

図3 HSP65+IL-12 DNA ワクチンによるBCGより100倍強力な抗結核ワクチン効果(マウス)とサイトカイン(IFN- γ)産生キラーT細胞増強効果

異的キラーT細胞誘導活性, IL-2産生増強と相関した^{1,3,5)}(IFN- γ DNAも治療ワクチン効果)。

② Condosらは多剤耐性結核の5症例に対して, IFN- γ の吸入療法を試みた。5例中4例で喀痰塗抹で菌陰性化した。しかし, 治療中止1カ月後より再度陽性となった。また, 胸部CTでは1例で有意な改善, 1例で軽度改善, 3例で空洞の縮小が観察された。

③ 肺結核患者に, IL-12投与を行い有効例が報告されている。

④ サイトカインIFN- γ , IL-2, IFN- α やG-CSFを多剤耐性結核患者に投与し, 投与期間中のみ排菌数が減少した。

5. 肉芽腫形成とサイトカイン

結核性肉芽腫の形成にTNF- α の存在がもっとも重要である。近年新しい抗リウマチ薬としてモノクローナル抗TNF- α 抗体がRAに有効であるが, 多数の結核患者で発症することが報告されている。MCP-1やRANTESも肉芽腫形成に関与する。

新しい結核ワクチン

結核ワクチンは, ① サブユニットワクチン, ② DNAワクチン, ③ リコンビナントBCGワクチン(弱毒化結核菌を含む), その他に大別される(表1)^{10,11)}。

1. DNAワクチン

マウスではBCGワクチンをはるかに凌駕する新しい結核ワクチンはきわめて少ない。著者らはHVJ-リポソーム/HSP65 DNA + IL-12 DNA 予防ワクチンにてBCGワクチンの100倍強力なワクチンの開発に成功した。このワクチン効果は, IFN- γ , IL-2, IL-6の産生増強およびキラーT細胞分化誘導効果と相関した(図3)^{1,3,4)}。さらに, モルモットの結核菌エアゾルの感染の系でもBCGよりも強力な結核予防ワクチン効果を示すことを明らかにした。

2. リコンビナントBCGワクチン

PNN₂シャトルベクター(大腸菌 \leftrightarrow 好酸菌)に遺伝子を組み込み, BCG東京菌に遺伝子を導入した。BA51(Ag85A + Ag85B + MPB51)リコンビナントBCGや72f融合蛋白質のDNAを導入した72fリコンビナントBCGの作製に成功した。この72f rBCGはBA51rBCGと同程度のきわめて強力な結核菌に特異的なIFN- γ 産生T細胞数の増強を誘導することをElispot assay(KS-Elispot)で明らかにした^{1,3,4)}。

3. サブユニットワクチン

72f融合蛋白質(Mtb39とMtb32の融合蛋白質)のサブユニットワクチンは結核予防ワクチン効果を示し, ヒトの*in vitro*系でもMtb72f融合蛋白質は多剤耐性結核患者T細胞からのIFN- γ , IL-2, IL-6産生を増強することを明らかにした^{1,3,4)}。

4. 新しいヒト生体内抗結核免疫解析モデルSCID-PBL/hu(ヒト結核ワクチン解析モデル)の作製

著者らが世界に先がけて開発したSCID-PBL/huの系で結核患者リンパ球をSCIDマウスに生着させ, IL-6関連遺伝子を投与し, 結核菌に特異的なヒトキラーT細胞誘導を示す画期的な, 生体内ヒト免疫解析モデルを開発した^{1,3,4,7)}。

5. 新しいサイトカインDNA結核ワクチンの臨床応用

カニクイザル(cynomolgus monkey)で, もっともヒトの肺結核に近いモデルを用いBCGよりもはるかに強力な予防ワクチン効果(生存率, 赤沈, 体重, 肺の組織)を示すワクチン3種を開発した(図3)^{1,3,4)}。すなわち, 現在もっとも有力なものとしてHVJリポソーム/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン, r72f BCG ワクチンおよび72f fusion蛋白質サブユニットワクチンがあげられる。事実, 著者らはカニクイザルで結核感染後1年2カ月経過観察し, コントロール群

より著しく有効な、① HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン、② r72f BCG ワクチン、③ BCG Tokyo + 72f fusion 蛋白ワクチンを開発した。Ag85B-ESAT-6 融合蛋白質ワクチン、ワクシニアウイルスに 85A DNA を導入したワクチンや r85B BCG も clinical trial の候補ワクチンであるが、もっとも切れ味のするどい臨床応用ワクチン候補の筆頭として HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンがあげられる^{1,3,4)}。

WHO STOP TB Vaccine Group Meeting

これらの新しい結核ワクチンの開発研究が高く評価され WHO STOP TB Partnership および WHO STOP TB Vaccine Group Meeting に選出された。HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンが高く評価された。当センターは呼吸器疾患（結核を含む）準ナショナルセンターであり、日本の結核患者数の約 50% の診療を行っている政策医療呼吸器ネットワークを用い、サイトカイン DNA ワクチン（HSP65 DNA + IL-12 DNA）および r72f BCG ワクチンの臨床応用を計画している。

文献

- 1) 岡田全司：結核 “分子予防環境医学：生命科学研究の予防・環境医学への統合”（分子予防環境医学研究会編）。本の泉社，2003，pp.150-161.
- 2) Flynn, J. L. and Chan, J. : *Ann. Rev. Immunol.*, 19 : 93-129, 2001.
- 3) 岡田全司：厚生労働科学研究費補助金実績報告書 研究報告書，2004，pp. 1-140.
- 4) Okada, M. et al. : Thirty-Seventh Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 2002, pp. 171-175.
- 5) 岡田全司，岸本忠三：リンホカインとモノカイン，新内科学体系：年刊版'84-C（山村雄一・他監），中山書店，1984，p.221.
- 6) 岡田全司：サイトカインと腫瘍免疫，新医科学大系 8B：免疫応答-生体の防御機構 II（石井威望・他編），中山書店，1996，p.269.
- 7) Tanaka, F. et al. : *Cancer Res.*, 57 : 1335-1343, 1997.
- 8) Okada, M. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78 : 7718-7721, 1981.
- 9) Okada, M. et al. : *J. Exp. Med.*, 157 : 583-590, 1983.
- 10) Hess, J. et al. : *Adv. Immunol.*, 75 : 1-88, 2000.
- 11) Miki, K. et al. : *Infect. Immun.*, 72(4) : 2014-2021, 2004.

