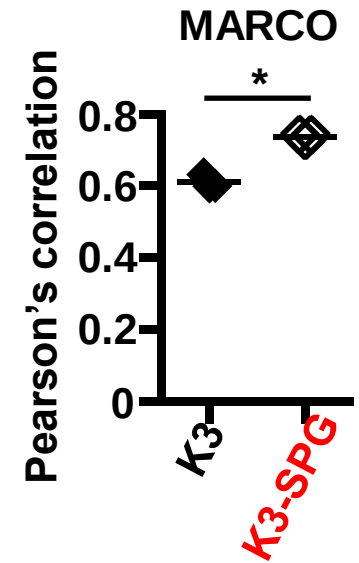
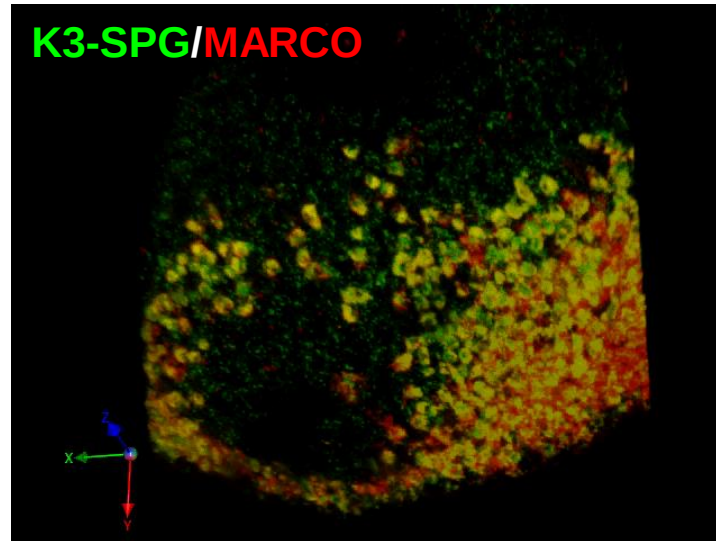
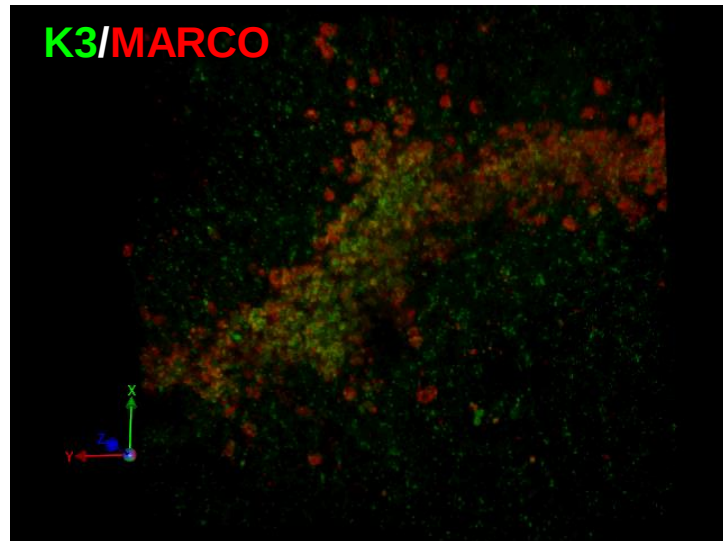
MARCO/CD169 (MOMA-1)

Draining LN (inguinal)

