【解説】

アレルギーワクチンの開発

石井保之

ワクチンという言葉は普通、感染症の予防用に免疫賦活を目的に投与される弱毒化や不活化されたウイルスなどに用いられる。一方、アレルギー疾患に用いられるワクチンは、様々なアレルゲンに対する過剰な免疫応答を抑制し、最終的には免疫寛容を誘導することを目的とする。アレルギー疾患の現行の治療は症状を抑える対症療法が主体で、根本治療は唯一減感作療法のみであることから、アレルギーワクチンの研究開発に対する期待は大きい。

現代社会、アレルギー疾患の患者数は増加の一途を辿っているが、未だ決定的な治療法が確立していないのが現状である。喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎や結膜炎などの様々なアレルギー疾患が知られているが、主たる治療法はステロイド薬や抗ヒスタミン薬などで症状を抑える対症療法であることから、病気から完全に寛解することは難しい。しかし、アレルギー疾患の主たる原因抗原（アレルゲン）が特定されている花粉症や一部の喘息疾患に対しては、現在唯一の根本治療である減感作療法が適用可能である。ただ、減感作療法では、天然のアレルゲンを含有する花粉やダニの粗抽出物を皮下注射するため、アナフィラキシーショックを誘発する

危険性に留意する必要がある。そこで、低濃度のアレルゲン注射から段階的に投与量を高めていき、最大投与量に到達させることになるが、3年以上にもわたる長期間の通院治療が必要な場合があり、一般には普及していない。今後さらにアレルギー疾患に苦しむ患者さんの数の増大が予想されることから、予防と根本治療を目指した安全かつ有効なアレルギーワクチンの研究開発が急務になっている。

アレルギーワクチンの定義

ワクチンという用語は通常、無毒化または不活化した病原体を体内に投与して、あらかじめ抗体価を高めておき、その後の感染症を予防することを意味する。一方、アレルギーワクチンは、病原体ではないものの疾患の原因になっているアレルゲンを使うことから広義のワクチンの範疇に入る。しかしながら、アレルギー症状に関係する免疫応答を抑制することを目的としている点や、予防的というよりはむしろ治療的に使うことが想定されるので、通常の感染症ワクチンとは「逆作用」のワクチンであると定義することができる。

またアレルギーワクチンが医薬品化を目指すからには、感染症ワクチンと同様に作用機序が明らかになって

Development of Allergy Vaccines
Yasuyuki ISHII, (独)理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター

いることが必須の条件となる。たとえば、インフルエンザワクチンの場合、免疫する抗原に特異的な免疫応答が起こる結果として抗体価が上昇する機序を把握しておくことが重要であるし、抗体価自身がバイオマーカーとしてワクチンの力価を判定する指標にもなる。

では、こうした要件と照らし合わせて現行の減感作療法はワクチン治療と定義されるのだろうか。病気の原因抗原を使った治療である点では、減感作療法はワクチン治療の範疇に一部入るかもしれない。しかし、感染症ワクチンのように弱毒化も不活化もされていない天然アレルゲンの抽出物を使っていることや、その作用機序もバイオマーカーも依然として明らかになっていないことから、既存の減感作療法はアレルギーワクチンの治療とは定義し難い。

アレルギーワクチンの作用機序

アレルギーワクチンが目指す薬効は、アレルギー疾患における症状の軽減と完全寛解であるが、アレルゲンを使った治療であることからアレルギー反応の中でも標的となる作用機序は限定されることになる。図1には、アレルギー応答のうちI型アレルギー反応を示した。花粉症の主たる原因であるIgE抗体産生とIgE抗体が結合した肥満細胞や好塩基球などの顆粒球がアレルゲン刺激でヒスタミンやロイコトリエンなどの化学遊走物質を放出する一連の反応である。これらの反応の中で、アレルギーワクチンが標的とする領域は、上流の抗原提示細胞にアレルゲンが取り込まれる反応開始点からIgE抗体を細胞表面にもつ肥満細胞が脱顆粒する中間地点までとなる。それ以降のアレルギー反応の下流で放出されるヒスタミンやロイコトリエン、またT細胞やB細胞の活性化に伴い産生されるサイトカインやケモカイン類はすべてアレルゲン非特異的な活性を示す物質であることからアレルギーワクチンは直接機能しない。