* * *

特集II 感染免疫における新知見

新たな結核ワクチン開発*

岡田全司** 田中高生**
 喜多洋子** 桑山さち子**
 金丸典子** 村木裕美子**
 橋元里実** 岡田知佳**
 福永有可里** 高井寛子**

Key Words : novel tuberculosis vaccine, DNA vaccine, recombinant BCG vaccine, cytotoxic T cell, clinical trial

はじめに

いまだに世界の人口の1/3が結核菌の感染を受け、その中から毎年800万人の結核患者が発生し、200万人が毎年結核で死亡している、最大の感染症のひとつである(図1)^{1)~4)}。本邦でも1998年から結核罹患率の増加が認められ、1999年7月26日“結核緊急事態宣言”が厚生省より出された。1998年、米国CDCは結核に対し、政府・学術機関・企業が一体となって新世代の結核ワクチン開発の必要性を強く主張する発表をした。また、ACETは国民の健康に対する大敵である結核撲滅のためには、BCGに代わる有効なワクチンが必要であることを示した。しかしながら、BCGに代わる結核ワクチンは欧米でも臨床応用には至っていない。われわれはBCGよりもはるかに強力な新しいサブユニットワクチン、DNAワクチンやリコンビナントBCGワクチンの開発に成功した^{5)~9)}。したがって、新しい抗結核ワクチン開発と結核感染免疫におけるキラーTの機能解明についても述べる⁹⁾¹⁰⁾。

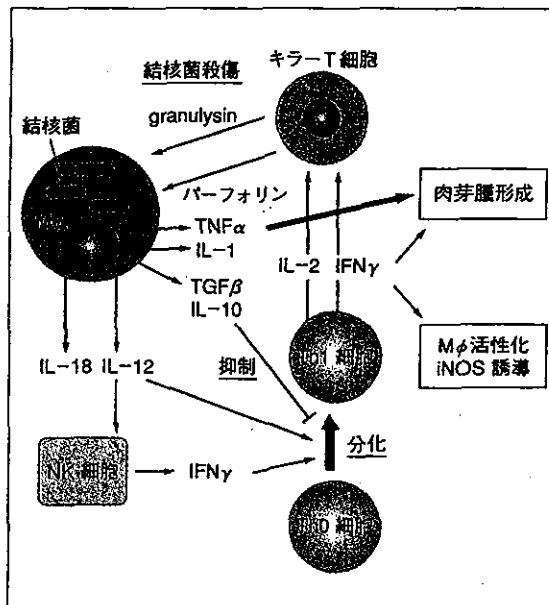
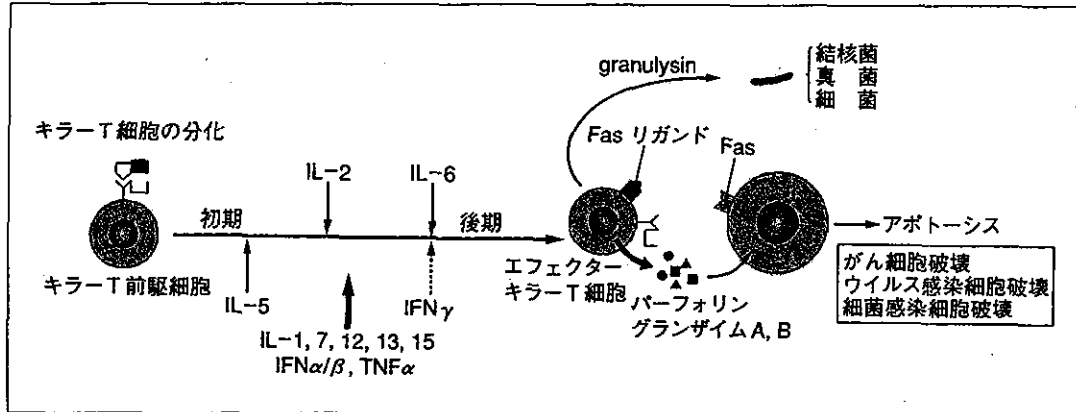


図1 抗結核免疫とマクロファージ、ヘルパーT細胞、キラーT細胞活性化¹⁾²⁾
 Mφ: マクロファージ

結核感染と免疫

結核感染に対する免疫力はMφ, CD4⁺T細胞, NK細胞, γ/δT細胞, キラーT細胞(CD8⁺TとCD8⁻T)および肉芽腫形成の総合的な抵抗力である(図1)。また、1998年Natureに結核菌H37Rvゲ

* The development of novel vaccines against tuberculosis.
 ** Masaji OKADA, M.D., Ph.D., Takao TANAKA, Yoko KITA, Sachiko KUWAYAMA, Noriko KANAMARU, Yumiko MURAKI, Satomi HASHIMOTO, Chika OKADA, Yukari FUKUNAGA. & Hiroko TAKAI: 独立行政法人国立病院機構近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター(☎591-8555 堺市長曾根町1180); Clinical Research Center, National Hospital Organization, Kinki-Chuo Chest Medical Center, Sakai 591-8555, JAPAN

図2 キラーT細胞活性化と細胞傷害機構²⁾

ノム全塩基が掲載され、遺伝子レベルで結核免疫を解析しうることになった¹¹⁾。

1. キラーT細胞(CD8⁺T細胞)

CD8あるいはβ₂ミクログロブリン遺伝子やTAP遺伝子ノックアウトマウスでは抗結核免疫が十分でなく、動物は死亡する。すなわち、結核におけるCD8⁺T細胞はマウスで抗結核免疫に重要である(図2)。

キラーTのひとつの役割としてγ-IFNを分泌して抗結核免疫に寄与するが、次に述べる結核感染Mφを殺して、結核菌の増殖の場をなくし結核菌を殺す役割の方が重要である。最近、CD8⁺T細胞が結核菌で感染したMφをFas-independent, granule-dependentの機構で溶かし、最終的には結核菌を殺すことが報告されている¹²⁾¹³⁾。このT細胞はCD1-restrictedでミコール酸, LAM, phosphatidyl inositol mannoside, glucose monomycolate, isoprenoid glycolipid (Cd1cと結合)などの結核菌lipidとlipoglycanを認識する。このキラーTの顆粒内の蛋白であるgranulysinは直接細胞外の結核菌を殺す。この機序は結核菌細胞膜を不完全な状態にすることによる。Granulysinは病原細菌, 真菌, 寄生虫の生存を減少させる。さらにパーフォリンとの共存下でMφ内の結核菌も殺すと考えられている。これはパーフォリンよりMφに穴が開き、Mφ内の結核菌に直接granulysinが作用するためと思われる。われわれは結核患者、とくに多剤耐性結核患者ではキラーTリンパ球のmRNAの発現および蛋白の発現が低下して

いることを明らかにした⁹⁾。すなわち、われわれはキラーT細胞のgranulysin(分子量9,000)産生低下が多剤耐性結核発症と大きな関連があるのではないかと考えている。一方、キラーTのTRAILとパーフォリンが抗結核免疫に重要である興味深い結果を得た。

一方、MHCクラスI拘束性の結核菌の38kDa蛋白, HSP65蛋白を認識するマウスCD8⁺キラーTや19kDa蛋白, Ag85, CFP10(Mtb11)を認識するヒトCD8⁺キラーTが報告されている³⁾。ESAT-6抗原に対するキラーTでHLA-A2とは82~90位の9個のアミノ酸AMASTEAGNVが結合してキラーT細胞がこれらを認識する。われわれは世界に先駆けて確立した、ヒト生体内結核免疫応答解析モデルSCID-PBL/huに、このESAT-6ペプチドを投与し、これに特異的でHLA-A2拘束性を示すヒトキラーTを生体内で誘導することに初めて成功した²⁾⁷⁾¹⁴⁾(図3)。

Reed S, Alderson MRらは結核菌に対するヒトCD8キラーTクローンを確立したが、HLA-A, B, C, DR, DQ, CD1に拘束性を示さないnonclassically restrictedキラーTとclassically restrictedなキラーTクローンの二種を確立した。またI-E領域に拘束性の結核特異的キラーTも報告された。

2. キラーT細胞分化とサイトカイン(キラーT細胞分化因子)

