



東京大学
THE UNIVERSITY OF TOKYO



国立研究開発法人
日本医療研究開発機構



平成 28 年 12 月 1 日

東京大学 医科学研究所
Tel：03-5449-5601（総務チーム）
国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）
Tel：03-6870-2245（企画・広報グループ）
国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）
Tel：03-5214-8404（広報課）

培養細胞で高い増殖能を持つ B 型インフルエンザウイルスの作出に成功 ～より迅速に、効率よく季節性ワクチンを製造することが可能に～

1. 発表者：

河岡 義裕（東京大学医科学研究所 感染・免疫部門ウイルス感染分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ 培養細胞で高い増殖能を持つ B 型インフルエンザウイルスを作出した。
- ◆ 本研究グループがこれまでに開発した A 型インフルエンザウイルス高増殖株と今回開発した B 型インフルエンザウイルス高増殖株をワクチン製造に利用することで、季節性インフルエンザワクチンを効率よく生産することが可能になる。
- ◆ 従来の鶏卵ワクチンに見られたようなワクチン製造過程で起きる抗原変異による有効性低下の懸念がない季節性インフルエンザワクチンを迅速に供給することが可能になる。

3. 発表概要：

東京大学医科学研究所感染・免疫部門ウイルス感染分野の河岡義裕教授らの研究グループは、培養細胞で高い増殖能を持つ B 型インフルエンザウイルス（注 1、図 1）の開発に成功しました。

現行の季節性インフルエンザワクチンは発育鶏卵（注 2）で増やしたウイルスから製造されていますが、その増殖過程でウイルスの主要抗原であるヘマグルチニン（HA）に変異が入るとワクチンの有効性が大きく低下することが知られています。抗原変異が起きにくい培養細胞を用いてワクチンを製造することで、この問題を回避することが可能ですが、培養細胞における季節性インフルエンザウイルスの増殖能の低さが大きな問題となっていました。

本研究グループが 1999 年に開発した「リバースジェネティクス法」（注 3、図 2）を用いて、多様な B 型インフルエンザウイルス株からなる変異体集団（変異ウイルスライブラリ）を人工的に作出しました。そして、その変異ウイルスライブラリから培養細胞で高い増殖能を持つ B 型インフルエンザウイルス株を選別しました。次に、この B 型インフルエンザウイルス高増殖株を母体に野外で流行しているウイルスの主要抗原を入れたウイルス株を作製し、その増殖能を解析しました。その結果、このウイルス株は細胞培養ワクチンの製造でよく利用されている培養細胞において効率よく増殖することが判明しました。

本研究の成果によって、従来の鶏卵ワクチンに比べ高い有効性が期待できる細胞培養ワクチンをより迅速に製造供給することが可能になります。

本研究成果は2016年12月5日（米国東部時間 午後3時）、米国科学雑誌「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」のオンライン速報版で公開されます。

なお本研究は、東京大学と米国ウィスコンシン大学が共同で行ったものです。本研究成果は、科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業（平成20年度～平成26年度）、日本医療研究開発機構（AMED）革新的先端研究開発支援事業（平成27年度以降）、文部科学省新学術領域研究などの一環として得られました。

4. 発表内容：

① 研究の背景・先行研究における問題点

A型およびB型インフルエンザウイルス感染によって発症する季節性インフルエンザの予防には、ワクチン接種が最も有効であると考えられています。季節性インフルエンザワクチンを注射すると、ウイルスの主要抗原に対する抗体が体内に産生され、それによってインフルエンザの発症や重症化を防ぐことができます。季節性インフルエンザワクチンは発育鶏卵で増やしたウイルスから製造されていますが、鶏卵で季節性インフルエンザウイルスを増やすとウイルスの主要抗原であるHAに変異が入り、その抗原性が大きく変化してしまいます。ワクチン製造で使われるウイルス（ワクチン株）と野外で流行するウイルス（流行株）との間で抗原性が一致しないと、ワクチンの予防効果が弱まることが知られています。

