

lyses against J774.1 macrophages phagocytosed *M. tuberculosis* and P815 mastocytomas transfected with Hsp65 DNA were detected in mice vaccinated with IgHsp65+mIL-12/HVJ, whereas little CTL activity response was detectable in either the naive or BCG-vaccinated mice. In vitro depletion of CD8⁺ T cells eliminated the specific lysates. Depletion of CD4⁺ T cells had no effect. Stronger (more than twenty percent) cytotoxicity against Hsp65 was detected in the spleen cells from mice 2 weeks after the last vaccination with IgHsp65+mIL-12/HVJ (data not shown). These results indicate that IgHsp65+mIL-12/HVJ vaccine induced long-term immune response with strong CD8⁺ CTL activity.

In the guinea pig model, HSP65 + gpIL-12/HVJ provided better protection against the pulmonary pathology caused by pulmonary challenge with TB than BCG vaccination (data not shown).

Protective efficacy of HVJ-liposome DNA vaccine using cynomolgus monkey

The purpose of this study was to evaluate TB vaccine we have developed in a nonhuman primate model of *M. tuberculosis* infection. To this end, a total of 16 monkeys were vaccinated either with HSP65 + hIL-12/HVJ, BCG or saline, followed by TB challenge by intratracheally instillation. All four monkeys in the control (saline) group died of TB infection within 8 months. In contrast, two monkeys from HSP65 + hIL-12/HVJ groups, respectively, were alive more than 14 months post-infection (the termination period of the experiment). Survival period of the remaining monkeys in this group were much longer than those of saline control group. In addition, HSP65 + hIL-12/HVJ significantly improved ESR and chest X-ray findings. Body weights of the HSP65 + hIL-12/HVJ group also increased significantly, as compared to saline control group. IL-2 and IFN- γ production were augmented in the group vaccinated with HSP65 + hIL-12/HVJ (data not shown). Furthermore, proliferation of PBL was strongly enhanced in the group vaccinated with HSP65 + hIL-12/HVJ in response to HSP65 protein 4 weeks after TB challenge. Taken together, these results clearly demonstrate that both HSP65 + hIL-12/HVJ could provide protective efficacy against *M. tuberculosis* in the cynomolgus monkey model.

Taken together, these results indicate that the experimental models using cynomolgus monkeys and HSP65+IL-12DNA vaccine might provide new strategies capable of developing new vaccines against tuberculosis.

[Discussion]

Hsp65+mIL-12/HVJ induced CD8⁺ cytotoxic T lymphocyte activity against Hsp65 antigen. Most importantly, Hsp65+mIL-12/HVJ vaccination resulted in a greater degree of protection than that evoked by BCG. This protective efficacy was associated with the emergence of CTL, IFN- γ -secreting T cells and activation of proliferative T cells and cytokines (IFN- γ and IL-2) production.

HSP65 + hIL-12/HVJ vaccine exerted the significant prophylactic effect against TB of monkey, as indicated by: (1) prolongation of survival for over a year, (2) improvement of ESR and chest X-ray findings, (3) increase in the body weight and (4) augmentation of immune responses, in a cynomolgus

monkey model which closely mimics human TB disease. It is very important to evaluate the long survival period in a monkey model, as human TB is a chronic infection disease. Furthermore, the decrease in the body weight of TB patients with TB is usually accompanied by progress of TB disease. Suppression of IFN- γ production, CTL activity and T-cell proliferation has also been observed in patients with TB [9].

Our results with the HSP65 + hIL-12/HVJ vaccine in the cynomolgus monkey model should provide a significant rationale for moving this vaccine into clinical trials. Thus, we are taking advantage of the availability of multiple animal models (mouse, guinea pig, and monkey) to accumulate essential data on the HVJ- liposome DNA vaccine in anticipation of a Phase I clinical trial.

[Acknowledgements]

This study was supported by a Health and Labour Science Research Grant from MHLW (H11-shinko-2, H14-shinko- 1, H17-shinko- 5) and international collaborative study grants from Human Science foundation.

[References]

- [1] Walsh GP, Tan EV, dela Cruz EC, et al. The Philippine cynomolgus monkey provides a new nonhuman primate model of tuberculosis that resembles human disease. *Nat Med* 1996;2(4):430–6.
- [2] Saeki Y, Matsumoto N, Nakano Y, et al. Development and characterization of cationic liposomes conjugated with HVJ (Sendai virus): reciprocal effect of cationic lipid for in vitro and in vivo gene transfer. *Hum Gene Ther* 1997;8(17 (November)):2133–41.
- [3] Miki K, Nagata T, Tanaka T, et al. Induction of protective cellular immunity against *M. tuberculosis* by attenuated self-destructing *Listeria monocytogenes* strains harboring eukaryotic expression plasmids for antigen 85 complex and MPB/MPT51. *Infect Immun* 2004;72(4):2014–21.
- [4] Yoshida S, Okada M. et al : DNA vaccine using hemagglutinating virus of Japan-liposome encapsulating combination encoding mycobacterial heat shock protein 65 and interleukin-12 confers protection against *Mycobacterium tuberculosis* by T cell activation. *Vaccine*. 2006;24:1191-1204.
- [5] 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(12):7717–21.
- [6] Okada M, Tanaka T, Inoue Y, et al. New (DNA-rBCG-and Subunit-) vaccination against tuberculosis. In: Thirty-Sixth (US–JAPAN) Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 2001. p. 127–32.
- [7] Kita, Y., Tanaka, T., Yoshida, S. *et al.* Novel recombinant BCG and DNA-vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model. *Vaccine* 2005, 23;2132-5.
- [8] Tanaka F, Kishimoto T, and Okada M 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 Research* 1997; 57: 1335-1343.
- [9] Flynn JL, Chan J. Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol* 2001;19:93–129.

Fig.1

(A)

| Effector lymphocytes from mice vaccinated with | Treatment of Effector cells |
|--|-----------------------------|
| Naïve | (-) |
| BCG | (-) |
| Ig-Hsp65+mIL -12/HVJ | (-) |
| Ig-Hsp65+mIL -12/HVJ | Anti -CD8Ab+C |
| Ig-Hsp65+mIL -12/HVJ | Anti -CD4Ab+C |
| Ig-Hsp65+mIL -12/HVJ | Anti -Thy1.2Ab+C |

(B)

| Effector lymphocytes from mice vaccinated with | Treatment of Effector cells |
|--|-----------------------------|
| Naïve | (-) |
| BCG | (-) |
| Ig-Hsp65+mIL -12/HVJ | (-) |
| Ig-Hsp65+mIL -12/HVJ | Anti -CD8Ab+C |
| Ig-Hsp65+mIL -12/HVJ | Anti -CD4Ab+C |
| Ig-Hsp65+mIL -12/HVJ | Anti -Thy1.2Ab+C |