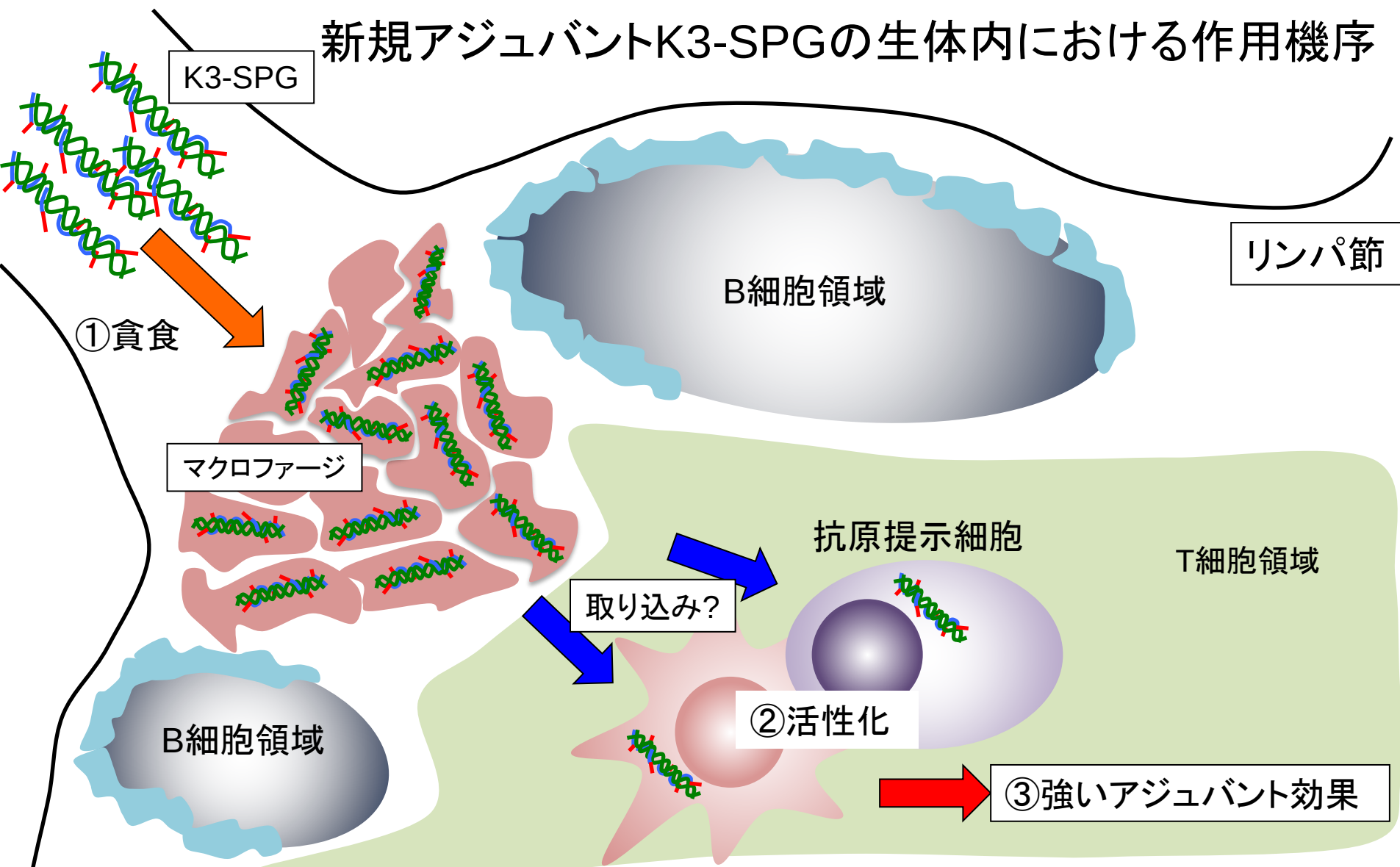




# K3-SPG はMARCO陽性マクロファージに取り込まれる



# 新規アジュバントK3-SPGの生体内における作用機序



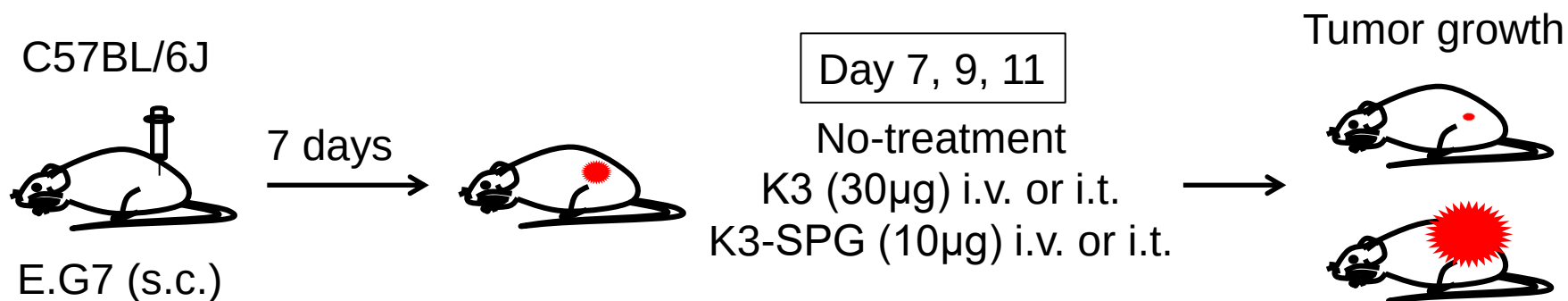
投与された新規アジュバントK3-SPGは①リンパの流れに乗ってリンパ節の表面に存在するマクロファージによって取り込まれる。②その後抗原提示細胞に取り込まれ、強く活性化する。③抗原提示細胞の活性化により強い獲得免疫応答 (アジュバント効果)を誘導する。