筆者らはCD8⁺キラーT細胞(Tc)の誘導にはヘルパーT細胞(Th細胞)から産生されるサイトカ

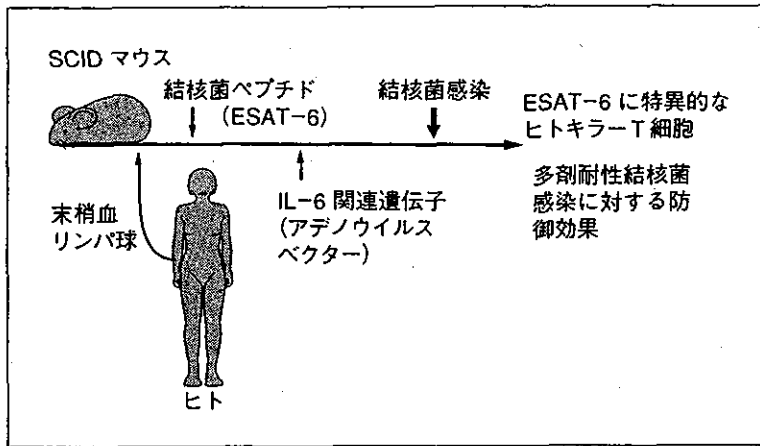


図3 SCID-PBL/huマウスを用いた結核菌ペプチドに特異的なヒトキラーT細胞のin vivoにおける誘導²⁾

インが必要であることをはじめ明らかにした。クラスII抗原を認識しキラーT細胞分化因子を産生するTh細胞はCD4⁺CD8⁻であり、クラスI抗原を認識しキラーT細胞分化因子を産生するTh細胞はCD8⁺である。また、モノクローナル抗IL-2抗体を用いて、IL-2はキラーT細胞誘導に必要な因子のひとつであることを示した¹⁵⁾(図2)。

さらに、IL-2とは異なるサイトカインもT細胞分化誘導に必要であることをキラーT細胞分化因子を産生するヒトT細胞ハイブリドーマ、およびIL-2依存性ヒトThクローンを世界に先駆けて確立し明らかにした。その解析の結果、IL-6、IFN- γ がキラーT細胞分化因子として強力なキラーT分化を誘導することを明らかにした^{16)~18)}。筆者らはIL-6がTc誘導の後期の分化段階に作用することを解明した¹⁸⁾(図2)。多剤耐性結核患者PBLにおいて、これらのキラーT細胞分化因子すなわちIL-2、 γ -IFN、IL-6の著明な低下を認め^{5)6)8)~10)}(表1)。また、糖尿病合併難治性結核患者ではPPD特異的キラーTの分化誘導の著しい低下を明らかにした^{5)6)8)~10)}。

3. サイトカインと結核免疫

抗結核免疫にIFN- γ 、TNF- α 、IL-6、IL-12が重要であることは解析されている(岡田結核文献²⁾参照)。

4. マクロファージ(M ϕ)

結核菌の増殖場所はM ϕ 内である。一方、M ϕ は異物貪食能と細胞内殺菌能および抗原提示能をもつ。したがって結核菌が優位に立つか、ヒ

ト(生体)が優位に立つかの戦争でもある(詳細は岡田結核文献²⁾と文献³⁾参照)。

5. Toll-like受容体とマクロファージ活性化

最近発見されたToll-like receptor (TLR)ファミリーがinnate immunityの重要な役割を果たしている¹⁹⁾。結核菌のcell wall (LAM, mAGP, total lipid)による応答はTLR2を介する。一方、結核生菌に対する反応にはTLR2とTLR4が必要である。病原株の*M. tuberculosis*由来のMan LAMはM ϕ を活性化しないが、非病原性の抗酸菌は異なるglycolipid Ara LAMよりなり、これはTLR2を介してM ϕ を活性化する。この差が発病の差となる可能性もある。結核菌体成分19kDaのlipoproteinがTLR2を介してM ϕ を活性化する²⁰⁾。また、抗酸菌DNAから見出されたCpGモチーフ(パリンドローム配列)は感染防御免疫能増強することが示されていたが、CpGレセプターに対するTLR9が審良らによりクローニングされた。

6. Th1リンパ球, Th2リンパ球

CD4⁺T細胞が結核免疫に重要であることはMHCクラスII^{-/-}マウスやCD4^{-/-}マウス抗CD4抗体投与マウスで明らかとなっている²¹⁾(Th1細胞と結核免疫については岡田結核文献²⁾参照)。

新しい結核ワクチン

結核ワクチンは①サブユニットワクチン、②DNAワクチン、③リコンビナントBCGワクチン(弱毒化結核菌を含む)、そのほかに大別され

る(表1)。

DNAワクチンのベクターとしては、①gene gun ②プラスミド③アデノウイルスベクター④HVJリポソーム④改良型HVJエンベロープベクターを計画中である²⁻⁹⁾²¹⁾。α抗原(Ag85B), ESAT-6, 種々のサイトカイン, HSP65, 38kDa, Mtb32, Mtb39, MDP1などについて, サブユニットワクチン, DNAワクチン, リコンビナントBCGワクチンの形で, 多くの報告が主にマウスの結核感染の系でなされている²²⁾²³⁾。

Reed博士らはT細胞結核免疫を誘導する蛋白質抗原遺伝子のクローニングを迅速かつ, 絨緞爆撃的に行える画期的な系を開発した²⁴⁾。

マウスではBCGワクチンをはるかに凌駕する新しい結核ワクチンはきわめて少ない。われわれはHSP65 DNA+IL-12 DNA予防ワクチンにてBCGワクチンの100倍強力なワクチンの開発に成功した⁶⁾⁷⁾⁹⁾(表2)。一方, 長崎大学山田博士, 大原博士らは, キラーT細胞誘導結核菌蛋白質抗原遺伝子やサイトカイン遺伝子をBCG菌に導入

表1 新しい結核ワクチン²⁾

1. サブユニットワクチン	Mtb72f融合タンパク質 85B-ESAT-6融合タンパク質 α抗原(Ag85B), Ag85A, MPB51, ESAT-6, Hsp65 リコンビナントサイトカイン(IFN γ など)(吸入・注射) 新しい結核菌タンパク質抗原 Mtb32, Mtb39 その他
2. DNAワクチン	Hsp65 DNA, IL-12遺伝子, Hsp70 DNA, ESAT-6DNA, IL-6遺伝子, IL-6遺伝子+IL-6R遺伝子+gp130遺伝子, IFN γ 遺伝子, Mtb72f遺伝子, IL-15遺伝子, IL-18遺伝子, M-CSF遺伝子, 38kD DNA, キラーT細胞誘導結核菌タンパク質抗原遺伝子, CD40L遺伝子, MPT64 DNA, MPT63 DNA, Kat G DNA, 上記の新しい結核菌タンパク質抗原遺伝子
3. リコンビナントBCGワクチン	Mtb72f遺伝子 Ag85A遺伝子, Ag85B遺伝子, Ag85C遺伝子, MPB51遺伝子, MDP-1遺伝子, HSP65遺伝子 IL-6遺伝子, IFN γ 遺伝子, IL-2遺伝子, IL-12遺伝子, IL-18遺伝子 キラーT細胞誘導結核菌タンパク質遺伝子
4. 弱毒化結核菌	弱毒化サルモネラ菌に結核免疫増強DNA導入し, 経口ワクチン 弱毒化リステリア菌に結核免疫増強DNA導入し, 経口ワクチン
5. キラーT細胞移入	

表2 新しい結核ワクチンの開発

(1)DNAワクチン	BCGより有効
HVJ-liposome/HSP66 DNA+IL-12 DNA	(マウス, モルモット, カニクイザル)
(2)リコンビナントBCGワクチン	BCGより有効
①リコンビナント72f BCG	(マウス, モルモット, カニクイザル)
②リコンビナント(Ag85A+85B+MPB51)BCG	BCGより有効(マウス)
(3)サブユニットワクチン	BCGより有効(カニクイザル)
Mtb 72f融合タンパク	多剤耐性結核患者T細胞機能増強活性(+) Phase I Study
(4)治療ワクチン	
IL-6 related DNA(マウス)	
(5)Priming-Booster Method	
BCG(priming)+新しいワクチン(booster)(カニクイザル)	
(6)遺伝子ノックアウトattenuatedリステリアを用いた新しい結核ワクチン(経口)	
(7)新しいベクター	
AAVベクター(1000倍発現高率↑), Adenovirusベクター	
—WHO STOP TB Partnership及びWHO STOP TB Vaccines Working Groupに選出	