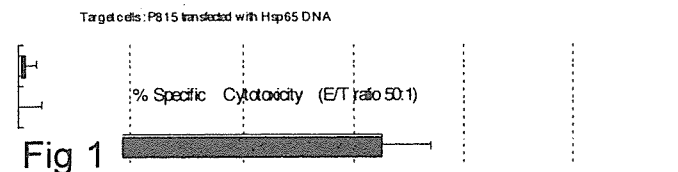
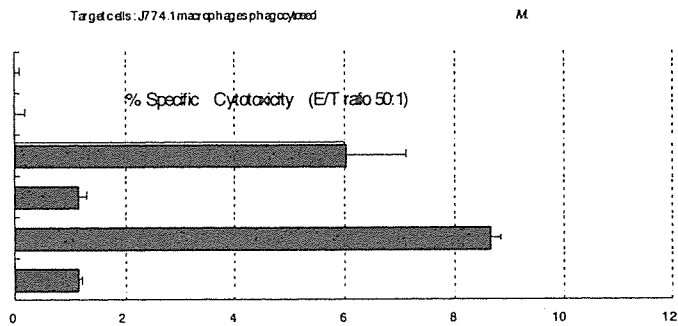


Fig 1

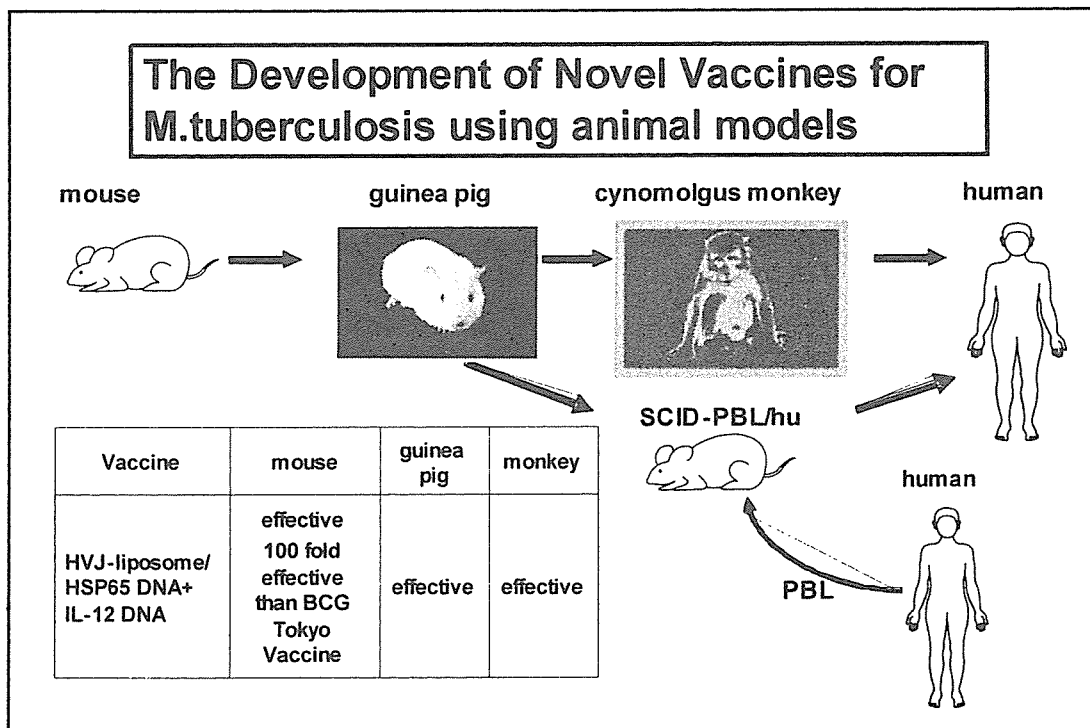


Fig 2

第81回総会教育講演

新しい結核ワクチン

岡田 全司

要旨：1998年、米国CDCおよびACETは新世代の結核ワクチン開発の必要性を発表した。しかしながら、BCGワクチン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をはるかに凌駕する100倍以上強力な結核予防ワクチン効果を示す新しいDNAワクチン(HVJ-リボソーム/HSP65+IL-12 DNA)やリコンビナント72f BCGワクチンを開発した。このワクチンは結核菌抗原特異的なキラーT細胞の分化を増強した。IFN- γ 産生T細胞の分化と増殖増強効果も示した。さらに、治療結核ワクチン効果も示した。欧米では治療ワクチンは未開発である。さらに、ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用い、サルでも有効なHSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンを世界に先駆けて開発した。リンパ球増殖反応・サイトカイン産生の増強および胸部X線所見・血沈、体重の改善効果が認められた。また生存率改善・延命効果も認められた。コントロール群の生存率は0~50%であった。一方、このDNAワクチン投与群はpriming-booster法で100%の生存率を示した。このワクチンの臨床応用を計画中である。

キーワード：結核ワクチン、HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチン、リコンビナントBCGワクチン、臨床応用、キラーT細胞、カニクイザル

1. はじめに

いまだに世界の3分の1の20億人が結核菌に感染しており、その中から毎年880万人の結核患者が発症し、200万人が毎年結核で死亡している、最大の感染症の1つである(WHOレポート2002年)¹⁾。結核症に対する宿主の抵抗性は細胞性免疫といって過言ではない。特に獲得免疫(キラーT細胞とTh1ヘルパーT細胞)が重要である。1998年、米国CDCおよびACETは結核に対し、政府・学術機関・企業が一体となってBCGに代わる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。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(Table 1, Fig. 1)^{1)~4)}。新しい抗結核ワクチン開発と臨床応用の可能性についても述べる^{3)~6)}。

2. 新しい結核ワクチン開発

(1) 現行のBCGワクチンの有用性

BCGワクチンの評価がWHOによりなされた。すなわち大人(成人)結核に対しては、BCGワクチンは予防効果がないという結論がWHOによって報告された。10万人を超す南インド農民を対象として実施された大規模なcontrolled trial (Chingleput study)では、全く有効性が否定される結果となった(上記WHOの報告)⁶⁾。(ただし、小児における結核性髄膜炎や粟粒結核など播種性のものには十分な予防効果がある。)したがって、成人の結核に対し有効な新しい結核ワクチンの開発が必須である¹⁾⁶⁾。

(2) BCGワクチンより1万倍強力な結核予防ワクチン

われわれ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が、画期的な結核の新しいワクチンを開発した。マウスの実験で現行のBCGワクチンを超えるきわめて強力な有効性(1万倍の効果)を確認した。われ

われは HSP 65 DNA+IL-12 DNA (HVJ-エンベロープベクター) のワクチンは BCG ワクチンよりも 1 万倍強力な結核予防ワクチンであることを世界に先駆けて明らかにした。これらの研究が国内外よりきわめて高く評価され、当臨床研究センターは WHO (世界保健機関) より WHO STOP TB Partnership に選ばれた。また、大阪大学大学院 (医学系研究科)・連携大学院にも選ばれた (Table 1)。

(3) 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。

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 HSP 65 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 (Table 1, Fig. 1)^{1)~4)}。

(a) DNA ワクチン

われわれは HSP 65 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)。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 HSP 65 DNA ワクチンの作製に成功した (Table 1)⁴⁾。

HVJ リポソームをベクターに用いた場合、HSP65

Table 1 The development of novel vaccines for *M. tuberculosis*

| | |
|--|--|
| 1. DNA vaccine HVJ-liposome/HSP 65 DNA +IL-12 DNA | more effective than BCG (mouse, guinea pig, cynomolgus monkey) |
| 2. DNA vaccine HVJ-Envelope/HSP 65 DNA +IL-12 DNA | extremely stronger effect than BCG |
| 3. Recombinant BCG vaccine (1) recombinant 72f BCG (2) recombinant (Ag85A + 85B + MPB51) BCG | more effective than BCG (mouse, guinea pig, cynomolgus monkey) more effective than BCG (mouse) |
| 4. Therapeutic vaccine IL-6 related DNA | (mouse) |
| 5. Priming-Booster Method BCG (priming) + Novel vaccine (booster) | (cynomolgus monkey) |
| 6. Novel vaccine (per os) using gene-knock out attenuated <i>Listeria</i> | |
| 7. Novel vectors AAV vector (1000 fold effective expression vector ↑), Adenovirus vector | |
| → Selected as WHO STOP TB Partnership and WHO STOP TB Vaccines Working Group | |