アレルギーワクチンが直接作用しうるポイントを具体

的に解説する前に、I型アレルギー反応について概説しておく。図1にある通り、初めてアレルゲンに感作される場合、アレルゲンはまず抗原提示細胞に取り込まれる。花粉症の場合、吸引した花粉のアレルゲンタンパク質が気道粘膜下に存在するプロフェッショナルな抗原提示細胞と呼ばれる樹状細胞に取り込まれ、細胞内でプロセス（消化）されて生じた短いペプチド断片が、主要組織適合抗原（MHC）クラス2上に提示される。

次に、この樹状細胞は所属リンパ節へ移動して、アレルゲン由来ペプチドに特異性をもつナイーブCD4陽性T細胞を活性化して、ヘルパー2型T（Th2）細胞を分化増殖させる。さらに、Th2細胞が産生するサイトカイン、インターロイキン（IL）-4が、アレルゲンに特異性をもつB細胞に作用することにより、B細胞はクラススイッチを伴いIgMからIgGを経てIgEアイソタイプ抗体を産生するB細胞へ分化する。次に、アレルゲン特異的IgE抗体は、肥満細胞や好塩基球の細胞表面上に発現するIgE受容体に、アレルゲン結合部位を外側に迎えた状態で残りの定常領域を使って結合する。

その後、体内に侵入するアレルゲンが肥満細胞や好塩基球表面上のIgEに結合すると、それらの細胞は脱顆粒を起こして細胞内化学伝達物質であるヒスタミンやロイコトリエンなどを放出し、血管透過性の亢進に伴う鼻水や自律神経系を刺激することによるくしゃみ、鼻づまりをひき起こす。また、いったんI型アレルギー反応が成立すると、アレルゲン特異的Th2細胞やB細胞は記憶細胞となって体内に滞留することになるので、次のアレルゲン曝露ではアレルゲン特異的B細胞がアレルゲンを特異的に細胞内へ取り込み、プロセスしたペプチドを自身のMHCクラス2分子上に提示して、Th2細胞を刺激する反応系が優先的に機能することになる。

アレルギーワクチンの標的ポイント

アレルギーワクチンの標的ポイントとして図2に示す

図1 ■ I型アレルギー応答

4つが考えられる。

1. 抗原提示の阻害

抗原提示細胞が抗原を取り込まないか、取り込んでも抗原をプロセスしてペプチド化しないか、さらにペプチドを MHC 上に提示しなければ、Th2 細胞の分化・増殖は阻害されることになる。今日まで、この標的ポイントを狙ったアレルギーワクチンに関する報告は見当たらないが、たとえば人工アレルゲンに抗原提示細胞の機能を阻害する薬剤を結合させれば、予防用のアレルギーワクチンとして働く可能性がある。

2. Th2 細胞の分化・増殖の抑制

抗原提示細胞がアレルゲン特異的に Th2 細胞に免疫不応答（アナジー）や細胞死（アポトーシスやネクロシス）を誘導する薬剤は、治療用のアレルギーワクチンになりうる。実際、スギ花粉症を対象に Th2 細胞特異的にアナジーを誘導する試みがなされている。スギ花粉の主要アレルゲンである Cry j 1 と Cry j 2 タンパク質の領域の中で、BALB/c マウスの Th2 細胞分化に関わる 3 つのペプチド領域を同定し、それらを連結したポリペプチドを投与したところ、Th2 細胞にアナジーが誘導さ