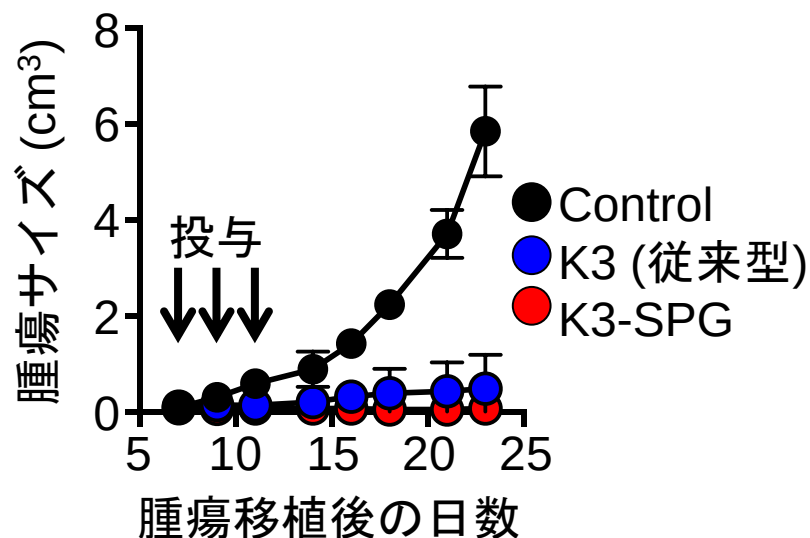
さらに

K3-SPGは単剤で免疫賦活成分として  
がん免疫療法薬として  
可能性あり

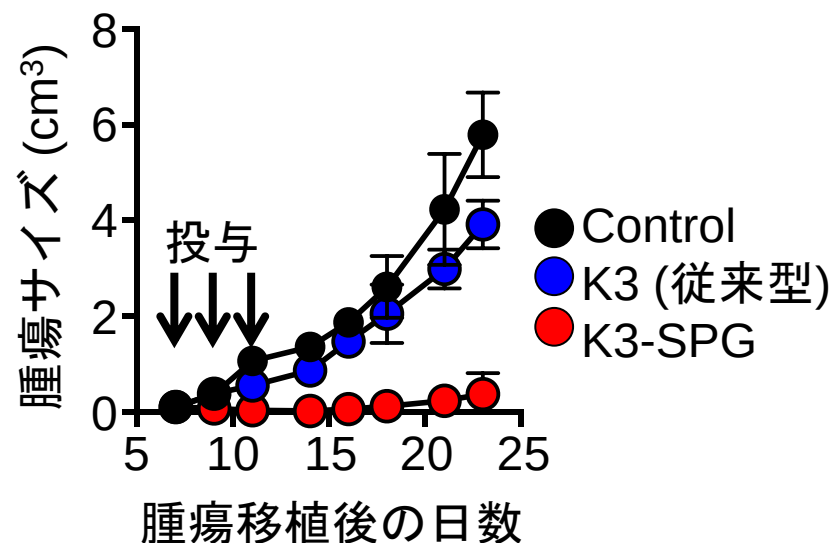
# K3-SPGは単剤で抗がん剤として働く



## 腫瘍内投与 (局所)



## 静脈内投与 (全身性)



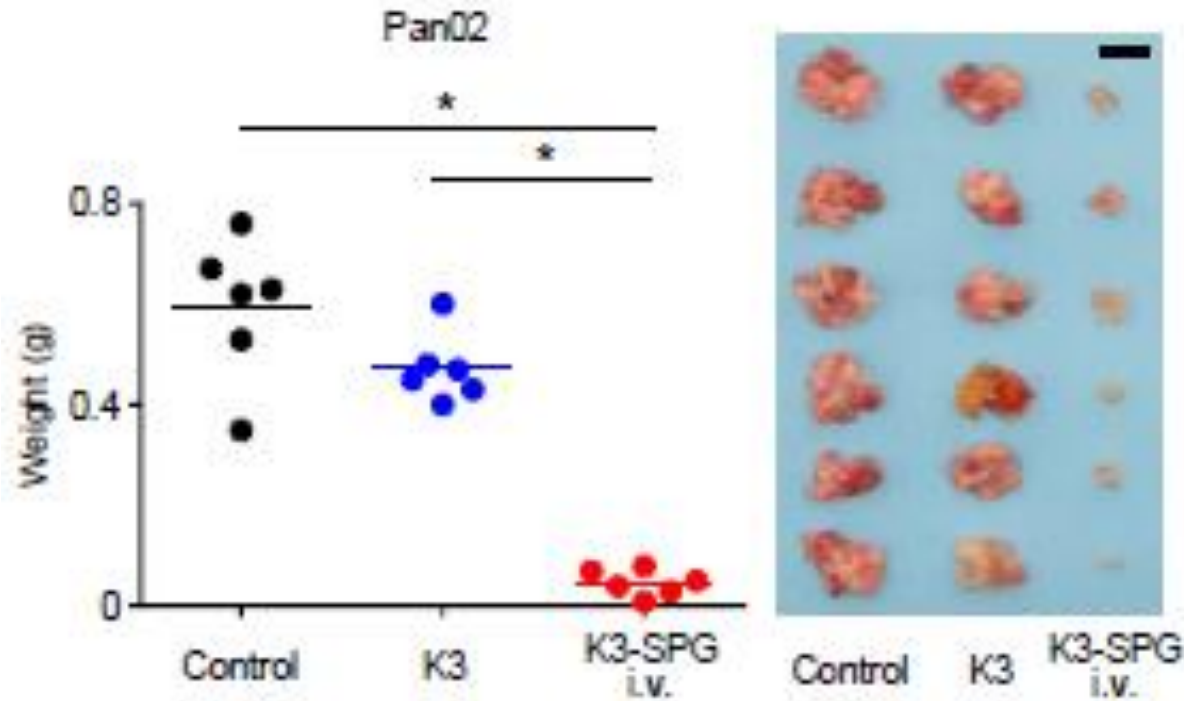
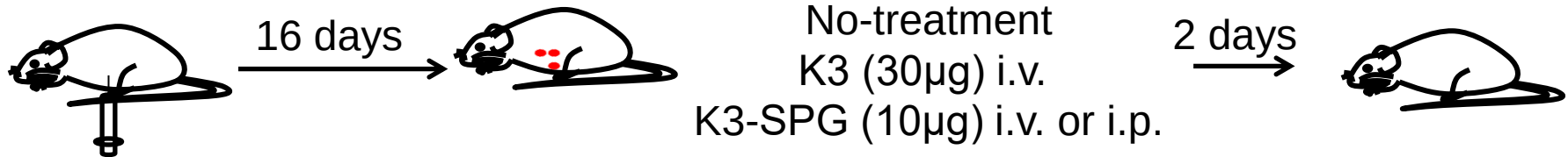
K3-SPGは全身投与においても強い抗腫瘍効果を示した。

# 腹膜播種モデル

Pan02 tumor cells

Day 16, 18, 20

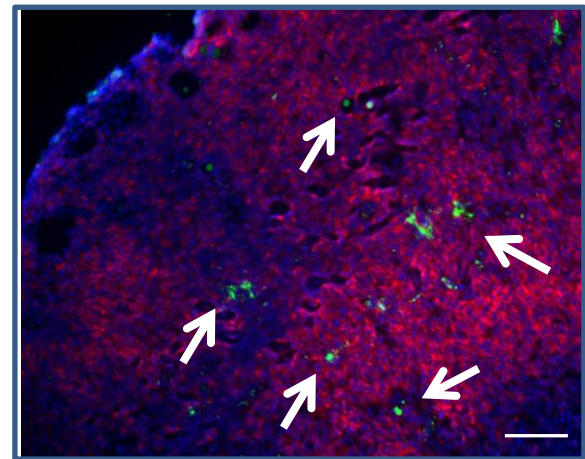
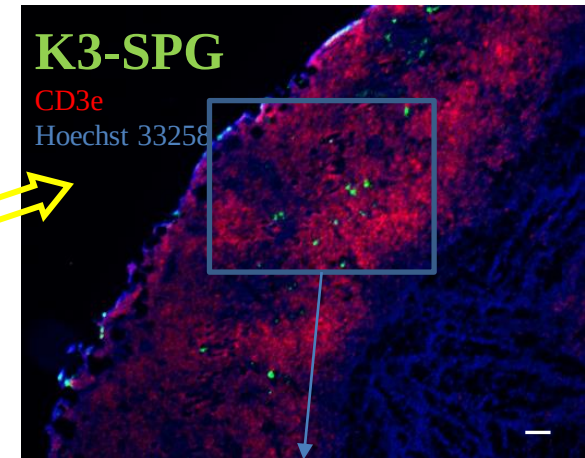
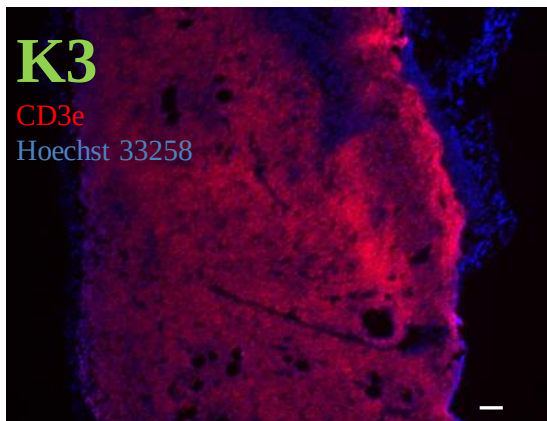
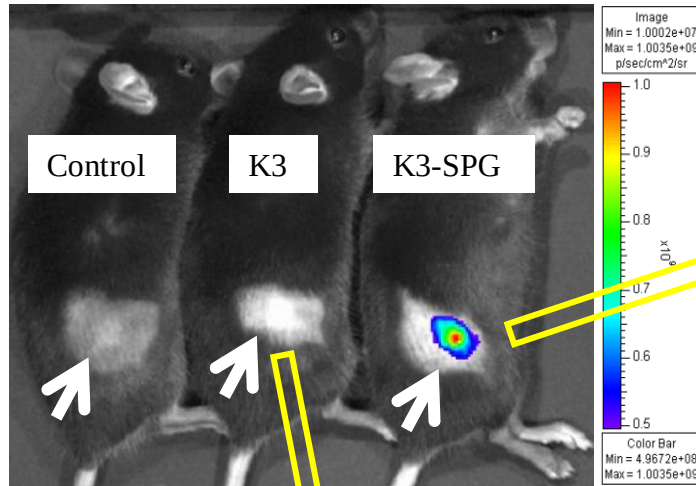
腫瘍の切除