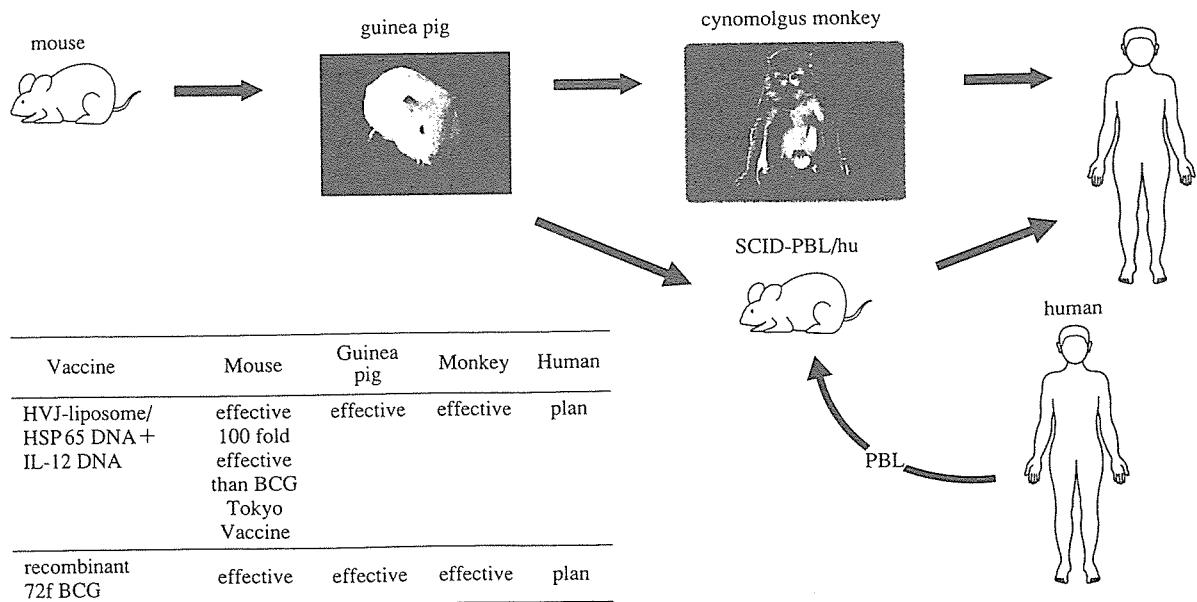


Fig. 1 The development of novel vaccines for *M. tuberculosis* using animal models

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)。

さらに, HSP65 DNA と IL-12 DNA 両者の DNA ワクチンを投与した, HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンマウスでは, BCG 東京ワクチンマウスの肺, 肝, 脾の結核菌数の100倍以上の減少が認められた。すなわち, HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは BCG に比較して100倍以上強力な結核予防ワクチン効果を示した (Fig. 2)。さらに, この HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは HSP65 タンパク抗原に対する脾リンパ球増殖反応を著明に増幅した (BCG ワクチンよりはるかに強い増殖反応)。また, KS-Elispot Assay 自動計測器 (ELISA Assay の200倍以上の感度) を用いて, HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは脾臓の IFN- γ 産生細胞数の増強と IFN- γ 産生細胞の著

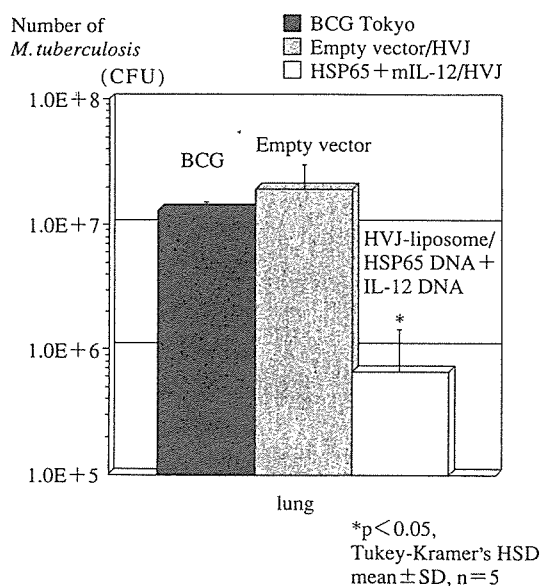


Fig. 2 Prophylactic efficacy of HVJ-liposome/HSP65 DNA +IL-12 DNA vaccine on TB-infected mice (5 weeks after TB infection)

しい分化増強を誘導することを明らかにした⁴⁾。

さらに, 結核菌に対する CD8 陽性キラー T細胞の分化誘導を増強した。また, 結核菌抗原の主要な抗原タンパクである HSP65 タンパク抗原に対する CD8 陽性キラー T細胞の分化誘導を著明に増強した。一方, BCG ワクチンは結核菌に対するキラー T細胞や HSP65 タンパクに対するキラー T細胞誘導活性はほとんど認められなかった (Fig. 3)⁴⁾。

このように, HVJ-リポソーム/HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは結核菌に対するキラー T細胞分化誘導, IFN- γ 産生細胞分化誘導, T細胞増殖反応増強を介して, BCG ワクチンより100倍以上強力な結核予防ワクチン効果を発揮することが示された¹⁾²⁾⁴⁾。

アデノウイルス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。

以上のワクチン効果は, 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。

新しい結核ワクチンの開発研究が高く評価され, WHO STOP TB Vaccines Working Group Meeting に選出された (Table 1)。

一方, Huygen らは, Ag 85A 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。

(b) リコンビナント BCG ワクチン

結核菌は300種以上のタンパク質を分泌するが, α 抗原 Ag 85B とそのファミリー (85A, Ag 85C) DNA をリコンビナント BCG に使用した¹⁾³⁾⁵⁾⁶⁾。

これらの遺伝子を PNN 2 シヤトルベクター (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 (Ag 85A + Ag 85B + MPB51) リコ

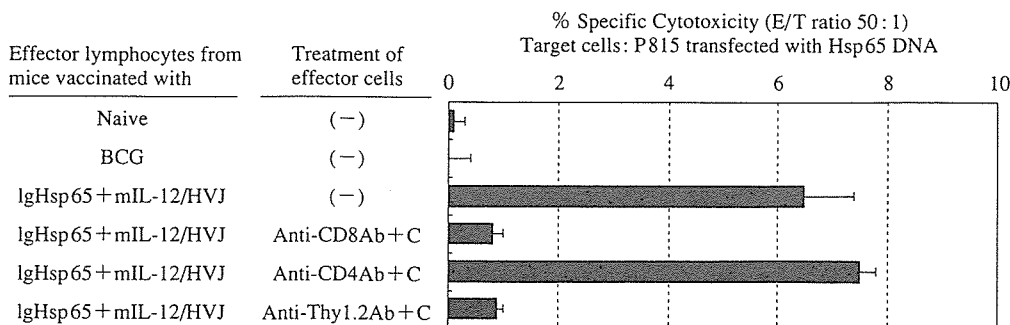


Fig. 3 Induction of CD8⁺CTL against M. tuberculosis in the spleen cells from HVJ-liposome/HSP65 DNA +IL-12 DNA vaccine