れ、IgE 抗体産生を抑制することができた^(1,2)。この現象をヒトに応用することを目的として、スギ花粉症患者末梢血 T 細胞が反応するペプチド領域（T 細胞エピトープ）を複数の製薬企業がそれぞれ同定し、それらを連結した組換えポリペプチドを作製し、臨床試験が実施されたが、成功に至っていない^(3,4)。アナジーの基本原理は、ペプチドが直接抗原提示細胞上の MHC クラス 2 上に提示され、副刺激分子非依存的に Th 細胞を刺激することであり、マウスでは 3 つの T 細胞エピトープを連結させたポリペプチドが短いのでペプチドが直接抗原提示細胞上の MHC クラス 2 上に提示された可能性が高く、副刺激分子非依存的に Th 細胞を刺激したため、抗体産生が抑制できた可能性が高い。しかし、ヒトでは、5 つもしくは 7 つの T 細胞エピトープを連結したポリペプチドの組換え体を使用されたため、直接 MHC クラス 2 上に提示された可能性はきわめて低い。一般的には抗原提示細胞に取り込まれた後にプロセスされ、MHC クラス 2 に提示されることになる。この過程で、通常は副刺激分子の発現が細胞表面に誘導されることになるので、アナジー誘導の条件は解除され、逆に Th 細胞を活性化へ向かわせることになる。いずれにしても、T 細胞エピトープ連結ポリペプチドが臨床試験で有効性を示す可能性は

図 2 ■ アレルギーワクチンの標的ポイント

あるものの、実際の作用機序は明らかではない。

Th2 細胞の活性化を抑制する別の方法として、Th1 細胞をアレルゲン特異的に活性化する方法も考えられている。Th2 細胞が IL-4 や IL-13 を産生し、液性免疫の活性化や IgE 抗体産生を誘導するのに対して、Th1 細胞は IFN (インターフェロン)- γ を産生し、細胞障害性 T 細胞 (CTL) などが関わる細胞性免疫や IgG2 抗体産生を誘導し、Th2 細胞の機能を低下させる働きをもつ。

Th1 細胞を優先的に活性化する方法として、Toll 様受容体 (TLR) のリガンドが使われている。ブタクサ花粉症の主要アレルゲンである Amb a 1 と TLR-9 リガンドである CpG オリゴヌクレオチドの複合体は、マウスの抗体産生系において、Amb a 1 特異的 IgG2 抗体産生の増強と逆相関的に IgE 抗体産生を有意に抑制した⁽⁵⁾。この場合の作用機序は、TLR-9 を発現する樹状細胞が Amb a 1-CpG オリゴヌクレオチドを取り込んだ後に、Th1 細胞分化に必須な IL-12 産生が誘導されることである。しかし、ヒトでは TLR-9 を発現する樹状細胞はマウスとは異なり IL-12 を産生しないために、Amb a 1-CpG オリゴヌクレオチドの薬効はヒトでは再現されず、臨床試験は中止されている⁽⁶⁾。

TLR-9 以外には、TLR-4 のリガンドである LPS (リポ多糖) の誘導体である MPL (Monophosphoryl Lipid A) を用いたアレルゲンとの複合体の作製・開発がなされている。TLR-4 は、ヒトでも IL-12 を産生できる樹状細胞に発現していることから、Th1 を増強して IgE 抗体産生を抑制するアプローチは成立する可能性が高い。しかしその一方では、IFN- γ 産生の増強に伴う非特異的な細胞性免疫の活性化が自己免疫疾患の発症を誘発する可能性も、安全性の面から考慮する必要がある。

理想的には、アレルゲン特異的な Th2 細胞のみを抑制し、Th1 応答を増強しない作用機序が望まれる。それを実現できる可能性があるのは、現状では制御性 T (Treg) 細胞、特にアレルゲン特異的に誘導される iTreg 細胞のみである。このアプローチについての筆者らの取り組みは後述する。

3. B 細胞の IgE 抗体産生の抑制

B 細胞からの IgE 抗体産生だけを抑制することができれば根本治療になる可能性がある。アレルギーワクチンではないが、IgE 産生 B 細胞をすべて抹消する方法が考案されており、実際に、膜結合型 IgE を発現する B 細胞特異的に細胞死を誘導する抗体医薬が開発されている⁽⁷⁾。IgE 本来の機能である寄生虫に対する感染防御やその他生体にとって必須な役割を果たせなくても健康を