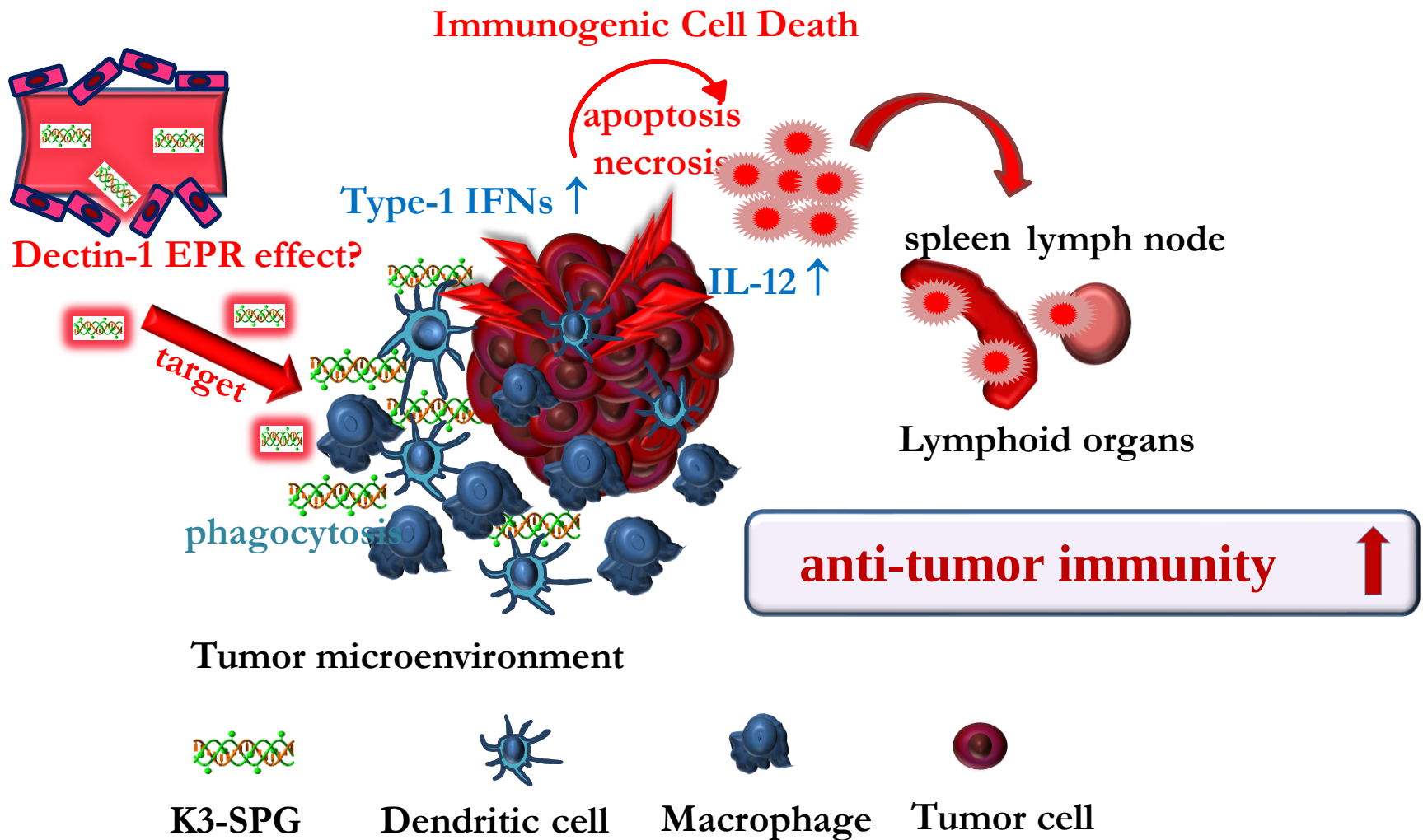
K3-SPGは臨床に近いすいがん腹膜播種モデルにて強い抗腫瘍効果を示した。

# K3-SPGはがん微小環境に集積する

IVIS imaging



# がん微小環境におけるK3-SPGの単剤での抗がん作用



# 第2世代CpG (K3-SPG) による新規がん免疫療法の開発

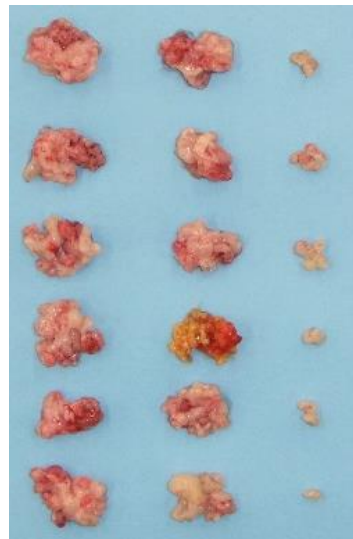
## がんワクチン療法の課題:

- 1)がん抗原のHeterogeneity: 抗原の発現プロファイルが異なっている
- 2)がん抗原の投与ルート: 投与した部位にエフェクター細胞が集積してしまう
- 3)がん抗原に対する免疫寛容: 自然免疫・獲得免疫両方の免疫抑制の存在