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、サブユニットワクチンの Mtb72f融合タンパク質の DNAを導入した 72fリコンビナント BCGの作製に成功した³⁾。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 Assayで明らかにした。

(c) 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 (浜松医大・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。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⁷⁾。

(4) 新しいヒト生体内抗結核免疫解析モデル SCID-PDL/hu

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、結核菌タンパク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^{1) 5) 6) 8) 9)}。

3. 結核ワクチンの展望

(1) 新しい結核ワクチンの臨床応用

カニクイザル (cynomolgus monkey, 最もヒトの肺結核に近いモデル, Nature Medicine 2, 430, 1996参照) 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2種を開発した³⁾。すなわち, 現在最も有力なものとして HVJリポソーム/HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンおよび, r72f BCG ワクチンがあげられる。すなわち, カニクイザルに3回ワクチン投与を3週間隔で行った (Fig. 4)。最終免疫より, 4週間後にヒト結核菌エルドマン株 5×10^2 CFUを気道内注入した。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) を認め, これらのワクチン効果をサルレベルで認めた³⁾ (Table 2)。すなわち, HVJリポソーム/HSP65 DNA+IL-12DNA 予防ワクチン投与による結核感染カニクイザル生存率改善効果を得た (Table 2)。また, HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは血沈改善効果を有意差をもって示した (Table 2)。さらに, このワクチンを投与したカニクイザルでは, コントロール群に依存し有意差 ($p < 0.01$) をもって, HSP65 抗原に対し, 増殖増強反応を示した (Fig. 5)。Ag85B-ESAT-6融合タンパク質 (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。72f融合タンパクサブユニットワクチン, ワクシニアウイルスに85A DNAを導入したワクチンや r85B BCG (Horowitz ら) は第 I 相 clinical trial となっている⁹⁾。Dr. A. Hill らのワクシニアウイルス-85A DNA ワクチンは, アフリカでの第 I 相 clinical trial では, 85A DNA 蛋白に対する免疫応答増殖が認められた。最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。リコンビナント 72fBCG も有効である。さらに, われわれは HSP65 DNA+IL-12 DNA 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^{3)~6)}。

(2) プライミング-ブースター法 (乳幼児 BCG-成人 HVJ/HSP65 DNA+IL-12DNA ワクチン)

さらに BCG ワクチンと新ワクチンのプライミング-ブースター法で 100% の生存を示した。このように, ヒトの結核感染に最も近いカニクイザルを用いた実験系で, 強力な新しい結核ワクチンをわれわれは世界に先駆けて開発した。すなわち, 本邦では乳幼児に BCG 接種が義

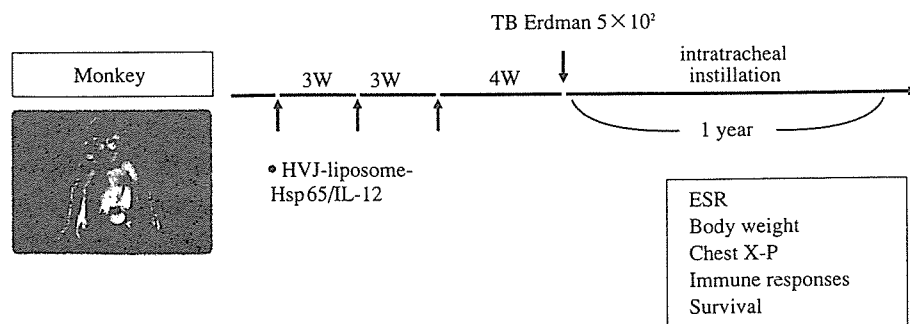


Fig. 4 Protocol

Table 2 (A) Improvement of cynomolgus monkeys infected with *M. tuberculosis* by the vaccination with HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA

| Vaccine | Number | Survival | Dead | % survival |
|--|--------|----------|------|------------|
| HVJ-liposome/ HSP65 DNA + IL-12 DNA | 4 | 2 | 2 | 50 |
| BCG | 4 | 2 | 2 | 50 |
| Control (saline) | 4 | 0 | 4 | 0 |

Table 2 (B) Improvement of Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) in the cynomolgus monkeys immunized with HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA

| Vaccine | ESR (mm/hr) | Mean ± S.D | Statistical significance P.value compared to saline group (Student t test) |
|--|-------------|--------------|---|
| HVJ-liposome/ HSP65 DNA + IL-12 DNA | 2 | 3.5 ± 1.9 | P<0.01 |
| | 6 | | |
| | 4 | | |
| | 2 | | |
| BCG | 22 | 11.25 ± 11.3 | Not significant |
| | 2 | | |
| | 20 | | |
| | 1 | | |
| Control (saline) | 50 | 29.75 ± 18.1 | |
| | 14 | | |
| | 15 | | |
| | 40 | | |

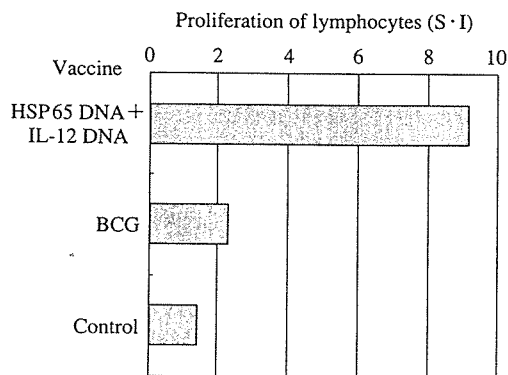


Fig. 5 Proliferation of peripheral blood lymphocytes from cynomolgus monkey with vaccine

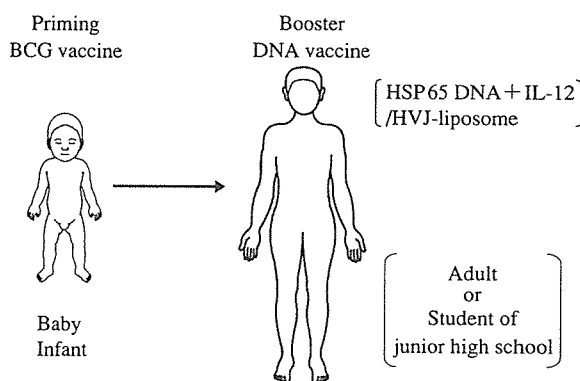


Fig. 6 Novel prophylactic vaccine (DNA vaccine against TB)

務づけられていることにより、プライミングワクチンとしてBCGワクチンを用い、成人ワクチン(小学生, 中学生, 成人, 老人)として切れ味のするどい, われわれが開発したHVG/HSP65 DNA + IL-12DNAワクチンをブースターワクチンとして用いることにより強力な新しい結核ワクチンの臨床応用が可能となる案を計画中である (Fig. 6)。

4. おわりに

当国立病院機構近畿中央胸部疾患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となった。日本の結核患者数の60%の診断・治療を行っている, 国立病院機構の専門病院54施設を統括し, 国立病院機構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, HSP65 DNA + IL-12 DNA/HVJ-エンペロープワクチンが明らかにすぐれていることより, こ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。