するPNN2シャトルベクター(大腸菌⇄好酸菌)を用いてリコンビナントBCGワクチンを作製した。この方法はBCG自身にアジュバント作用があり、BCGがベクターとしての働きもかねている。

1. DNAワクチン

われわれは①HSP65 DNA+IL-12 DNAのワクチンが相乗効果を示し、gene gunを用いた遺伝子投与でBCGよりもきわめて強力な(約100倍)結核予防ワクチンであることを明らかにした(自治医科大学吉田博士との共同研究)(表2)。IL-12のp35およびp40をCMVプロモーター下流域に挿入した発現プラスミドを作製した。さらに、ヒト型結核菌H37RV由来HSP65 DNAワクチンの作製に成功した(図4)。

HVJリポソームをベクターに用いた場合、HSP65

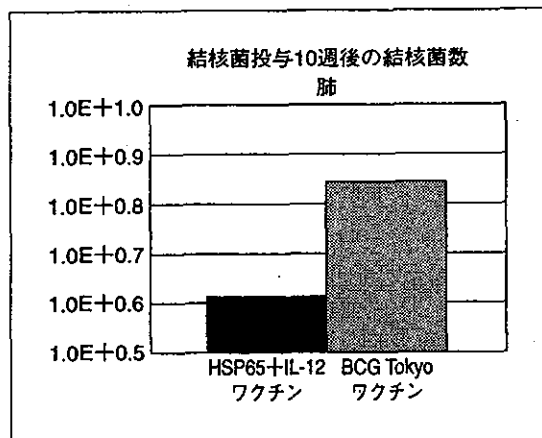


図4 HSP65DNA+IL-12 DNAワクチンによるBCGより100倍強力な抗結核ワクチン効果(マウス)²⁾

DNA単独(HVJリポソーム/HSP65)でBCGよりも有効であることをマウスの系で明らかにした(大阪大学医学部金田博士との共同研究)(表3)。また、後述のHSP65リコンビナントBCGで初回免疫しHVJリポソーム/HSP65 DNAで追加免疫をかけるpriming-booster法がより有効であることを明らかにした。

アデノウイルスベクター(E1a, E1b, E3領域を欠損させたヒト5型アデノウイルスベクターで、非増殖性・非感染性に優れたベクター)に導入したIL-6関連遺伝子(IL-6遺伝子+IL-6レセプター遺伝子+gp130遺伝子)ワクチンは、BCGよりも強力な治療ワクチン効果を示した(図5)。IL-6関連遺伝子ワクチンは、結核菌に対するキラーT細胞の分化・誘導およびTh1サイトカイン(IL-2およびIFN-γ)の産生誘導を介して抗結核効果を発揮した⁶⁾⁷⁾⁹⁾。

アデノウイルスベクターに導入したIFN-γ DNAもBCGよりも強力な治療・予防ワクチン効果を示した⁶⁾⁷⁾⁹⁾。

以上4つのワクチン効果は、キラーT細胞やTh1細胞の分化誘導を増強することによって発揮されることが示された⁶⁾⁷⁾⁹⁾。まとめると、結核死菌を貪食させたJ774.1Mφを標的細胞とし、ワクチン投与後結核感染させたBALB/cマウスの脾細胞をPPDや結核菌で*in vitro*で再刺激し、エフェクター細胞として反応させ、IFN-γの産生でキラー活性を測定した。その結果、ワクチン効果とキラー活性は見事な相関が認められることを明らかにした。

表3 カニクイザルにおけるHVJ-liposome/HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチン、リコンビナント72fBCGワクチンおよびMtb72f融合タンパクサブユニットワクチンによる抗結核効果

予防ワクチン	結核予防ワクチン効果	延命効果	血沈改善	体重増加	胸部X線所見改善	免疫反応
						リンパ球増殖反応増強
①HVJ-liposome/HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチン	++	++	++	+	+	++ +
②リコンビナント72f BCGワクチン	++	++	+	+	+	+
③72f融合タンパクワクチン	++	++	+	±	++	++
④コントロール(生食)	-	-	-	-	-	-

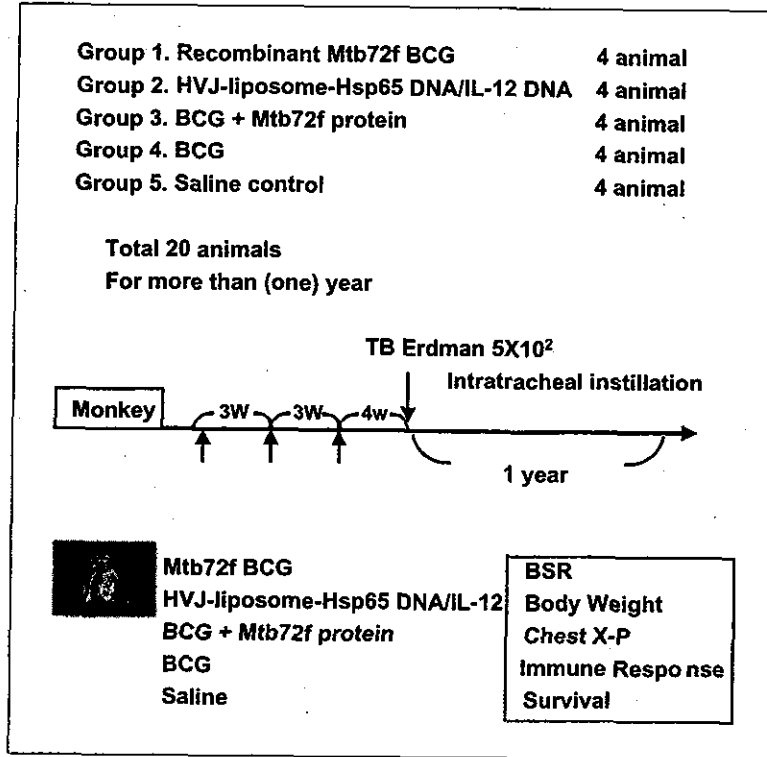


図5 カニクイザル(ヒトの結核感染にもっとも近いモデル:文献²⁸⁾)を用いた新しい結核ワクチン予防効果研究のプロトコール

一方, Huygenらは, Ag85AのDNAワクチンを用い, マウスで抗原特異的キラーT細胞(CTL)が誘導されることや, BCG免疫と同等の防御効果が得られることを明らかにした²⁶⁾.

2. リコンビナントBCGワクチン

結核菌は300種以上の蛋白質を分泌するが, α 抗原Ag 85Bとそのファミリー(85A, Ag85C)DNAをリコンビナントBCGに使用した. Ag85Bは285アミノ酸からなり40アミノ酸のシグナルペプチドをもつ²⁵⁾.