この問題を根本的に解決するためには、ワクチン製造用の培養基材を発育鶏卵から哺乳類由来の培養細胞に変える必要があります。一部の海外ワクチン製造会社は、既に細胞培養ワクチンを製造販売しており、国内の製造会社もその実用化に向けて準備を進めています。しかし、季節性インフルエンザウイルスは培養細胞での増殖能が低いことから、細胞培養ワクチンの生産性の低さが大きな問題となっていました。

本研究グループは、これまでに培養細胞で高い増殖能を持つA型インフルエンザウイルス株の作出に成功し、生産効率の高い細胞培養ワクチンの開発を前進させる研究成果を報告しています。しかし、より迅速に、かつ十分な量の季節性インフルエンザワクチンを供給するには、細胞培養ワクチン製造に適したB型インフルエンザウイルス高増殖株の開発が不可欠でした。

② 研究内容

B型インフルエンザウイルスは8種類の遺伝子を持っていますが（図1）、その中でヘマグルチニン（HA）遺伝子とノイラミニダーゼ（NA）遺伝子がワクチン抗原として重要な2種類のタンパク質（HAとNA）をコードしています。

本研究では、培養細胞で効率よく増殖するB型インフルエンザワクチン株のバックボーン（HA遺伝子とNA遺伝子を除く6種類の遺伝子、注4）を開発するために、B/Yamagata/1/73株（他のB型ウイルスと比べて培養細胞での増殖能が高い株）のバックボーンにさまざまな変異（ランダム変異）を導入した遺伝子を作製しました。ランダム変異を持つB/Yamagata株バックボーンをもとに多様なウイルス株からなる変異体集団（変異ウイルスライブラリ）を、リバーシジェネティクス法を用いて作出しました（図2、3）。

まず、変異ウイルスライブラリを細胞培養ワクチン製造でよく利用されているMDCK細胞（注5）およびVero細胞（注6）に感染させました。その後、増殖したウイルスを別の新たな細胞にまた感染させ、これを何度も繰り返すことで、高い増殖能を持つ複数のウイルス株を選択しました（図3）。選択されたウイルス株の遺伝子性状と増殖能を比較分析したと

ころ、5カ所の変異がB型ウイルスの増殖能を向上させることが判明しました。これらの変異を持つB/Yamagata株バックボーンとB型ウイルス流行株のHA遺伝子とNA遺伝子を持つハイブリットウイルスを作製し、Vero細胞、MDCK細胞、発育鶏卵における増殖能を調べました。その結果、いずれの培養基材でも変異を持つハイブリットウイルスは高い増殖能を示すことが確認されました（図4）。

③ 社会的意義

本研究で開発した特定の変異を持つB/Yamagata株バックボーンを使用することにより、B型インフルエンザウイルス流行株の主要抗原（HAとNA）を持つワクチン製造用高増殖株を短期間で作出することが可能になります。すなわち、理論的にはどのような流行株であっても2種類の主要抗原を入れ換えるだけで、流行株と抗原性が一致したワクチン製造用高増殖株を作出することが可能になります。

ワクチン製造会社は細胞培養ワクチンの実用化に向けて準備を進めていますが、現状ではウイルスの増殖能の低さが原因で十分な供給量を確保できず苦慮しています。本研究グループが以前に開発したA型インフルエンザワクチン株バックボーンと今回開発したB型インフルエンザワクチン株バックボーンをワクチン製造に利用することで、十分な量の季節性インフルエンザワクチンを、より迅速に製造することが可能になると期待されます。

季節性インフルエンザワクチンは発育鶏卵を用いて製造されていますが、その製造過程でウイルスの主要抗原に変異が入ることが知られています。したがって、ワクチン接種により抗インフルエンザ抗体ができたとしても、実際の流行株との反応性が弱まるためワクチンの有効性が低下します。変異の導入が最小限となる培養細胞で増殖したウイルス株を用いてワクチンを製造することで、従来の鶏卵ワクチンよりも有効性の高い季節性インフルエンザワクチンを供給することが可能になります。