(共同研究者: 当臨床研究センター 喜多, 井上, 坂谷,

各博士, 金丸, 橋元, 福永, 古川, 中島, 和泉谷, 高谷, 寺元, 西田, 浪江, 網井, 山田, 仲谷, 高尾, 浅井, 各研究員, R. Gelber博士, B. Tan博士, 中島俊洋博士, 吉田栄人博士, 松本真博士, 金田安史博士, D. McMurray博士, 厚生労働科学研究費の支援による)

文 献

- 1) 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, “結核菌症の病態解明に基づく新たな治療法等の開発に関する研究: [抗結核キラー Tリンパ球・結核殺傷蛋白による病態解明に基づく結核ワクチン(サブユニット・DNA・リコンビナント BCG-ワクチン)・化学療法剤の開発による新しい治療・予防・診断法]”, 2004, 1-140.
- 2) Okada M, Kita Y, Kanamaru N, et al.: Novel (recombinant BCG- and DNA-) vaccination against tuberculosis. Thirty-Seventh Tuberculosis and Leprosy Research Conference. 2002, 171-175.
- 3) Kita Y, Kanamaru N, Okada M, et al.: Novel recombinant BCG- and DNA-vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model. *Vaccine*. 2005; 23: k2269-2272.
- 4) Yoshida S, Kita Y, Okada M, et al.: DNA vaccine using hemagglutinating virus of Japan-liposome encapsulating combination encoding mycobacterial heat shock protein 65 and interleukin-12 confers protection against *Mycobacterium tuberculosis* by T cell activation. *Vaccine*. 2006; 24: 1191-1204.
- 5) 岡田全司: 結核感染とサイトカイン. 「医学の歩み: サイトカイン-state of arts」, 泉 孝英, 網谷良一編, 医歯薬出版, 東京, 2004, 209-213.
- 6) 岡田全司: 結核ワクチン. 「結核」第4版 (in press), 医学書院, 東京, 2006.
- 7) 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. *Infection and Immunity*. 2004; 72: 2014-2021.
- 8) Tanaka F, Abe M, Okada M, 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: 1335-1343.
- 9) Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, et al.: The development of vaccines against SARS corona virus in mice and SCID-PBL/hu mice. *Vaccine*. 2005; 23: 2269-2272.
- 10) McShane H, Huygen K, Hill A, et al.: Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing antigen 85A boosts BCG-primed and naturally acquired antimycobacterial immunity in humans. *Nat Med*. 2004; 10 (11): 1240-1244.

———— The 81st Annual Meeting Educational Lecture ————

NOVEL VACCINES AGAINST *M. TUBERCULOSIS*

Masaji OKADA

Abstract CDC and ACET in U.S.A. reported that novel vaccines instead of BCG are required for the protection against infection of *Mycobacterium tuberculosis* worldwide. However, no novel vaccine for clinical use has not yet been developed in the world including U.S.A. and Europe.

We have developed two novel tuberculosis (TB) vaccines; a DNA vaccine combination expressing mycobacterial heat shock protein 65 (HSP 65) and interleukin-12 (IL-12) by using the hemagglutinating virus of Japan (HVJ)-liposome (HSP 65+IL-12/HVJ). A mouse IL-12 expression vector (mIL-12 DNA) encoding single-chain IL-12 proteins comorised of p40 and p35 subunits were constructed. In a mouse model, a single gene gun vaccination with the combination of HSP 65 DNA and mIL-12 DNA provided a remarkably high degree of protection against challenge with virulent *Mycobacterium tuberculosis*; bacterial numbers were 100 fold lower in the lungs compared to BCG-vaccinated mice. To explore the clinical use of the DNA vaccines, we evaluated HVJ-liposome encapsulated HAP 65 DNA and mIL-12 DNA (HSP 65+mIL-12/

HVJ). The HVJ-liposome method improved the protective efficacy of the HSP 65 DNA vaccine compared to gene gun vaccination. This vaccine provide remarkable protective efficacy in mouse and guinea pig models, as compared to the current by available BCG vaccine. HSP 65+IL-12/HVJ vaccine induced CD8+cytotoxic T lymphocyte activity against HSP 65 antigen. Protective efficacy of this vaccine was associated with the emergence of IFN- γ -secreting T cells and activation of proliferative T cells as well as CTL induction upon stimulation with the HSP 65 and antigens from *M. tuberculosis*. Furthermore, we extended our studies to a cynomolgus monkey model, which is currently the best animal model of human tuberculosis, to evaluate the HSP 65+IL-12/HVJ vaccine. Vaccination with HSP 65+IL-12/HVJ provided better protective efficacy as assessed by the Erythrocyte Sedimentation Rate, chest X-ray findings, and immune responses than BCG. Most importantly, HSP 65+IL-12/HVJ resulted in an increased survival for over a year. This is the first report of successful DNA vaccination against *M. tuber-*

culosis in the monkey model. Novel TB vaccines using the monkey model will be discussed in this issue.

The development of novel vaccines against tuberculosis was also studied in murine and cynomolgus monkey systems. Four distinct methods ; DNA vaccination (1. plasmid, 2. adenovirus vector, 3. adenoassouated virus), 4. recombinant BCG, and 5. subunit (recombinant protein) were used for the development of novel vaccines.

Genes (HSP 65 gene, IL-12 gene as well as Ag 85A-, 85B-, MPB51-gene) and IL-6 related genes (IL-6 gene + IL-6R gene + gp130 gene) were administered into the Balb/c mice infected (i.v. or intra-tracheal injection) with *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Elimination of *M. tuberculosis* in lungs, liver, and spleen of these mice and survival were studied in these models. HSP 65 gene + IL-12 gene vaccination, or recombinant BCG (BA51 : Antigen 85B- + Antigen 85A- + MPB51-gene recombinant BCG) were more prophylactically efficient than parental BCG Tokyo vaccination. In contrast, IL-6 related genes vaccination using adenovirus vector showed therapeutic effect on *M. tuberculosis* infected mice. Cytotoxic T cells (CTL) activity against *M. tuberculosis* in the spleen cells from mice treated with IL-6 related genes vaccination were significantly augmented.

Furthermore, NOD-SCID-PBL/hu mice treated with anti-IL-2 receptor β -chain antibody provide an useful tool for analyzing *in vivo* human T cell immunity against tuberculosis.

In conclusion, we demonstrate the development of a novel HVJ-liposome DNA vaccine encapsulating HSP 65 DNA plus IL-12 DNA. These results suggest that HSP 65 + IL-12/HVJ could be a promising candidate for a new tuberculosis DNA vaccine, which is superior to the currently available BCG vaccine. The goal of our study is to develop a new tuberculosis vaccine superior to BCG. To this aim, we believe that the protective efficacy and protective immune responses for vaccine

candidates should be addressed in larger animals, such as non-human primates, before proceeding to human clinical trials. Although other DNA vaccine candidates that appear to protect against virulent *M. tuberculosis* in mice better than BCG have failed to provide better protection than BCG in guinea pigs against aerosol challenge of a low dose of virulent *M. tuberculosis*, some of them are being prepared to enter early human clinical trials. More recently, we evaluated the HSP 65 + hIL-12/HVJ vaccine in the cynomolgus monkey model, which is currently the best non-human primate animal model of human tuberculosis. Monkeys were subsequently challenged with virulent *M. tuberculosis* by the intra-tracheal route after the third vaccination. This challenge dose normally causes death from acute respiratory infection within 4–6 months. In this particular experiment, monkeys vaccinated with HSP 65 + hIL-12/HVJ induced HSP 65-specific T-cell proliferation and improvement of chest X-P findings, resulting in an increased survival for over a year, superior to BCG group. Thus, we are taking advantage of the availability of multiple animal models (mouse, guinea pig, and monkey) to accumulate essential data of the HVJ-liposome DNA vaccine, including the vaccine efficacy and safety, for up-coming Phase I clinical trials.