これらの遺伝子をPNN2シャトルベクター(大腸菌 \leftrightarrow 好酸菌)に組み込みBCG東京菌に, 遺伝子を導入した. われわれはBA51(Ag85A+Ag85B+MPB51)リコンビナントBCGはBCGよりも強力なワクチンであることを静脈感染の系および気道感染の系で明らかにした. さらにAg85BリコンビナントBCGワクチン, Ag85AリコンビナントBCGワクチンやMDP1リコンビナントBCGワクチンでもBCG東京菌よりも強力なワクチン効果

を得た⁶⁾⁷⁾⁹⁾. また, 結核菌の増殖がきわめて遅いことを調節するDNA結合蛋白質MDP1(結核免疫抗原性もAg85Bより強い)をコードする遺伝子をBCGに組み込みrBCGを作製し, BCG東京菌よりも強力なワクチン効果を得た. さらに最近, サブユニットワクチンでサルレベルで強力な予防効果が得られたMtb72f融合蛋白質のDNAを導入した72fリコンビナントBCGの作製に成功した. この72f rBCGはBA51 rBCGと同程度のきわめて強力な結核菌に特異的なIFN- γ 産生T細胞数の増強を誘導することをELISPOT(enzyme-linked immunospot) assayで明らかにした.

3. サブユニットワクチン

Mtb72f融合蛋白質(Mtb39とMtb32の融合蛋白質)のサブユニットワクチンはマウス, モルモットの系で結核予防ワクチン効果を示した²⁵⁾. われわれはヒトの*in vitro*系でもMtb72f融合蛋白質を用いて免疫応答が増強することを示した(Reed博士らとの共同研究). そのほかにも種々の結核菌

蛋白質抗原遺伝子のクローニングに成功し、サブユニットワクチン(Mtb72f, 39, 32, 8.4, 11, 41, 9.9, 16, 40, 31f, 71f)で*in vitro*刺激したところ、多剤耐性結核患者のT細胞免疫能が増強した⁶⁾(表2)。

また、多剤耐性結核患者にIFN- γ 吸入療法を行い、投与期間中の多剤耐性結核菌の消失を認めている。しかしながら、IFN- γ 投与を中止すると再び多剤耐性結核菌が喀痰中に認められた。

一方、Anderson Pらは85B-ESAT51のfusion蛋白質ワクチンがマウスとモルモットでBCGよりやや劣るが同程度に有効であることを報告している。

4. 遺伝子ノックアウトattenuated(弱毒化)菌体を用いた結核ワクチン

ある結核菌遺伝子を欠失させて弱毒化した結核菌をワクチンにする方法がある。われわれは(浜松医科大学小出教授と)さらに、akt遺伝子を欠失させた無毒化リステリア菌にAg85A-, 85BB-, MPB51-DNAを導入し新しい結核ワクチンを開発した²⁷⁾。このワクチンは経口ワクチンとして応用できる利点がある。

これらの1.~4.の新しい結核ワクチンの開発研究が高く評価されWHO STOP TB PartnershipおよびWHO STOP TB VACCIENE GROUP MEETINGに選出された。

新しいヒト生体内抗結核免疫解析モデルSCID-PBL/hu (ヒト結核ワクチン解析モデル)の作製

われわれが世界に先駆けて開発したSCID-PBL/huの系で結核患者リンパ球をSCIDマウスに生着させ、結核菌蛋白質に特異的なヒトキラーT細胞誘導を示す画期的な、生体内ヒト免疫解析モデル(ヒト結核ワクチン効果解析モデル)を開発した⁶⁾⁷⁾⁹⁾²²⁾(図4)。

新しい結核ワクチンの臨床応用

カニクイザル(cynomolgus monkey, もっともヒトの肺結核に近いモデル, 文献²⁸⁾参照)を用いBCGよりもはるかに強力な予防ワクチン効果(生存率, 血沈, 体重, 肺の組織)を示すワクチン3種を開発した(図5, 表3)。すなわち, 現在もっとも有力なものとしてHVJリポソーム/HSP65

DNA+IL-12 DNAワクチン, r72f BCGワクチンおよびMtb72f fusion融合蛋白質サブユニットワクチンがあげられる。(岡田, Reed博士, Tan博士ら, カニクイザルで共同研究)。事実, われわれはカニクイザルで結核感染後1年で, コントロール群(生食投与群)では4匹中4匹死亡(0%生存)したが, HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチン投与群は, 4匹中2匹生存(50%生存), r72f BCGワクチンで4匹中3匹生存(75%生存), BCG Tokyo+72f fusion蛋白で4匹中4匹生存(100%)生存を認め, これらのワクチン効果をサルレベルで認めた(2003年第1回国際結核ワクチン学会)(表3)。Ag85B-ESAT-6融合蛋白質(Anderson博士ら)も報告されているが, モルモット, サルでは効果は不明である。一方HuygenのAg85A DNAワクチンはマウス・モルモットで有効であったがサルの結核感染予防に対し有効でなかったという(2002年第4回World Congress on Tuberculosis)ワクシニアウイルスに85A DNAを導入したワクチンやr85B BCG(Horowitzら)もclinical trialに近い将来考えられている。もっとも切れ味のするどい臨床応用ワクチン候補の筆頭としてHSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンがあげられる。BCG+Mtb72f融合蛋白質サブユニットワクチンは, 第I相臨床試験が計画されている。さらに, われわれはHSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンと72f融合蛋白ワクチンやリコンビナント72f BCGワクチンを組み合わせ, きわめて強力なワクチン開発を目指している^{5)~7)}。

おわりに

当国立療養所近畿中央病院は呼吸器疾患(結核を含む)準ナショナルセンターとなった。日本の結核患者数の43%の診断・治療を行っている, 国立病院・療養所54施設を統括し, 国立病院・療養所政策医療呼吸器ネットワークを用い結核の新しい予防・治療法の確立が進展している。

サルにおいては72fワクチンHSP65 DNA+IL-12 DNA/HVJ-liposomeワクチンおよびr72f BCGワクチン72f融合蛋白ワクチンが明らかに優れていることより, これらのワクチンが結核の発症予防や治療に役立つ日が来るであろう。