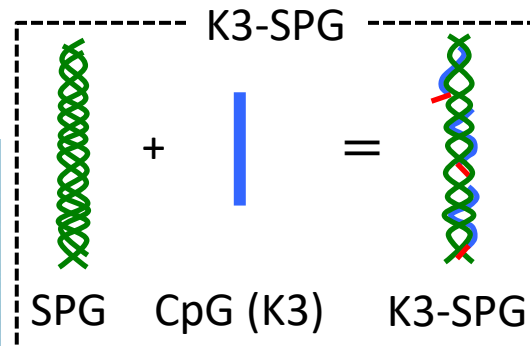
がん抗原を外から足さない新たながん免疫療法の可能性

## シリーズ1: ナノ粒子型CpG ODN

腹膜播種モデル  
(Pan02を使用)



Control K3 K3-SPG



・全身性投与においても  
K3-SPGは強い抗腫瘍効果を示した。

K3=ヒト型CpGのコード名  
SPG=スエヒロタケ由来の  
βグルカン(シゾフィラン)

# まとめ

K3-SPGはワクチンアジュバントとしてポテンシャルが高い

K3-SPGは単剤の免疫療法薬として応用できる可能性あり

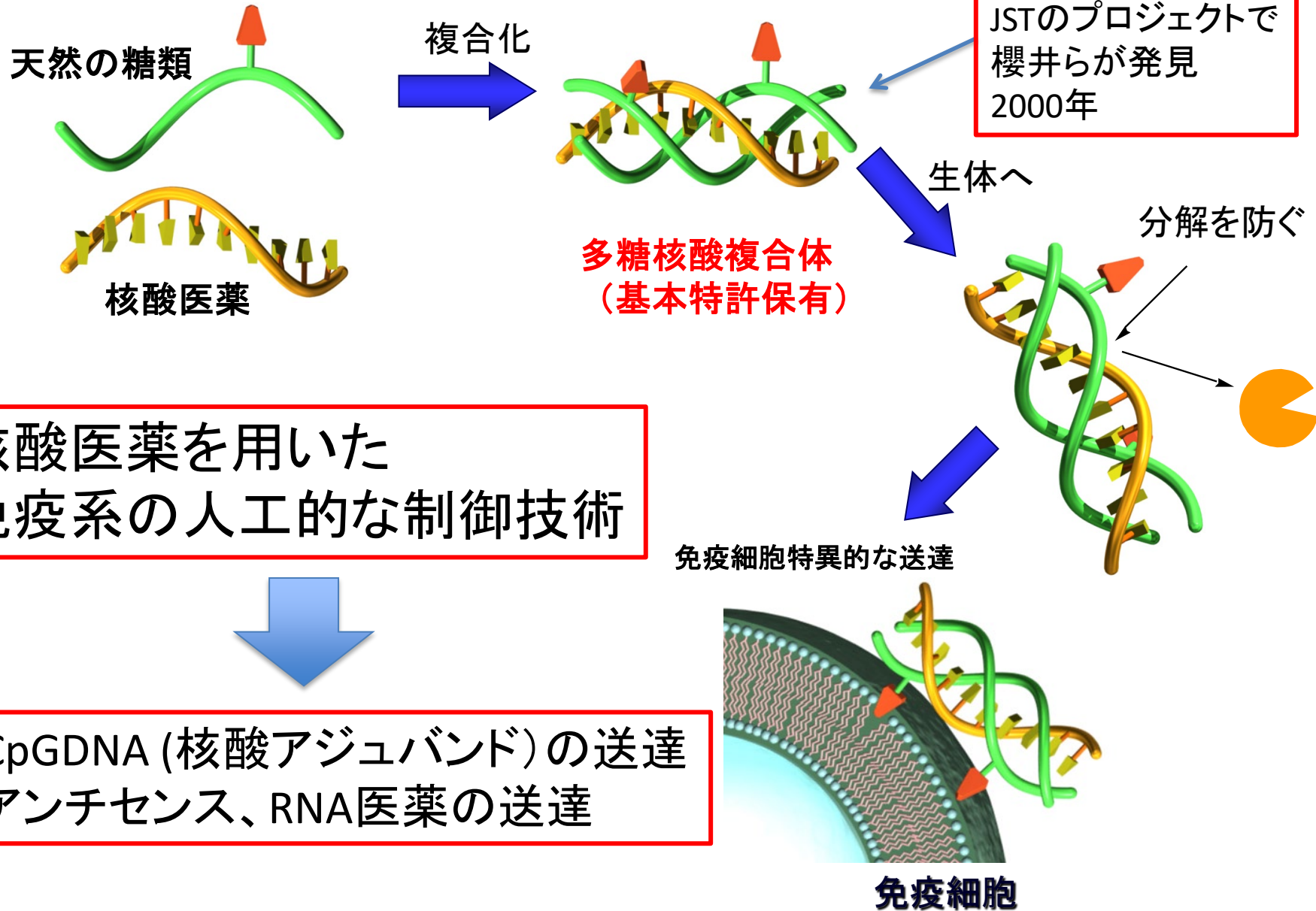
ご清聴ありがとうございました。

ご質問は石井まで

[kenishii@ims.u-tokyo.ac.jp](mailto:kenishii@ims.u-tokyo.ac.jp)



# 新規なグルカン・核酸複合体を用いた核酸医薬の送達





# JSTの支援で育った技術

1999 櫻井が新海JSTプロジェクトで多糖核酸複合体を発見

新海JSTプロジェクト（SORST：分子転写プロジェクト 2000～2006）

2000－2003 櫻井：JSTさきがけ

「核酸・多糖複合体における分子認識メカニズムと遺伝子工学への応用」

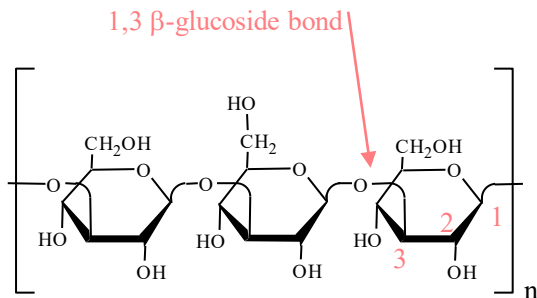
2008－2014 櫻井 & 石井：JST CREST

「DDS粒子のナノ界面と鳥インフルエンザワクチン等への応用」

2014－2024 「新規汎用型ワクチンアジュバント」



# 日本が牽引するβグルカンの研究



βグルカンの分子構造

T. Harada et al., *Arch. Biochem. Biophys.* **1968**.  
E. Atkins and K. Perker, *Nature*, **1968**.



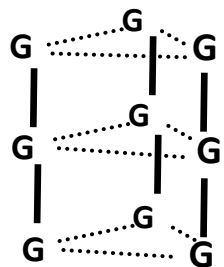
(スエヒロタケ)