Key words: TB vaccine, HSP 65 DNA + IL-12 DNA vaccine, Recombinant BCG vaccine, Clinical application, Cytotoxic T cells, Cynomolgus monkey

Clinical Research Center, National Hospital Organization Kinki-Chuo Chest Medical Center

Correspondence to: Masaji Okada, Clinical Research Center, National Hospital Organization Kinki-Chuo Chest Medical Center, 1180 Nagasone-cho, Kita-ku, Sakai-shi, Osaka 591-8555 Japan. (E-mail: okm@kch.hosp.go.jp)

最新医学・別冊 新しい診断と治療のABC 41 (別刷)

呼吸器 6 結核・非結核性抗酸菌症

結核ワクチン開発の現況と展望

岡田全司

最新医学社

第4章 管理・治療・予防

結核ワクチン開発の現況と展望

要旨

BCG ワクチンは、成人に対する結核予防ワクチンとしては有効でない。したがって、新しい結核ワクチン開発を行った。HSP65DNA + IL-12DNA ワクチンは、BCG よりも1万倍強力な結核予防ワクチン効果をマウスで示した。さらに、ヒトの結核感染に最も近いモデルのサルにも有効であり、臨床応用を計画中である。また、結核治療効果も示した。他の結核ワクチン開発（リコンビナント 72f BCG など）についても述べる。

はじめに

いまだに世界の1/3の20億人が結核菌に感染しており、その中から毎年880万人の結核患者が発症し、200万人が毎年結核で死亡している、最大の感染症の1つである（WHO レポート 2002年）¹⁻⁴⁾。本邦でも1998年から結核罹患率の増加・横ばいが認められ、1999年“結核緊急事態宣言”が厚生省より出された。結核症に対する宿主の抵抗性細胞性免疫と言って過言ではない。特に獲得免疫（キラーT細胞とTh1ヘルパーT細胞）が重要であり、最近では自然免疫の結核への関与が再び重要視されている。1998年、米国疾病対策センター（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、結核撲滅対策委員会（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。我々はBCGよりもはるかに強力な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（表1，図1）⁵⁻⁸⁾。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⁾。

●キーワード

結核ワクチン
HSP65 DNA +
IL-12 DNA ワクチン
リコンビナント BCG
ワクチン
DNA ワクチン
キラーT細胞

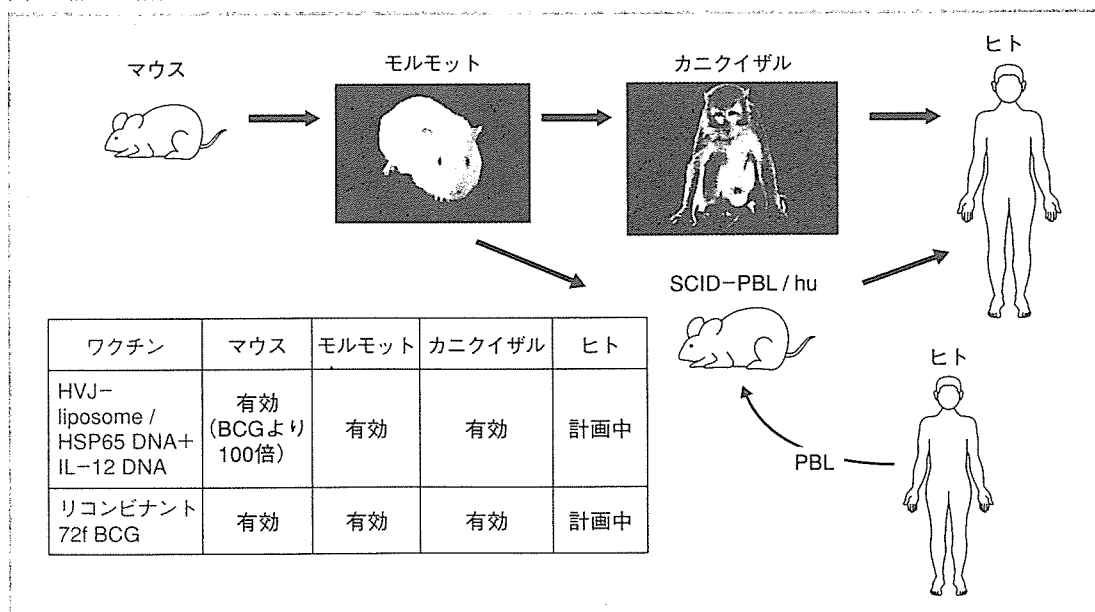
表1 新しい結核ワクチンの開発

| | |
|--|--|
| (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) DNA ワクチン HVJ-エンベロープ / HSP65DNA + IL-12 DNA | BCG よりはるかに有効 (マウス) |
| (3) 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) |
| (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 (1,000 倍発現効率↑), Adenovirus ベクター | |

→WHO STOP TB Partnership および WHO STOP TB Vaccines Working Group に選出

略語：巻末の略語集参照

図1 新しい結核ワクチンの開発



新しい結核ワクチン開発

1. 現行の BCG ワクチンの有用性

BCG ワクチンの評価は困難である。結核が地球規模での脅威であり、ほかに何ら予防法も治療法も確立されていなかった 70 年以上も前から広範に用いられ、多くの先進国ではその導入と結核の減少に平行関係がみられたこと、安全なワクチンであることより、感染予防効果に厳密な疫学的証拠があるか否かが明確でないままに、長年用いられてきたことがその理由である。1940 年代後半から BCG の結核予防効果に関する野外調査の報告がみられる。高いものは 80% の予防効果から低いものは 0% までの相反する結果が得られている¹⁰⁾。

現行の BCG ワクチンの評価が WHO によりなされた。すなわち、大人（成人）結核に対しては BCG ワクチンは予防効果がないという結論が WHO によって報告された。10 万人を超える南インド農民を対象として実施された大規模な controlled trial (Chingleput study) では、全く有効性が否定される結果となった（上記 WHO の報告）¹⁰⁾。（ただし、小児における結核性髄膜炎や粟粒結核など播種性のものには十分な予防効果がある。）したがって、成人の結核に対し有効な新しい結核ワクチンの開発が必須である。事実 1998 年米国政府・ACET, CDC が政府、研究所、大学・企業の三者が一体となって新しい結核ワクチン開発が必須であることを表明した¹¹⁾。

2. BCG ワクチンより 1 万倍強力な結核予防ワクチン

我々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が、画期的な結核の新しいワクチンを開発した。マウスの実験で現行の BCG ワクチンを超える極めて強力な有効性（1 万倍の効果）を確認した。マウスの結核感染系では、BCG ワクチンをはるかに凌駕する新しい結核ワクチンは極めて少ない。我々は、HSP65 DNA + IL-12 DNA (HVJ-エンベロープベクター) のワクチンは BCG ワクチンよりも 1 万倍強力な結核予防ワクチンであることを世界に先駆けて明らかにした。これらの研究が国内外より極めて高く評価され、当臨床研究センターは WHO（世界保健機関）より WHO STOP TB Partnership に選ばれた。また、大阪大学大学院（医学系研究科）・連携大学院にも選ばれた（表 1）。