文 献

- 1) 螺良英郎, 山中正彰, 岡田全司. 結核菌の逆襲, 再興感染症としての結核症(解説). 感染・炎症・免疫 1998; 3: 192.
- 2) 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子. 結核感染・新しい結核ワクチンの開発「感染症発症の分子機構—宿主と病原体の分子の攻防」. Molecular Medicine 2002; 39: 144.
- 3) Flynn JL, Chan J. Immunology of Tuberculosis. Annu Rev Immunol 2001; 19: 93.
- 4) Schluger NW, Rom WN. The host immune response to tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 1998; 157: 679.
- 5) 岡田全司. 新しい結核ワクチン. 最新医学 2002; 57: 1942.
- 6) 岡田全司. 抗結核キラーTリンパ球とリコンビナントBCG・DNA-ワクチンの開発による新しい予防・診断・治療法(H-11-新興-2), 厚生科学研究費補助金実績報告書・研究報告書. 2001. p. 1.
- 7) Okada M, Tanaka T, Inoue Y, et al. Novel (recombinant BCG- and DNA-) vaccination against tuberculosis. Thirty-Seventh Tuberculosis and Leprosy Research Conference [abstract] 2002; 171.
- 8) Gillis S, Okada M. New therapy, diagnosis and protection using recombinant BCG, DNA- Vaccination and cytotoxic T lymphocytes against Mycobacterium Tuberculosis. New vaccine and new diagnosis. 平成12年度新興・再興感染症研究推進事業研究報告集, 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団. 2001. p. 355.
- 9) 岡田全司, 岸本忠三. リンホカインとモノカイン. In; 山村雄一, 織田敏次, 黒岩義五郎, ほか・監. 新内科学体系; 年刊版 '84-C. 東京: 中山書店; 1984. p. 221.
- 10) 岡田全司. サイトカインと腫瘍免疫. In; 石井威望, 岡 博, ほか・編. 新医科学大系8B; 免疫応答—生体の防御機構II. 東京: 中山書店; 1996. p. 269.
- 11) Cole ST, Brosch R, Parkhill J, et al. Deciphering the biology of Mycobacterium Tuberculosis from the complete genome sequence. Nature 1998; 93: 537.
- 12) Stenger S, Mazzaccaro RJ, Uyemura K, et al. Differential effects of cytolytic T cell subsets on intracellular infection. Science 1997; 276: 1684.
- 13) Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, et al. An Antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. Science 1998; 282: 121.
- 14) Tanaka F, Abe M, Akiyoshi T, et al. The anti-human tumor effect and generation of human cytotoxic T cells in SCID mice given human peripheral blood lymphocytes by the *in vivo* transfer of the Interleukin-6 gene using adenovirus vector. Cancer Res 1997; 57: 1335.
- 15) Okada M, Klimpel GR, Kuppers RC, et al. The differentiation of cytotoxic T cells in vitro, I. Amplifying factor(s) in the primary response is Lyt1 + cell dependent. J Immunol 1997; 122: 2527.
- 16) Okada M, Yoshimura N, Kaieda T, et al. Establishment and characterization of human T hybrid cells secreting immunoregulatory molecules. Proc Natl Acad Sci USA 1981; 78: 7718.
- 17) Okada M, Sakaguchi N, Yoshimura N, et al. B cell growth factors and B cell differentiation factor from human T hybridomas. Two distinct kinds of B cell growth factor and their synergism in B cell proliferation. J Exp Med 1983; 157: 583.
- 18) Okada M, Kitahara M, Kishimoto S, et al. IL-6/BSF-2 functions as a killer helper factor in the *in vitro* induction of cytotoxic T cells. J Immunol 1988; 141: 1543.
- 19) Akira S. Toll-like receptor and innate immunity. Adv Immunol 2001; 78: 1.
- 20) Brightbill HD, Libraty DH, Krutzik, et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. Science 1999; 285: 732.
- 21) Hess J, Schaible U, Raupach B, et al. Exploiting the immune system: toward new vaccines against intracellular bacteria. Adv Immunol 2000; 75: 1.
- 22) Anderson P. TB vaccines. progress and problems. Trends Immunol 2001; 22: 160.
- 23) Lowrie DB, Tascon RE, Bonato VL, et al. Therapy of tuberculosis in mice by DNA vaccination. Nature 1999; 400: 269.

- 24) Alderson MR, Bement T, Day CH, et al. Expression cloning of an immunodominant family of Mycobacterium tuberculosis antigens using human CD4(+) T cell. *J Exp Med* 2000 ; 191 : 551.
- 25) Reed S, Alderson M, Campos-Neto A, et al. Development of a recombinant tuberculosis vaccine. Thirty-Fifth research conference on tuberculosis and leprosy ; 2000 Jun 18-20 ; Yokohama, Japan. 2000 ; 159.
- 26) Huygen K, Content J, Denis O, et al. Immunogenicity and protective efficacy of a tuberculosis DNA vaccine. *Nat Med* 1996 ; 2 : 893.
- 27) Miki K, Nagata T, Tanaka T, et al. Induction of Protective Cellular Immunity against Mycobacterium tuberculosis by Recombinant Attenuated Self-Destructing *Listeria monocytogenes* Strains Harboring Eukaryotic Expression Plasmids for Antigen 85 Complex and MPB/MPT51. *Infect Immun* 2004 ; 72 : 2014.
- 28) Walsh GP, Tan EV, dela Cruz EC, et al. The Philippine cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) provides a new nonhuman primate model of tuberculosis that resembles human disease. *Nat Med* 1996 ; 2 : 430.

* * *

平成 15 年度
日米医学協力計画
結核・ハンセン病専門部会
年次報告書

ANNUAL REPORT 2003
U.S.-JAPAN COOPERATIVE MEDICAL SCIENCE PROGRAM
TUBERCULOSIS AND LEPROSY PANEL

日米医学協力計画
結核・ハンセン病専門部会
U.S.-JAPAN COOPERATIVE MEDICAL SCIENCE PROGRAM
TUBERCULOSIS AND LEPROSY PANEL

研究実績報告書

「抗結核キラーT と DNA・ワクチン・リコンビナント BCG-及びサブユニットワクチンの開発による新しい予防・診断・治療法（ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用いた）」

研究者名 岡田全司¹⁾、田中高生¹⁾、喜多洋子¹⁾、桑山さち子¹⁾、村木裕美子¹⁾、金丸典子¹⁾、橋元里実¹⁾、高井寛子¹⁾、岡田知佳¹⁾、福永有可里¹⁾、坂口弥生¹⁾、古川いづみ¹⁾、山田恭子¹⁾、武本優次¹⁾、坂谷光則¹⁾、井上義一¹⁾、吉田栄人²⁾、金田安史³⁾、山田 毅⁴⁾、大原直也⁴⁾、内藤真理子⁴⁾、松本 真⁵⁾、永田年⁶⁾、小出幸夫⁶⁾、Steven Reed⁷⁾、Yasir Skeiky⁷⁾、Babie Tan⁸⁾、Eiuardo de la Cruz⁸⁾、Robert Gelber⁸⁾、David McMurray⁹⁾

所 属 ¹⁾国立療養所近畿中央病院臨床研究センター ²⁾自治医科大学医動物学 ³⁾大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療 ⁴⁾長崎大学歯学部口腔細菌学 ⁵⁾大塚製薬研究所 ⁶⁾浜松医科大学 ⁷⁾Corixa 研究所 ⁸⁾Leonard Wood Memorial 研究所 ⁹⁾Texas A&M 大学

【研究目的】

結核罹患率の増加、集団感染が頻発、AIDS や糖尿病患者の免疫不全疾患に高頻度に合併、薬剤耐性結核が増え、いわゆる難治性結核の対策が早急に望まれている。したがって、新しい予防・診断・治療の研究が必須である。

すなわち、①BCG よりも強力な新しい DNA ワクチン、リコンビナント BCG ワクチンやサブユニットワクチンの開発を行い、新しい予防・治療の臨床研究を目的とする。②キラーT 細胞の結核免疫に対するメカニズムや本当の重要性に関する研究は不明である。したがって、キラーT 細胞活性と結核発病を分子・遺伝子レベルで解明するとともに、③これらを用いた結核予後診断、難治性診断を行う。④ツ反に代わる、BCG 接種者に反応しない、結核感染患者に特異的な診断法の開発を行うことを目的とした。

【要旨】

[1] 新しい結核予防ワクチンの開発 ①HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン、②リコンビナント 72f BCG (r72f BCG)ワクチン、③72f fusion 蛋白

ワクチンの世界の最先端のワクチンを開発した。

新しい DNA ワクチンの ①HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンは、カニクイザル(最もヒト結核感染に近いモデル Nature Med. 1996) で強力な結核予防効果を示した。(マウスの系で BCG よりも 100 倍以上強力なワクチン効果を示した) HSP65 DNA+ IL-12 DNA ワクチン、 ②リコンビナント 72f BCG ワクチン、 ③72f fusion 蛋白ワクチンはサルで同等の延命効果、胸部 X 線所見(結核病巣)、血沈、体重で強い改善傾向がみられた。(図 1)