5. 発表雑誌：

雑誌名：PNAS（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
12月5日オンライン版）

論文タイトル：Development of high-yield influenza B virus vaccine viruses

著者：河岡義裕

6. 注意事項：

日本時間12月6日（火）午前5時（米国東部時間：5日（月）午後3時）以前の公表は禁じられています。

7. 問い合わせ先：

＜研究に関するお問い合わせ＞

東京大学医科学研究所 感染・免疫部門ウイルス感染分野

教授 河岡 義裕（カワオカ ヨシヒロ）

Tel：03-5449-5310（海外出張中のため、なるべくメールでお問い合わせください）

E-mail：kawaoka@ims.u-tokyo.ac.jp

<報道に関するお問い合わせ>

東京大学医科学研究所 総務チーム

Tel : 03-5449-5601

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)

経営企画部 企画・広報グループ

Tel : 03-6870-2245

国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 広報課

Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho@jst.go.jp

<AMED の事業に関するお問い合わせ>

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)

戦略推進部 医薬品研究課

革新的先端研究開発支援事業 (インキュベートタイプ) 担当

〒100-0004 東京都千代田区大手町 1-7-1

Tel : 03-6870-2219 Fax : 03-6870-2244

E-mail : iyaku-leap@amed.go.jp

<JST の事業に関するお問い合わせ>

国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 戦略研究推進部

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 K's 五番町

Tel : 03-6380-9130 Fax : 03-3222-2066

E-mail : suishinf@jst.go.jp

8. 用語解説 :

(注 1) 季節性インフルエンザウイルス

2 種類の A 型インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm、香港型 A/H3N2) と B 型インフルエンザウイルスが季節性インフルエンザウイルスとして流行している。

(注 2) 発育鶏卵

鶏卵ふ卵器を使って受精卵を 10 日間程度ふ卵したもの。

(注 3) リバースジェネティクス法

8 つのインフルエンザウイルス遺伝子を発現するプラスミドと 4 つのインフルエンザウイルスタンパク質を発現するプラスミドを細胞に導入することで、感染性を持つウイルスを産生させる方法。プラスミドには自由に変異を導入することが可能であるため、人工的に変異を導入したウイルスを作出することができる。

(注 4) バックボーン

ワクチンの生産効率を上げるために、発育鶏卵あるいは培養細胞でよく増えるウイルス株 (高増殖株) と、野外で流行しているウイルス株 (流行株) との間でハイブリットウイルス

（ワクチン株）が作製される。ワクチン株の HA 遺伝子と NA 遺伝子は流行株に由来し、残りの 6 種類の遺伝子は高増殖株に由来する。高増殖株の 6 種類の遺伝子を総称してバックボーンと呼ぶ。