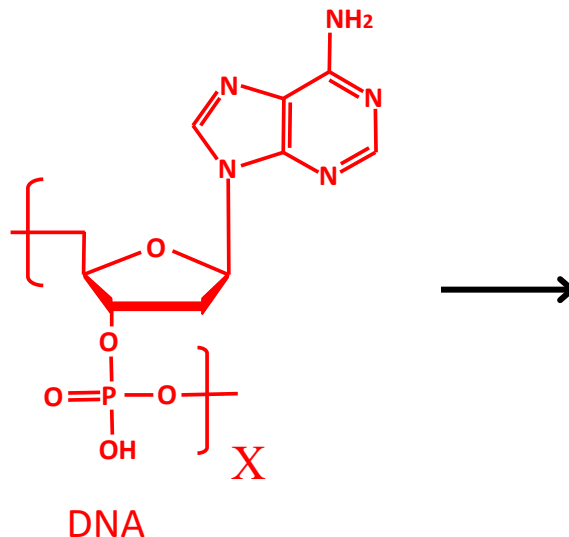
(シイタケ)

βグルカンは、自然界では三重らせん構造をとっている。

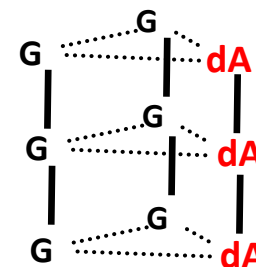
日本では免疫系を刺激する注射薬として臨床的に使用されてきた。安全性が担保されている。



βグルカンの3重らせん



1999に櫻井らが発見



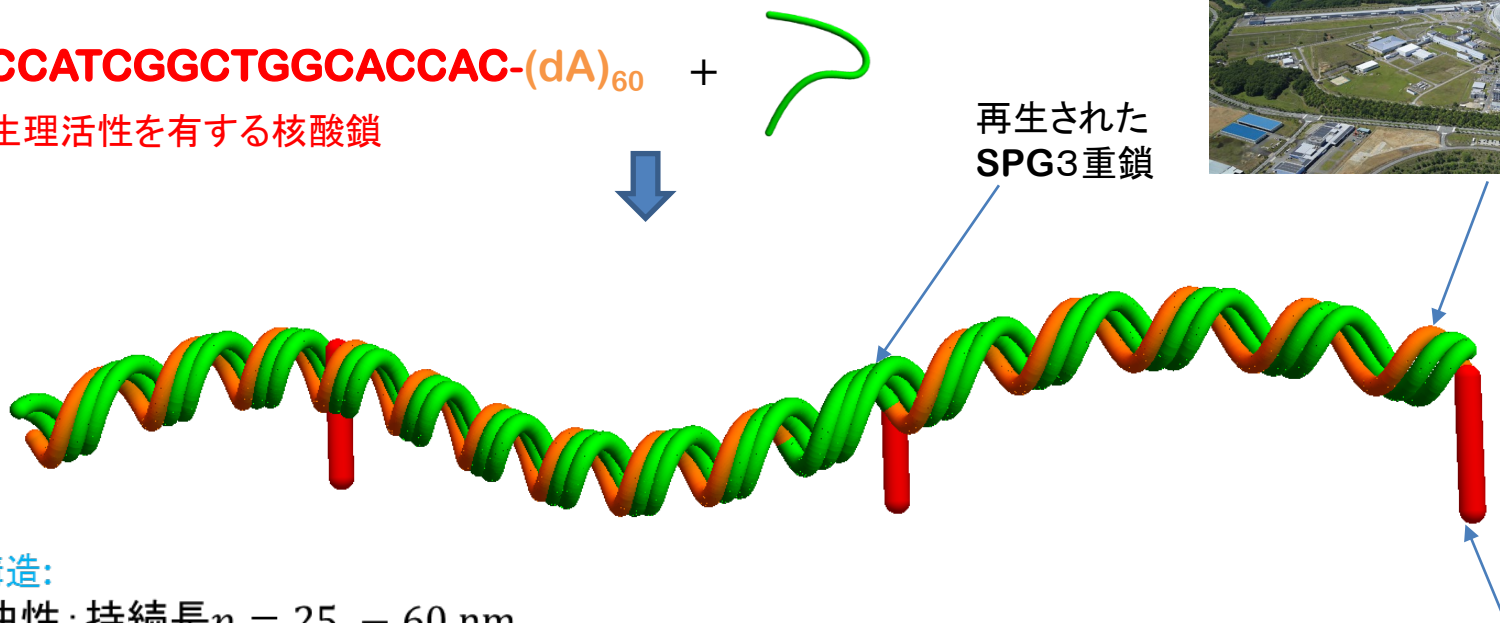
多糖核酸複合体



# 複合体の分子構造：

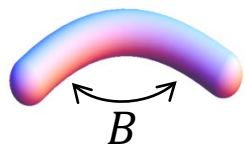
SPG 鎖   $M_W = 150K$ , 主鎖グルコースの数600  
dA 鎖  Bp = 40 – 60

**AACCCATCGGCTGGCACCAC-(dA)<sub>60</sub>** +   
生理活性を有する核酸鎖



## 局所構造:

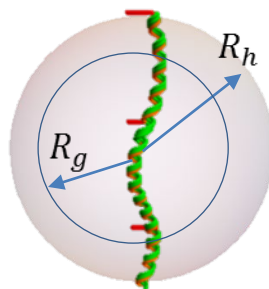
半屈曲性: 持続長  $p = 25 - 60$  nm.  
枝・分岐構造はない直鎖状



|       | $p / \text{nm}$ |
|-------|-----------------|
| T-SPG | 150             |
| dDNA  | 60              |

$B$ : bending stiffness (Young's modulus)