維持するのに問題が認められなければ、すべての IgE 産生細胞を体内から消滅させても良いことになるが、安全面を十分に調べる必要がある。

アレルギーワクチンとしてのアプローチでは、アレルゲン特異的 IgE 産生 B 細胞だけに細胞死を誘導するアプローチが可能である。たとえばアレルゲン内の IgE 抗体結合領域だけを薬物に結合して B 細胞に取り込ませることができれば、IgE 産生 B 細胞特異的に細胞死を誘導するアレルギーワクチンになりうる。

4. IgE 抗体の IgE 受容体 (Fc ϵ R I) 結合阻害

アレルギーワクチンの範疇ではないが、IgE 中和抗体の投与によって、重篤な喘息患者さんでの高い治療効果が認められている。仮に血中の IgE 抗体濃度が高値であっても、肥満細胞や好塩基球細胞表面上の IgE 受容体 (Fc ϵ R I) に結合しない限り、アレルギー症状が重篤化しないことが予想される。もし自己の免疫システムを使って IgE 中和抗体を産生し続けることが達成できるならば、IgE 抗体価が高い状態でも症状を軽減させることが可能になるかもしれない。

アレルギーワクチンでのアプローチでは、IgE 受容体上にある IgE 抗体には結合するが肥満細胞や好塩基球を脱顆粒させない人工アレルゲンを設計できれば、治療に使える可能性がある。

アレルギーワクチンの開発 1

花粉症や喘息の減感作療法の場合、投与ルートが皮下であれ舌下であれ、天然型アレルゲンを含有する花粉やダニの粗抽出エキスが用いられるため、アナフィラキシーショックの誘発を警戒しながら極低濃度の投与から開始し、目標の維持量まで段階的に時間をかけて投与濃度を高めていく。欧州で実施されている減感作療法では、高濃度のアレルゲンが含有するエキスを調製することにより、最終の維持量を可能な限り高めて、有効率を高めている。しかし、我が国では、皮下投与による減感作療法がスギ花粉症に適用されているものの、医薬品であるスギ花粉粗抽出エキス中に含有するアレルゲン濃度が十分ではないため、高濃度の維持量での治療が困難であり、有効率を高められない原因の一つになっている。近く、この医薬品であるスギ花粉エキスをを用いた舌下減感作療法の臨床試験が開始されるが、著しい奏効率は期待できないものの、舌下投与により安全性は担保されることから、一般に普及する可能性は高い。アレルゲンの皮下投与とは異なり、舌下投与ではアナフィラキシー

ショックを誘発する危険性がきわめて低く、高用量のアレルゲン投与が可能になるので、今後開発するアレルギーワクチンの投与ルートとしては注目できる。

しかし、新たに開発するアレルギーワクチンのアレルゲンには、投与ルートにかかわらずアナフィラキシーショックを誘発しない工夫を施して、より安全な医薬品として開発することが求められる。つまり、仮に体内に大量に放出され全身を循環したとしても、アナフィラキシーショックを誘発しない人工アレルゲンをデザインする必要がある。抗体には IgM, IgG, IgD, IgE, IgA の 5 つのアイソタイプがあるが、IgE アイソタイプ抗体の多くがタンパク質の立体構造を認識して結合することが知られている。好塩基球の脱顆粒は、肥満細胞表面上の FcεR 1 に捕捉されている IgE 抗体にアレルゲンが結合して IgE/FcεR 1 複合体が複数架橋されることによってはじめて誘発されるので、IgE 抗体に結合しない人工アレルゲンはアナフィラキシーを誘発しないことになる。スギ花粉症アレルギーワクチンでは以下の 2 つの方法が考案され開発されたが、未だ医薬品化には成功していない。

一つの方法は、スギ花粉主要抗原 Cry j 1 と Cry j 2 をそれぞれ花粉から高純度に精製し、プルランという多糖類で修飾する方法である。プルランはタンパク質表面全体を覆っており、IgE 抗体のタンパク質エピトープへの結合をほぼ完璧に阻害することができた⁶⁾。