- [2] さらに、HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンはモルモットの系でも BCG より強力な画期的な結核予防ワクチンであることを明らかにした。
- [3] 1000 倍発現効率が高い画期的な AAV ベクター(HSP65 DNA)の開発に成功した。経口リステリア結核ワクチン (Ag85Complex) を開発した。
- [4] 新しい治療ワクチンの開発: IL-6 関連遺伝子ワクチンは初めて結核治療ワクチンとしても有効であることを示した。
- [5] これらが評価され WHO STOP TB Partnership 及び WHO TB Vaccine Working Group に選出された。(表 1)

【方法と結果】

- [1] ① DNA ワクチン (カニクイザル): HSP65 DNA+ IL-12 DNA ワクチンは相乗効果を示し、BCG よりも強力 (100 倍強力) な結核予防ワクチンであることをマウスの系で明らかにした。

HVJ-liposome/ HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンは、カニクイザル (最もヒト結核感染に近いモデル Nature Med. 1996) で強力な抗結核予防効果を示した。延命効果、胸部 X 線所見(結核病巣)、血沈、体重で強い改善傾向がみられた。(図 2)

- ② モルモット:

さらに、HSP65 DNA+ IL-12 DNA ワクチンはモルモットの系でも BCG より強力な画期的な結核予防ワクチンであることを明らかにした。モルモットを用いた結核研究の世界の第一人者 Texas A&M 大学教授 David N. McMurray 博士と共同研究を行った。(McMurray 博士は結核エアゾル感染させたモルモットを用いて、米国 FDA や NIH より委託された新しい結核ワクチンの効果判定を行っており、名実ともにモルモットを用いた結核研究の大御所である。)

結核 DNA ワクチン群を BCG (1×10³) ワクチン、Empty ベクターワクチン、HVJ-liposome / HSP65 DNA ワクチン、HVJ-liposome / モ

ルモット IL-12 DNA ワクチン、HVJ-liposome / HSP65 DNA + モルモット IL-12 DNA ワクチンの 5 群のモルモットを用いた。

[2] リコンビナント 72f ワクチン

r72f BCG はマウス、モルモット、サルで BCG よりも強い結核予防ワクチン効果を発揮することを明らかにした。

これらの①HVJ-liposome/ HSP65 DNA+ IL-12 DNA ワクチン、②リコンビナント 72f BCG ワクチン ③72f fusion 蛋白ワクチンを免疫したカニクイザルの生存率と免疫増強効果、血沈、体重の改善効果は相関した。

[3] 72f Fusion 蛋白ワクチン (結核蛋白 Mtb39 と Mtb32 の fusion 蛋白ワクチン) のサブユニットワクチンがカニクイザル (cynomolgus monkey) のレベルで BCG よりも有効であることを明らかにした。

新しい 72f fusion 蛋白ワクチンはヒト多剤耐性結核患者 T 細胞の結核免疫を増強した。BCG で priming し、後に 72f 融合蛋白ワクチン (booster ワクチン) を行うと、カニクイザルで極めて強力な予防効果を示した。日本における成人での 72f 融合蛋白の booster ワクチンが有効である可能性を示唆。 Phase I study を計画。

[4] Priming-Booster 法で最も強力な新しい結核ワクチンを作製しつつある。本邦では乳幼児に BCG 接種を行う。したがって成人における booster ワクチンとして上記のワクチンをサルの系で行いつつある。Priming は BCG 東京ワクチンを用い、すでに免疫をした。

Priming-Booster 法は 2003 年第一回国際結核ワクチン学会で結核ワクチン効果を得る極めて良い方法であるとのコンセンサスが得られた。

[5] 新しい治療ワクチンの開発: IL-6 関連遺伝子ワクチン(Adeno ウイルスベクター/ IL-6 DNA+ IL-6 レセプター-DNA+ gp130 DNA ワクチン)は初めて結核治療ワクチンとしても有効であることを示した。

[6] ① 1000 倍発現効率が高い画期的な AAV ベクターワクチンを開発した。

AAV(2/5) 型ベクターに組み込んだ HSP65 DNA ワクチン すなわち AAV(2/5)/ HSP65 ワクチンは、今までの AAV(2/1)/ HSP65 DNA ワクチンに比し HSP65 蛋白抗原に対する T 細胞免疫反応を極めて強く増強した。さらに、AAV(2/5)/Ag85B DNA ワクチンも Ag85B 蛋白に対する T 細胞反応を増強した (ハーバード大学医学部 R.C.Mulligan 教授との共同研究)。このことより、有力な結核ワクチンとなることが示唆された。

② Adenovirus ベクター/ HSP65 DNA 及び Adenovirus ベクター/Ag85B DNA ワクチンも作製した。これらのワクチンも強力な T 細胞免疫誘導

効果を示した (Mulligan 教授との共同研究)。

- ③ 弱毒化したリステリア菌 (act gene を欠損させた) に Ag85A, Ag85B, MPB51 DNA を導入し免疫したマウスは結核感染予防効果を示した。これらの、①②③を組み合わせ、さらに BCG 東京ワクチンと priming-booster 法を用い、最も強力なワクチンを作製する。
- [7] リコンビナント BCG ワクチン: BA51(Ag85A+ Ag85B+ MPB51)リコンビナント BCG は BCG よりも強力なワクチンであることを明らかにした。種々のリコンビナント BCG ワクチンを作製した。
- [8] 我々が世界に先駆けて開発した SCID-PBL/hu の系で結核患者リンパ球を SCID マウスに生着させ、結核蛋白 ESAT-6 ペプチドで免疫し、画期的な結核菌に対する生体内ヒト T 細胞免疫解析モデルを開発した。さらに、IL-2 レセプターγ鎖ノックアウト SCID-PBL/hu のモデルでヒト多剤耐性結核治療モデルを世界に先駆けて開発した。
- [9] 一方、多くのヒトに感染する Super Spreader 多剤耐性結核菌 SS 0308-0783 株 (一人の Super Spreader 患者から多数のヒトに感染) を用いた。IL-2R(-/-)SCID PBL/hu モデルで治療ワクチン・治療薬を解析中。
- [10] リコンビナント DPPD 蛋白は結核感染に特異的で、BCG 接種群には反応しないことを明らかにした。すなわち、ツベルクリン反応に代わる新しい結核特異的診断法 DPPD skin test を開発した。
(ツ反に用いられる PPD は多種の蛋白を含む。この中より、結核感染に極めて特異性の高い、ツ反に代わる蛋白 DPPD のアミノ酸配列及び遺伝子クローニングに成功した。リコンビナント DPPD 蛋白は結核感染に特異的で、BCG 接種群には反応しないことをモルモットですでに示した)
- [11] さらに結核感染に特異的な ESAT-6+ CFP10 test (in vitro)を開発した。

【考察と結論】

- [1] ① 新しい DNA ワクチンの開発: ① HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンは、モルモットで BCG ワクチンより有効で、サル (カニクイザル) でも有効であり、世界の最先端のワクチンであることが示された。
- ② 新しいリコンビナント BCG ワクチンの開発: r72f BCG は、サルで BCG よりも強い結核予防ワクチン効果を明らかにした。
- ③ 新しい結核サブユニットワクチンの開発: Mtb72f fusion 蛋白 + BCG 東京ワクチンはカニクイザルで BCG よりも強力な抗結核予防効果を示した。
- [2] モルモットを用いた結核菌吸入感染系における新しい結核ワクチンの