Persistence length:  $p = \frac{B}{k_b T}$



## 全体の構造:

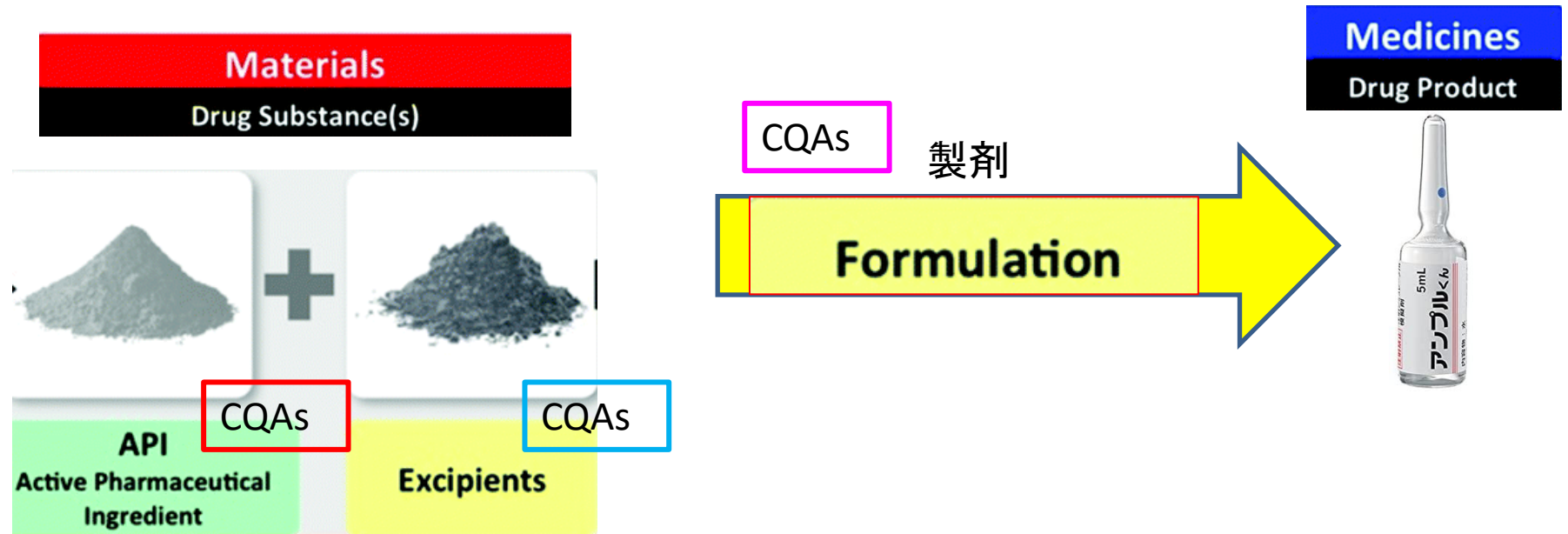
慣性半径:  $R_g = 20 - 40$  nm

流体力学半径:  $R_h = 40 - 80$  nm

Zeta 電位:  $\zeta = -5$  mV 以下

生理活性をもつ核酸鎖  
3 – 5 ODNs / complex

# 安全性と効果を決定する物理・化学的要因(CQA)



的確な製剤(処方)設計・  
合理的な製法・品質管理  
システム

製剤の重要な特性  
(in vivo product performance)  
薬物動態(PK)、薬力学(PD)、  
生体内安定性、代謝、

Safety  
安全性

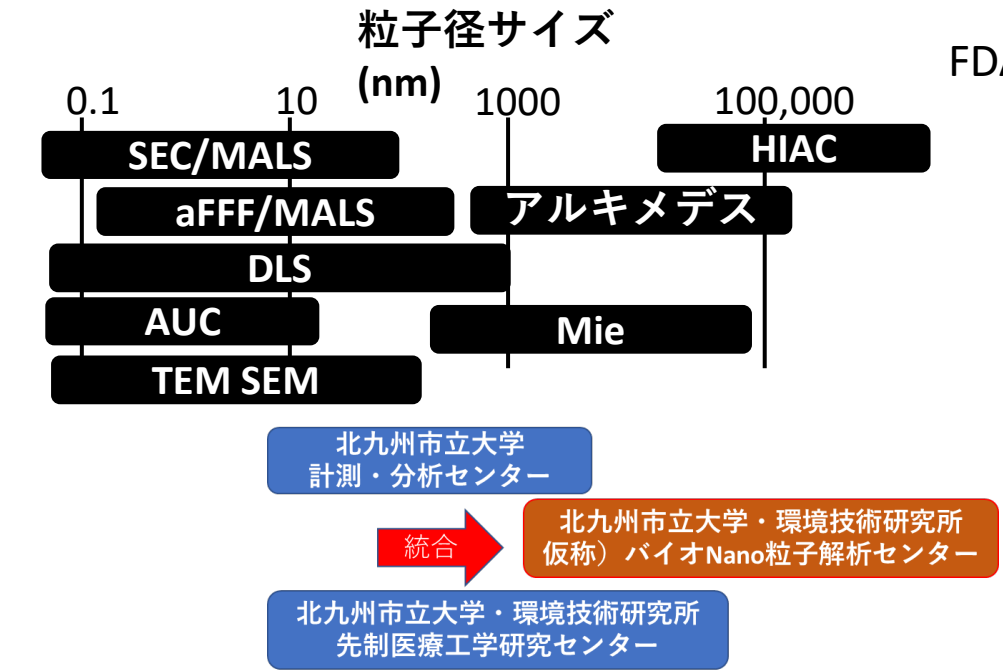
Efficacy  
有効性

CQAs

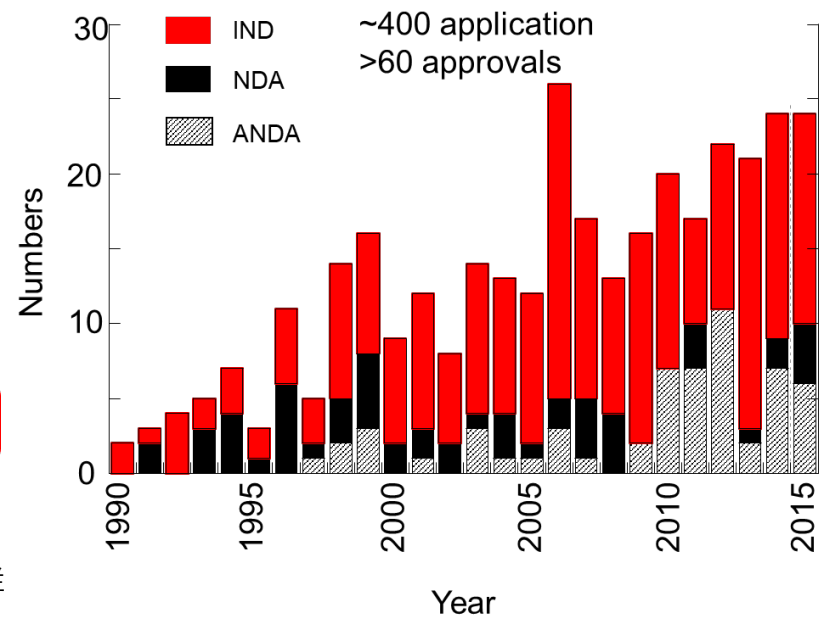