もう一つの方法は、アレルゲンタンパク質の立体構造を改変する組換え技術である。Cry j 1 と Cry j 2 タンパク質上にあるヘルパー T 細胞エピトープのペプチド断片を遺伝子工学で連結させた T 細胞エピトープ連結ポリペプチドは、天然型の立体構造を保持せず IgE 抗体が結合しないので、安全なアレルギーワクチンとしての条件をクリアしていることになる。以上のアレルギーワクチンの開発では、アナフィラキシーショックを誘発しない工夫が施されたアレルゲンを使用して安全性を十分に確保しているので、さらに有効性を高める工夫を付加すれば画期的な医薬品を創製することが期待できる。

アレルギーワクチンの開発 2

高い安全性を維持しつつアレルギーワクチンの有効性を高める方法として以下の 2 つが考えられる。一つ目は、有効性の範囲を広げるため、すなわち広い範囲のアレルギー患者に有効にするため、主要なアレルゲンをすべてワクチンに含めることである。もう一つは、アレルギーワクチンの効果を増強するアジュバントを使用する

ことである。過去に開発されたスギ花粉症のアレルギーワクチンでこれらの条件を満たしているのは先述のプルラン修飾体だけである。ワクチンに使用している天然型 Cry j 1 と Cry j 2 タンパク質の全長であることから、すべてのスギ花粉症患者さんの T 細胞エピトープと B 細胞エピトープを含有していることになる。また、プルラン自身には Th1 応答を高めるアジュバント活性が知られていることから、アレルゲン特異的に Th2 応答が抑制される作用機序が考えられる。

筆者らのスギ花粉症ワクチン開発では、アレルゲンとして組換え Cry j 1/Cry j 2 融合タンパク質を使用し、それをアジュバントであるナチュラル・キラー T (NKT) リガンドを含有するリポソームで包含した製剤を使用している。プルラン修飾体と同様に、有効性範囲を広げるためには、限定された T 細胞エピトープの連結ポリペプチドでは不十分であり、すべてのスギ花粉症患者 T 細胞エピトープの配列を包含する必要がある。つまり、主要抗原である Cry j 1 タンパク質と Cry j 2 タンパク質の成熟領域すべてのアミノ酸配列が必要となる。安全性と有効性という 2 つの条件を満たす組換えアレルゲンとして、Cry j 1 と Cry j 2 のそれぞれの全成熟領域を直接結合させた組換え Cry j 1/2 融合タンパク質が考案された。この融合タンパク質は、Cry j 1 と Cry j 2 が介在配列を含まず直接結合する構造になっていて、それぞれの領域の立体構造が天然型に戻ることができない工夫が施されている。その結果、天然型 Cry j 1 や Cry j 2 の立体構造を認識する IgE 抗体が結合できなくなり、肥満細胞や好塩基球の脱顆粒が起らないことになる。単独でも安全な組換え Cry j 1/2 融合タンパク質がスギ花粉症ワクチンではさらにリポソーム内腔に封入されているため、全身に投与後も標的細胞に到達するまでアレルゲンはリポソーム外へ放出されることはなく、二重の安全面での工夫が施されていることになる。

一方、リポソーム膜には有効性を高めるアジュバントとして NKT 細胞リガンドである α -ガラクトシルセラミド (α -GalCer) が埋め込まれている。NKT 細胞は、自然免疫系と獲得免疫系を橋渡しする司令塔的存在で、免疫応答を制御する。 α -GalCer は抗原提示細胞上に発現する CD1d 分子に提示され、NKT 細胞を特異的に活性化する。その NKT 細胞の中でも不変 (invariant) T 細胞受容体 α 鎖 (TCR α) をもつ iNKT 細胞は、Th1 応答に関係する IFN- γ 、Th2 応答に関係する IL-4 や IL-13、さらに免疫抑制作用をもつ IL-10 などのサイトカインを産生する能力をもっている。多彩な iNKT 細胞のサイトカイン産生の中で、IL-10 産生を優先的に誘導できるア