予防効果のアッセイで HSP65DNA+IL-12 DNA ワクチンは BCG よりも有効であることを示した。

- [3] これらの新しい結核ワクチン①HSP65DNA+IL-12 DNA ワクチン、②リコンビナント BCG ワクチン、③72f 融合タンパク+BCG ワクチンは世界に先駆けてカニクイザルの系で BCG よりも有効な結核予防ワクチンであることを明らかにした。
- [4] これらのワクチンの臨床応用を計画している。
- [5] これらの研究等が極めて高く評価され WHO (World Health Organization : 世界保健機関) より Global Partnership to stop TB (WHO TB stop Partnership) に選出された。さらに WHO STOP TB Vaccine Meeting のメンバーに選出された。
したがってこれらの新しい結核ワクチンを本邦のみでなく全世界に供給して国際貢献を行う用意がある。

【平成 15 年度論文・学会発表等】

岡田全司

1. Miki K, Nagata T, Tanaka T, Kim Y-H, Uchijima M, Ohara N, Nakamura S, Okada M, Koide Y.: Induction of protective cellular immunity against Mycobacterium tuberculosis by recombinant attenuated self-destructing Listeria monocytogenes strains harboring eukaryotic expression plasmids for Ag85 complex and MPB/MPT51, Infection and Immunity 2004 72(4):2014-2021.
2. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Okada M, Shigeto E, Harada N, Mitarai S, Suzuki K, Inoue Y, Tsuyuguchi K, Sasaki Y, GH Mazurek, Tsuyuguchi I.: Specific Detection of Tuberculosis Infection an Interferon-gamma Based Assay using New Antigens. American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine 2004 (in press)
3. Koide Y, Miki K, Nagata T, Tanaka T, Kim Y-H, Uchijima M, Ohara N, Nakamura S, Okada M.: Induction of protective cellular immunity against Mycobacterium tuberculosis by recombinant attenuated self-destructing Listeria monocytogenes strains harboring eukaryotic expression plasmids for Ag85 complex and MPB/MPT51. Keystone Symposia: Rational Design of Vaccine and Immunotherapeutics, 2004,

p.67.

4. Koide Y, Miki K, Nagata T, Suzuki M, Aoshi T, Tanaka T, Kim Y-H, Uchijima M, Ohara N, Okada M.: Induction of protective cellular immunity against Mycobacterium tuberculosis using a DNA vaccine encoding MPB51 antigen carried by attenuated suicide Listeria monocytogenes and identification of T-cell epitopes of the antigen.: Thirty-eighth Research Conference on Tuberculosis and Leprosy, US-Japan Cooperative Medical Science Program 2003, p.32-38.
5. R. Ryll, M. Hirai, M. Okada, N. Fujiwara, I. Tomiyasu, Y. Kumazawa and I. Yano: Inhibition of TDM-induced TNF- α release by sulfo lipid: a potential new virulence mechanism of Mycobacterium tuberculosis. Microbiol. Pathogenesis (in press)
6. Mitsuyama M, Akagawa K, Kobayashi K, Sugawara I, Kawakami K, Yamamoto S, Okada M.: Up-to-date understanding of tuberculosis immunity. Kekkaku. 78(1): 51-5.,2003
7. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Matsumoto K, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, E.C.dela Cruz, E.V. Tan, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel (recombinant BCG- and DNA-) vaccination against tuberculosis Keystone 2003, P93, 335.
8. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Takemoto Y, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M. Abalos, L.J. Young, J.A. Burgos, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel (Recombinant BCG- and DNA-)Vaccination against Tuberculosis FASEB 2003 17(7) C25, 32.9.
9. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Takemoto Y, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M. Abalos, L.J. Young, J.A. Burgos, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel (Recombinant BCG- and DNA-)Vaccination against Tuberculosis. Thirty-Eighth Tuberculosis and Leprosy Research Conference 2003, P191.
10. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Takemoto Y, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, E.V.Tan, E.C.Dela Cruz, R.M. Abalos, L.J. Young, J.A. Burgos, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel (Recombinant BCG- and DNA-)Vaccination against Tuberculosis . The Awaji International Forum Infection Immunity. 2003, P126.

11. Yoshida S, Kondoh D, Arai E, Matsuoka H, Seki C, Tanaka T, Okada M, Ishii A.: Baculovirus virions displaying Plasmodium berghei circumsporozoite protein protect mice against malaria sporozoite infection. *Virology* 2003, 316(1): 161-70.
12. 岡田全司: 結核感染 (サイトカインの病態への関与—感染症) “医学の歩み: サイトカイン-state of arts” 宮坂信之、宮島篤編 医歯薬出版 東京 2004 (in press)
13. 岡田全司: 肺結核 (感染症: 細菌・ウイルスなどによる感染症/呼吸器) 「家庭医学大全科」編集 倉田毅, 総合監修 高久史麿、猿田享男、北村惣一郎、福井次年 法研 東京 2004 (in press)
14. 岡田全司: 膿胸 (感染症: 細菌・ウイルスなどによる感染症/呼吸器) 「家庭医学大全科」編集 倉田毅, 総合監修 高久史麿、猿田享男、北村惣一郎、福井次年 法研 東京 2004 (in press)
15. 岡田全司: 結核性髄膜炎 (感染症: 細菌・ウイルスなどによる感染症/脳) 「家庭医学大全科」編集 倉田毅, 総合監修 高久史麿、猿田享男、北村惣一郎、福井次年 法研 東京 2004 (in press)
16. 岡田全司: 新たな結核ワクチン開発 “特集Ⅱ: 感染免疫における新知見” 臨床免疫 (出版中) 2004
17. 岡田全司: 結核ワクチン “結核 第4版” 編集 泉孝英, 網谷良一 医学書院 東京 (出版中) 2004
18. 岡田全司: 結核 “分子予防環境医学 (生命科学研究の予防・環境医学への統合)” 分子予防環境医学研究会編 pp150-161, 2003, 本の泉社, 東京
19. 岡田全司: 1 週 1 話 新たな抗結核ワクチン. 日本醫事新報 No.4121 Page89 2003.4.
20. 岡田全司: 抗結核キラーT とリコンビナント BCG・DNA-ワクチン・及びサブユニットワクチンの開発による新しい予防・診断・治療法 (マウス、モルモット、カニクイザルを用いた) 平成 14 年度日米医学協力計画 結核・ハンセン病専門部会年次報告書 Page185-192 Annual report 2002 U.S. Japan cooperative medical science program tuberculosis and leprosy panel 2003.4
21. 岡田全司: 国立病院・療養所における臨床研究と評価 呼吸器疾患(結核・肺がん)に対する臨床研究(新しい結核ワクチン, 肺がんワクチン及び新しい診断法・予防法の開発)と評価. 医療 57 巻 1 号 Page51-53 2003

表 1

[Summary]

新しい結核ワクチンの開発

- | | |
|--|---|
| (1) DNAワクチン
HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA | BCGより有効
(マウス、モルモット、カニクイザル) |
| (2) リコンビナントBCGワクチン
① リコンビナント72f BCG
② リコンビナント(Ag85A+85B+MPB51) BCG | BCGより有効
(マウス、モルモット、カニクイザル)
BCGより有効 (マウス) |
| (3) サブユニットワクチン
Mtb 72f 融合タンパク | BCGより有効 (カニクイザル)
多剤耐性結核患者T細胞機能増強活性(+)
Phase I Study |
| (4) 治療ワクチン
IL-6 related DNA (マウス) | |
| (5) Priming-Booster Method
BCG (priming) + 新しいワクチン (booster) (カニクイザル) | |
| (6) 遺伝子ノックアウトattenuatedリステリアを用いた新しい結核ワクチン(経口) | |
| (7) 新しいベクター
AAVベクター(1000倍発現効率↑)、Adenovirusベクター | |

→ WHO STOP TB Partnership及WHO STOP TB vaccine Working Groupに選出