表2 新しい結核ワクチン

| |
|---|
| <p>1. サブユニットワクチン</p> <p>Mtb 72f fusion タンパク</p> <p>85B-ESAT6 fusion タンパク</p> <p>α 抗原 (Antigen 85B), Ag 85A, MPB51, ESAT-6, HSP65</p> <p>19 kd lipoprotein</p> <p>リコンビナントサイトカイン (吸入・注射) (IFNγ など)</p> <p>新しい結核タンパク抗原 Mtb8.8, Mtb9.9, Mtb32, Mtb39, Mtb11 など</p> <p>2. DNA ワクチン</p> <p>HSP65 DNA, IL-12 遺伝子, HSP70 DNA, ESAT-6 DNA, IL-6 遺伝子, IL-6 遺伝子 + IL-6 レセプター遺伝子 + gp130 遺伝子, IFNγ 遺伝子, Mtb72f 遺伝子, IL-15 遺伝子, IL-18 遺伝子, M-CSF 遺伝子, 38 kd DNA, キラー T 誘導タンパク遺伝子, CD40L 遺伝子, MPT64 DNA, MPT63 DNA, Kat G DNA, 上記の新しい結核タンパク抗原遺伝子</p> <p>3. リコンビナント BCG ワクチン</p> <p>① Mtb 72f 遺伝子</p> <p>② Antigen 85A -, 85B -, 85C -, MPB51 - 遺伝子, MDP-1 遺伝子, ESAT-6 遺伝子, HSP65 遺伝子</p> <p>③ IL-6 遺伝子, IFNγ 遺伝子, IL-2 遺伝子, IL-12 遺伝子, IL-18 遺伝子</p> <p>④ キラー T 誘導結核タンパク遺伝子</p> <p>4. attenuated 結核菌</p> <p>attenuated サルモネラ菌に結核免疫増強 DNA 導入</p> <p>attenuated リステリア菌に結核免疫増強 DNA 導入</p> <p>5. キラー T 細胞移入</p> |
|---|

略語：巻末の略語集参照

3. 新しい結核ワクチン

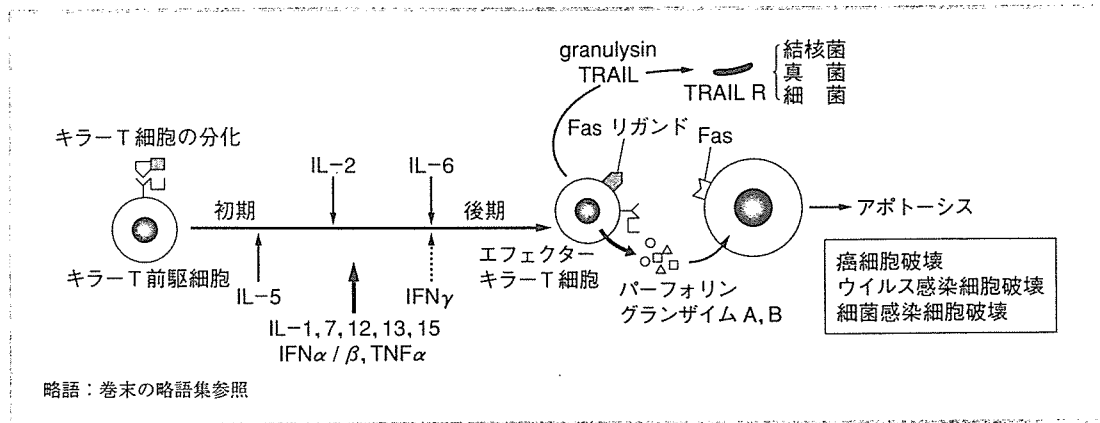
結核ワクチンは ① サブユニットワクチン, ② DNA ワクチン, ③ リコンビナント BCG ワクチン (弱毒化結核菌を含む), その他に大別される (表2).

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極めて少ない. 我々は HVJ-liposome / 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 (表1, 図2)⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁹⁾⁽¹¹⁾.

(1) DNA ワクチン

我々は IL-12 DNA + HSP65 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 よりも極めて強力な (約 100

図2 キラーT細胞活性化と細胞傷害機構



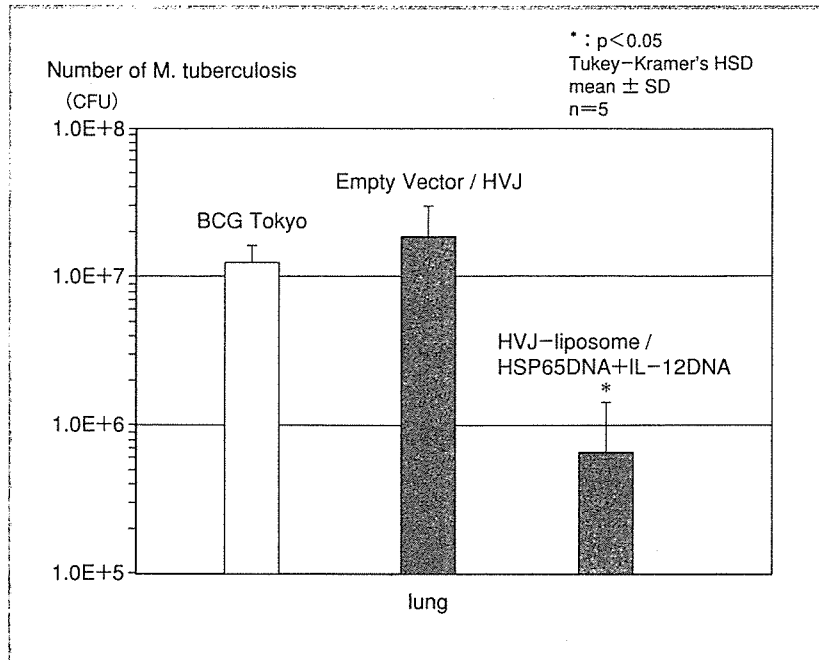
倍) 結核予防ワクチンであることを明らかにした (自治医科大学吉田博士との共同研究). IL-12 の p35 および p40 を CMV プロモーター下流域に挿入した発現プラスミドを作製した. さらに, ヒト型結核菌 H37RV 由来 HSP65 DNA ワクチンの作製に成功した (表1)¹¹⁾.

HVJ リポソームをベクターに用いた場合, HSP65 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) (図2).

さらに, HSP65 DNA と IL-12 DNA 両者の DNA ワクチンを投与した, HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンマウスでは, BCG 東京ワクチンマウスの肺, 肝, 脾の結核菌数の 100 倍以上の減少が認められた. すなわち, HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは, BCG に比較して 100 倍以上強力な結核予防ワクチン効果を示した. さらに, この HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは, HSP65 タンパク抗原に対する脾リンパ球増殖反応を著明に増幅した (BCG ワクチンよりはるかに強い増殖反応). また, KS-Elispot Assay 自動計測器 (ELISA Assay の 200 倍以上の感度) を用いて, HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは脾臓のインターフェロン (IFN) γ 産生細胞数の増強と IFN γ 産生細胞の著しい分化増強を誘導することを明らかにした¹¹⁾.