図3 ■新規アレルギーワクチン (α-GalCer リポソーム) の作用機序
Ag: 抗原

ジュバントは、免疫抑制を目的とするアレルギーワクチンに最適である。通常、α-GalCer 単独のアジュバント効果は、樹状細胞と iNKT 細胞の会合による IFN-γ 産生を伴う Th1 応答を増強する免疫賦活作用が主体であるのに対して、α-GalCer リポソームのアジュバント効果では、B 細胞マーカーをもつ抗原提示細胞と iNKT 細胞との会合を伴う IL-10 産生が増強され、免疫抑制が主体となる⁽⁹⁾。IL-10 は直接 T 細胞の増殖を抑制する以外に、二次的に Treg 細胞の分化・増殖に関与することが知られている。したがって、図3に示すように組換え Cry j 1/2 融合タンパク質を含む α-GalCer リポソームのスギ花粉症ワクチンは、体内でスギ花粉アレルギー特異的 Treg 細胞を誘導できる能力をもっていることになる。卵白アルブミン (OVA) を含有する α-GalCer リポソームを用いたマウスのモデル実験では、ワクチン投与により OVA 特異的に抗体産生を抑制する Treg 細胞の出現が認められている⁽¹⁰⁾。体内でのアレルギー特異的 Treg 細胞の誘導は、長期間にわたって免疫寛容を維持できる可能性を示唆している。今後、スギ花粉症ワクチンとして α-GalCer リポソームの開発が進み、安全性と有効性が確認されれば、他のアレルギー、たとえばヒノキ、ブタクサ、シラカンバなどの花粉由来やダニ由来抗原をリポソーム内に封入することでスギ以外の花粉症や喘息・アトピー性皮膚炎の根本治療につながるアレルギーワクチンに応用することが可能である。

おわりに

感染症に対するワクチンが予防的に免疫力を高めるこ

とを目的とするのに対して、アレルギーワクチンはすでに発症した患者さんに治療的にアレルギー・免疫応答を低下させることを目的とすることから、臨床開発では高い安全性が要求される。特にアナフィラキシーショックを誘発する危険性や免疫抑制のアレルゲン特異性については、十分に留意する必要がある。一方、アレルギー疾患の患者数が増え続ける現代において、対症療法での治療には限界が見えてきていることから、アレルギーワクチンの開発を今推進しなければ将来手遅れになる。今後、産学官連携体制で、まず国民病とも言えるスギ花粉症のアレルギーワクチンの実用化を達成したい。

文献

- 1) K. Hirahara, S. Saito, N. Serizawa, R. Sasaki, M. Sakaguchi, S. Inoue, Y. Taniguchi, S. Kaminogawa & A. Shiraishi: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **102**, 961 (1998).
- 2) T. Yoshitomi, K. Hirahara, J. Kawaguchi, N. Serizawa, Y. Taniguchi, S. Saito, M. Sakaguchi, S. Inoue & A. Shiraishi: *Immunology*, **107**, 517 (2002).
- 3) K. Hirahara *et al.*: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **108**, 94 (2001).
- 4) T. Sone, K. Morikubo, M. Miyahara, N. Komiyama, K. Shimizu, H. Tsunoo & K. Kino: *J. Immunol.*, **161**, 448 (1998).
- 5) H. Tighe *et al.*: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **106**, 124 (2000).
- 6) P. S. Creticos *et al.*: *New Eng. J. Med.*, **355**, 1445 (2006).
- 7) H. D. Brightbill *et al.*: *J. Clin. Invest.*, **120**, 2218 (2010).
- 8) 奥田 稔, 信太隆夫, 今野昭義: “耳鼻と臨床”, **48**, 99 (2002).
- 9) Y. Ishii, S. Motohashi, K. Shimizu, T. Nakayama, M. Taniguchi & S. Fujii: *Curr. Immunol. Rev.*, **6**, 109 (2010).
- 10) Y. Ishii, R. Nozawa, Y. Takamoto-Mastui, A. Teng, H. Katagiri-Matsumura, H. Nishikawa, H. Fujita & Y. Tamura: *Front. Biosci.*, **13**, 6214 (2008).