（注 5） MDCK 細胞

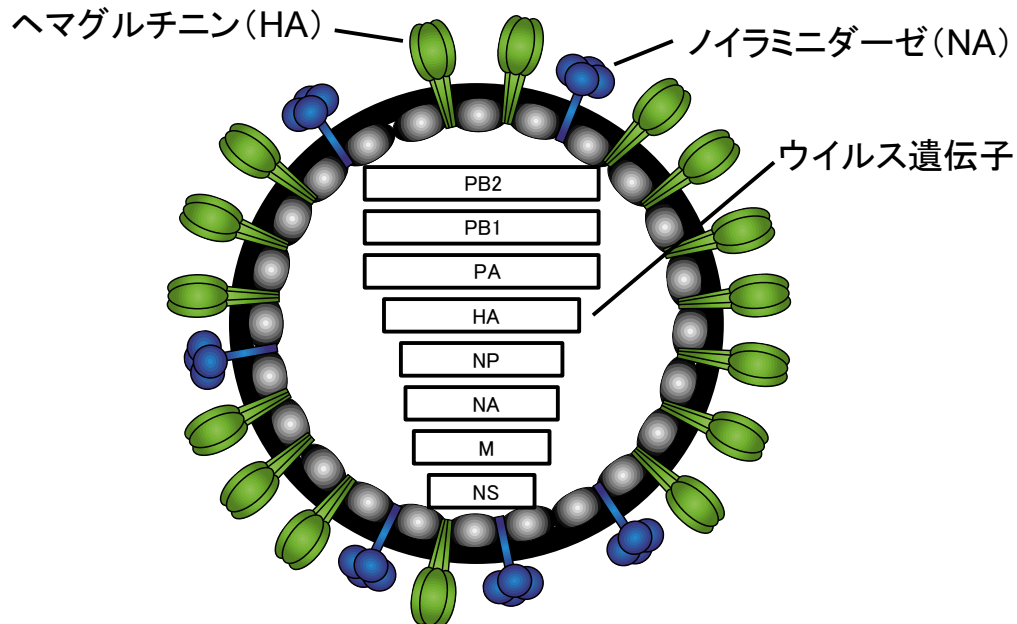
イヌ腎臓上皮細胞株 Madin-Darby canine kidney cell の略称。

（注 6） Vero 細胞

アフリカミドリザルの腎臓上皮細胞。

9. 添付資料：

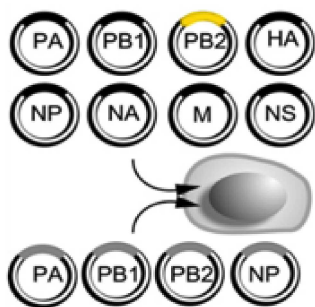
図1 B型インフルエンザウイルスの模式図



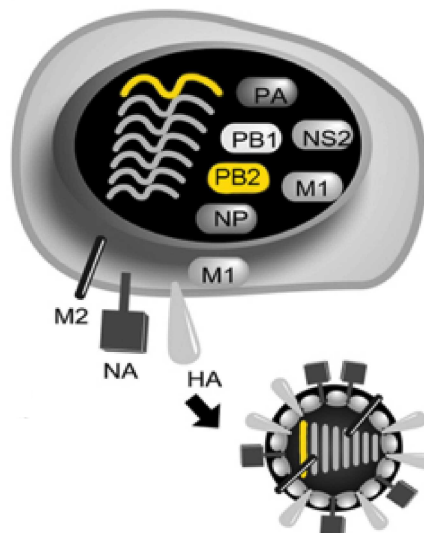
B型インフルエンザウイルスは8種類の遺伝子を持ち、その表面はワクチン抗原として重要な2種類の抗原(HAとNA)に覆われている。