重要な物理的・化学的特性

CQA: Critical quality attributes: 重要品質特性  
API: Active pharmaceutical ingredient: 医薬品有効成分

# 最新ナノ粒子解析装置群



FDAにおけるナノサイズの薬剤の申請件数



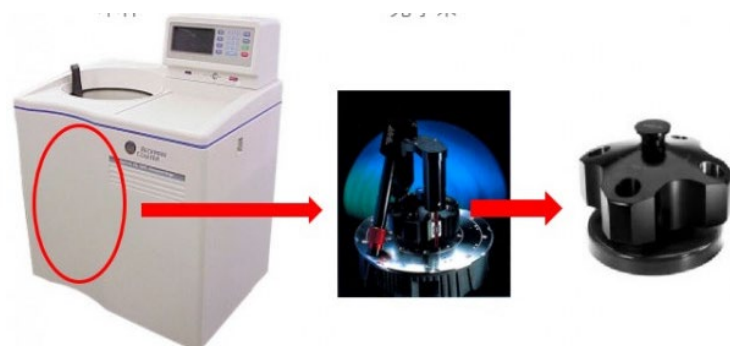
2つの施設を合わせるとすべての測定範囲を網羅する装置群



IENTラボに設置した日本で初のMie散乱



分析センターに導入したCryo電子顕微鏡（九州では唯一、費用1億円）



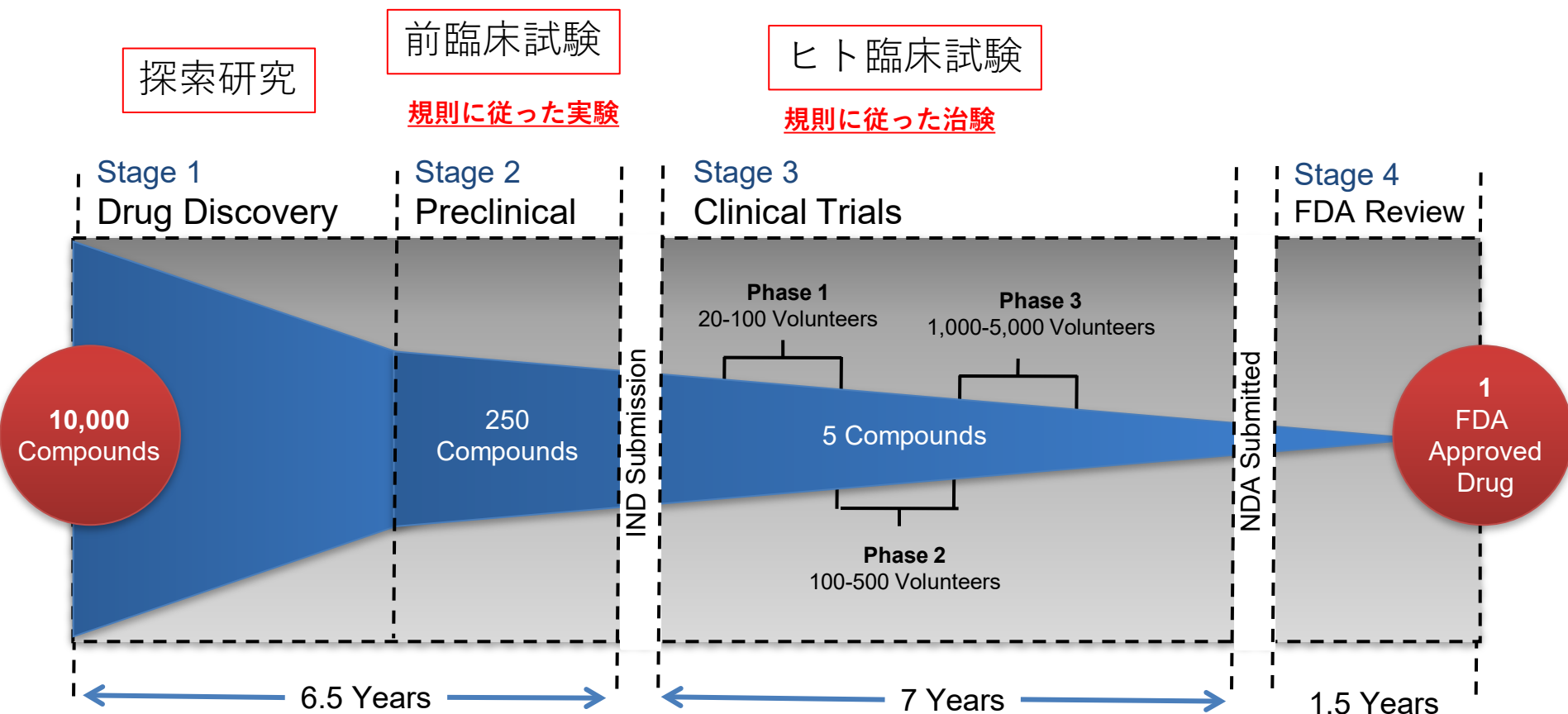
IENTラボに設置した分析用超遠心機



GPC/MALS  
FFF/MALS

高分子製剤では今までにない物性測定、物性制御が必用であり、それが安全性に直結する。

## 製剤開発における化学的分析の重要性



安全性試験と臨床試験での同等性保証