さらに, 結核菌に対する CD8 陽性キラーT細胞の分化誘導を増強した. また, 結核菌抗原の主要な抗原タンパクである HSP65 タンパク抗原に対する CD8 陽性キラーT細胞の分化誘導を著明に増強し

図3 Prophylactic efficacy of HVJ-liposome / HSP65 DNA+IL-12 DNA vaccine on TB-infected mice (5weeks after TB infection)



た。一方、BCG ワクチンは結核菌に対するキラーT細胞や HSP65 タンパクに対するキラーT細胞誘導活性はほとんど認められなかった(図3, 図4)¹¹⁾。

このように、HVJ-リポソーム/HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは結核菌に対するキラーT細胞分化誘導、IFN γ 産生細胞分化誘導、T細胞増殖反応増強を介して、BCG ワクチンより100倍以上強力な結核予防ワクチン効果を発揮することが示された⁶⁾⁷⁾⁹⁾。

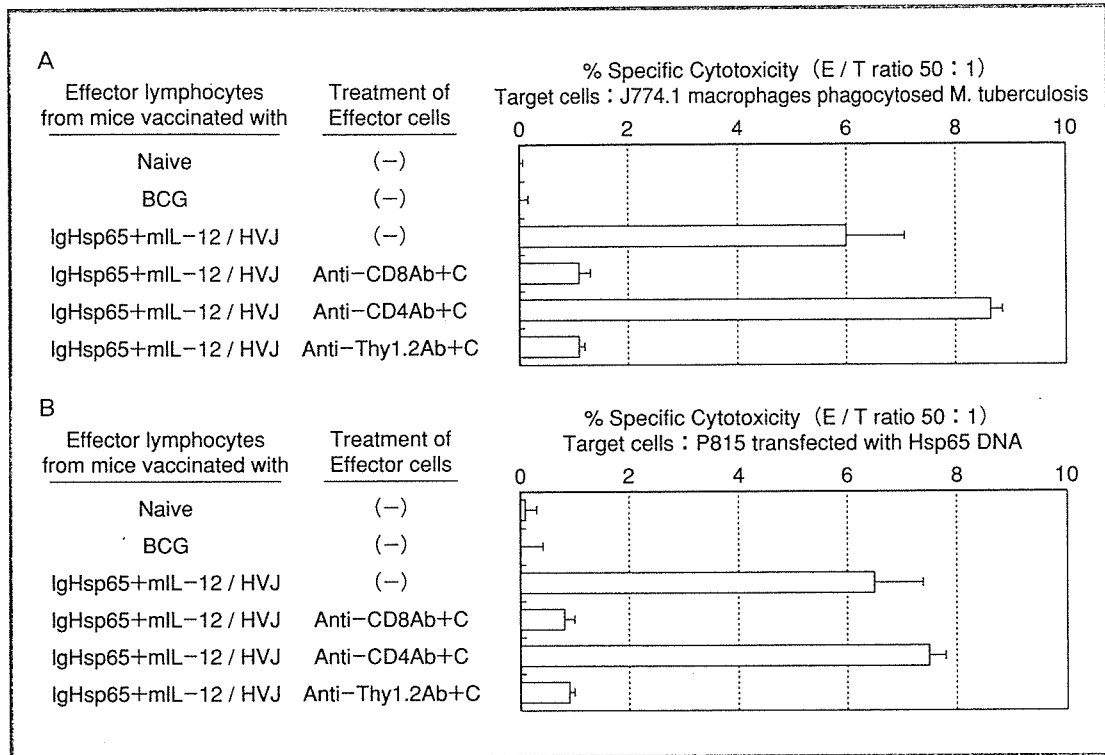
アデノウイルスベクターに導入したIL-6 関連遺伝子(IL-6 遺伝子+IL-6 受容体遺伝子+gp130 遺伝子)ワクチンは、BCG よりも強力な治療ワクチン効果を示した。

以上のワクチン効果は、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(表1)。

新しい結核ワクチンの開発研究が高く評価され、WHO STOP TB Vaccines Working Group に選出された。

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

図4 Induction of CD8⁺CTL against *M. tuberculosis* in the spleen cells from HVJ-liposome / HSP65 DNA+ IL-12 DNA vaccine



同等の防御効果が得られることを明らかにした。

(2) リコンビナント BCG ワクチン

結核菌は 300 種以上のタンパク質を分泌するが、 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。我々は 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⁶⁾⁷⁾⁹⁾。さらに最近、サブユニットワクチンの Mtb72f 融合タンパク質の¹²⁾ DNA を導入したリコンビナント 72f BCG の作製に成功した。このリコンビナント 72f BCG は、BA51 rBCG と同程度の極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 で明らかにした。

(3) 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。我々は(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。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¹³⁾。

(4) 我々が開発した新しい結核ワクチン

新ワクチンは, 前述のごとく, 結核菌の HSP65 というタンパク質と免疫力を高める働きのある IL-12 を作る遺伝子 (DNA) を注射する DNA ワクチンと呼ばれるものである。HVJ ウイルスの殻を利用して DNA を体内の細胞内に送り込んでこれらのタンパク質を作らせ, 強い免疫反応の誘導を狙った。この新しいワクチンは結核免疫に最も重要と考えられている(結核菌に対する) CD8 陽性キラー T 細胞の分化を増強した。さらに, IFN γ 産生 T 細胞の分化を増強した。

マウスに新ワクチンを接種した後, 結核菌を感染させ, 5 週間後の結核菌の数を調べた。すると, 新ワクチンを接種したマウスの菌数は BCG 接種のマウスの約 1 千分の 1 で発症を抑えられる程度だった。さらに, あらかじめ BCG を接種してから新ワクチンを打つと, 菌数は約 1 万分の 1 まで抑えられていた。

4. 新しいヒト生体内抗結核免疫解析モデル SCID-PBL/hu

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, 結核菌タンパク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⁾。

結核ワクチンと獲得免疫・キラー T 細胞

1. キラー T 細胞 (CD8⁺ T 細胞)

CD8 あるいは β_2 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 3)³⁾¹⁴⁻¹⁹⁾。

キラーTの1つの役割としてIFN γ 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マクロファージ(M ϕ)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。CD8⁺T細胞が結核菌で感染したM ϕ 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。このT細胞はCD1-restrictedでミコール酸, リポ・アラビノマンナン(LAM), phosphatidyl inositol mannoside, glucose monomycolate, isoprenoid glycolipid (Cdlc と結合)などの結核菌lipidとlipoglycanを認識する。このキラーTの顆粒内のタンパクである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M ϕ 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によりM ϕ に穴が開き、M ϕ 内の結核菌に直接granulysinが作用するためと思われる。我々は結核患者、特に多剤耐性結核患者ではキラーT細胞のmRNAの発現およびタンパクの発現が低下していることを明らかにした⁹⁷⁾。すなわち、我々はキラーT細胞のgranulysin(分子量9000)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細胞の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(図3)。

一方、MHCクラスI拘束性の結核菌の38kDタンパク、HSP65タンパクを認識するマウスCD8⁺キラーT細胞や、19kDタンパク、Ag85, CFP10(Mtb11)を認識するヒトCD8⁺キラーT細胞が報告されている。ESAT-6抗原に対するキラーT細胞で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。我々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細胞を生体内で誘導することに初めて成功した。

結核ワクチンの展望

1. 新しい結核ワクチンの臨床応用

カニクイザル(cynomolgus monkey, 最もヒトの肺結核に近いモ