図2 リバースジェネティクス法

インフルエンザウイルス遺伝子を発現するプラスミド

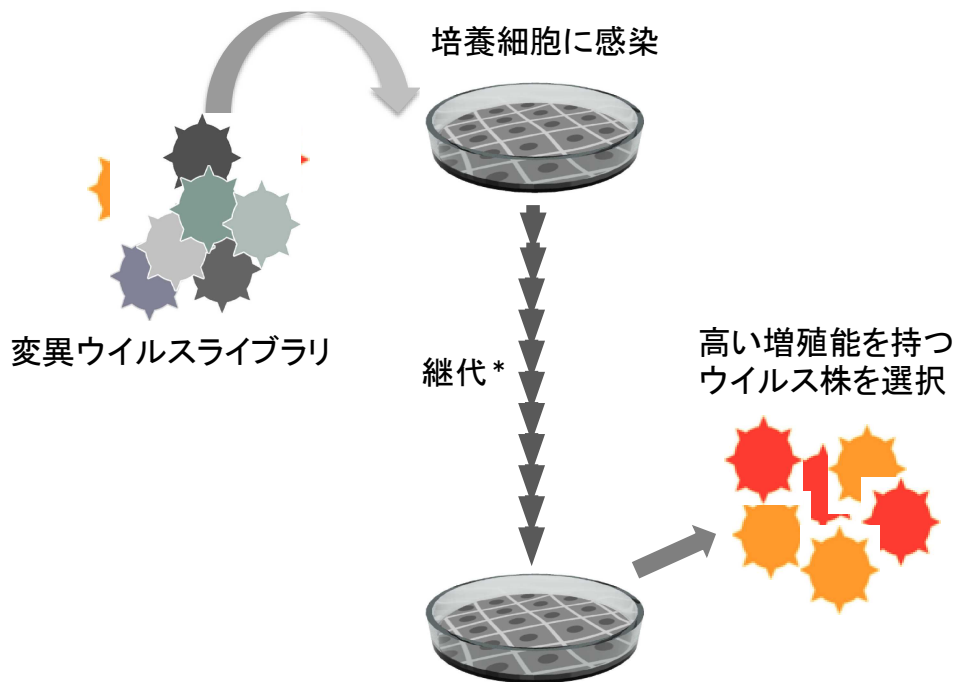


インフルエンザウイルスタンパク質を発現するプラスミド



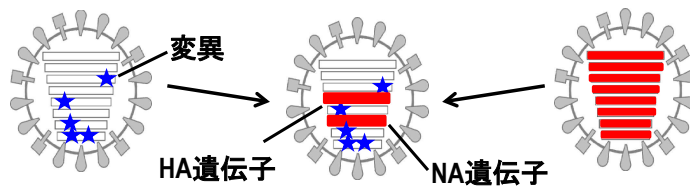
8種類のインフルエンザウイルス遺伝子を発現するプラスミドと4種類のインフルエンザウイルスタンパク質を発現するプラスミドを細胞に導入すると感染性を持つウイルスを産生させることができる。プラスミドは簡単に変異を導入することができるため、自由に人工的に変異を持つウイルスを作出することが可能である。

図3 培養細胞で高い増殖能を持つウイルス株の作製

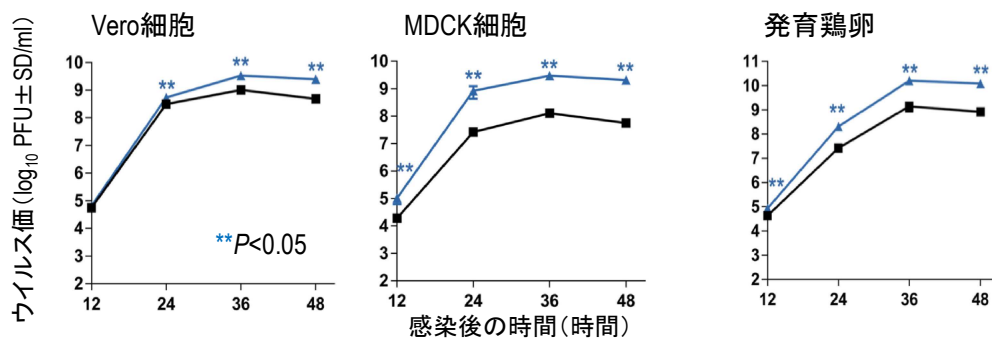


* 培養細胞にウイルスを感染させた後、細胞で増殖したウイルスを別の新たな細胞にまた感染させること

図4 野外で流行しているB型インフルエンザウイルスのHAとNAを持つウイルスの増殖曲線



5カ所の変異を持つB/Yamagata株バックボーン(左)をもとに、B型インフルエンザウイルス流行株(右)のHA遺伝子とNA遺伝子を入れたハイブリットウイルス(中央)を作製した。



5カ所の変異を持つハイブリットウイルス(青▲)と変異を持たないハイブリットウイルス(黒■)の増殖性状を比較した。縦軸はウイルス量を表す。PFUはプラーク形成単位を表す。