

図 2 HVJ/HSP65DNA+IL-12DNA ワクチン接種マウスにおける結核菌特異的 CD8 陽性 CTL の誘導

## 2 キラー T 細胞と結核

CD8 あるいは  $\beta_2$ 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<sup>+</sup>T 細胞はマウスで抗結核免疫に重要である(図 1, 2) (当ミニ・レビュー岡田, 喜多のキラー T 細胞, granulysin による結核免疫の項参照)<sup>7)</sup>。

キラー T の一つの役割として IFN- $\gamma$  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 M $\phi$  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<sup>+</sup>T 細胞が結核菌で感染した M $\phi$  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, 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 M $\phi$  内の結核菌も殺すと考えられている<sup>10)11)</sup>。これはパーフォリンより M $\phi$  に穴が開き, M $\phi$  内の結核菌に直接 granulysin が作用するためと思われる。一方, われわれは結核患者, 特に多剤耐性結核患者では CD8<sup>+</sup>キラー T リンパ球の 15kilodalton granulysin (15K granulysin) 蛋白の発現が低下していることを明らかにした<sup>8)9)12)</sup>。すなわち, キラー T 細胞の granulysin (分子量 15,000) 産生低下が結核発症や多剤耐性結核発症と大きな関連がある。事実タイにおいて, 結核患者では血清中の 15K granulysin 低下を発見した<sup>12)</sup>。

一方, granulysin がキラー T 分化因子の一つであることを発見し, マウスで結核治療効果を示した (特許取得)。granulysin 遺伝子導入マウスを作製した。

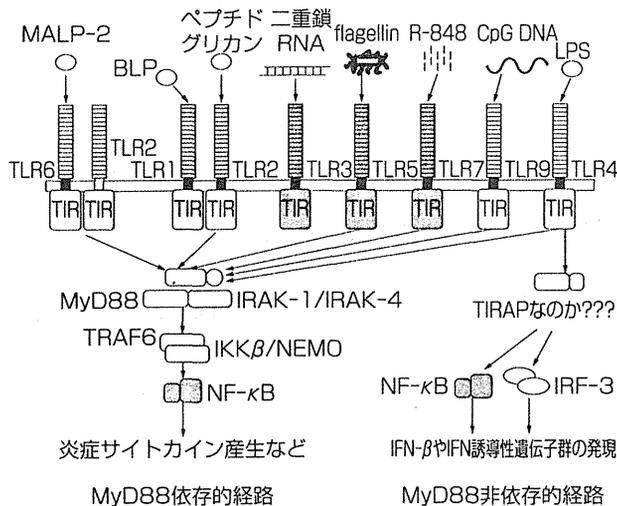


図 3 TLR による結核菌認識機構

表 2 TLR と結核菌成分

結核菌成分	レセプター
LAM	TLR2
CWS	TLR2/4
peptidoglycan	TLR2/4
19-kDa lipoprotein	TLR2
CpG repeat	TLR9

## 結核と自然免疫

### 1 マクロファージ (Mφ)

結核菌の増殖場所は Mφ 内である。一方、Mφ 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<sup>7)</sup> 参照)。殺菌性ラジカルである活性酸素、各種殺菌蛋白 ROI や NO などの RNI, TACO, Nramp も結核菌の殺傷に関与する。

### 2 Toll-like 受容体および pathogen recognition receptor とマクロファージ・樹状細胞活性化

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<sup>13)14)</sup>。

TLR (TLR1~TLR10) はそのリガンドによって大きく 3 つに分類される (図 3)。

このうち菌体膜由来の糖脂質を認識する TLR としては、TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, TLR9 である。

結核菌の cell wall (LAM, mAGP, total lipid) による応答は TLR2 を介する (表 2)。一方、結核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 Mφ 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 Mφ を活性化する。この差が発病の差となる可能性もある。結核菌成分 19 kDa の lipoprotein が TLR2 を介して Mφ を活性化する。また、抗酸菌 DNA から見いだされた 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<sup>13)</sup>。

TLR はそれぞれ病原微生物由来の構成成分を認識する。TLR シグナルを介するシグナル伝達経路には MyD88 を介する MyD88 依

存的経路と MyD88 を介さない MyD88 非依存的経路の2つが存在する。

この MyD88 非依存的経路を担うアダプター分子が TRIF である。われわれは竹田との共同研究で TRIF (-/-) × MyD88 (-/-) ダブルノックアウトマウスを用い、結核菌に対する易感染性を解析しつつある。

TLR 以外にも PRR (pathogen recognition receptor) として DC-SIGN, NOD ファミリー, マンノース受容体, スカベンジャー受容体, dectin-1 が挙げられる。HIV や *M. tuberculosis* は DC-SIGN に結合して樹状細胞に入り込むが、その際、その TLR による自然免疫機構の活性化を抑制し、これらの病原体の生存を有利にする機構が働いていることが示された。NOD1, NOD2 を中心とする CARD ファミリーの分子は、膜貫通領域をもたず、細胞質蛋白として存在する。NOD2 は、古くより菌体由来の免疫調整物質として知られていた PGN の構成成分であるムラミルジペプチド (muramyl dipeptide: MDP) を認識することが、示された<sup>3)</sup>。

### 3 樹状細胞

ウイルス感染時において、免疫担当細胞の1つである樹状細胞 (dendritic cell: DC) は大量の I 型 INF を産生することが知られている。pDC は、TLR7, TLR9 を高発現しているという特徴をもつ。

## サイトカインと結核

### 1 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<sup>+</sup> 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インが必要であることをはじめに明らかにした。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一つであることを示した (図 2)<sup>15)~17)</sup>。

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<sup>15)</sup>、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- $\gamma$  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。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<sup>18)</sup>。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, IFN- $\gamma$ , IL-6 の著明な低下を認めた<sup>3)</sup>。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<sup>3)</sup>。

### 2 サイトカインと結核免疫

細胞内寄生細胞 (特に結核菌) は M $\phi$  に貪食されても殺菌処理されず、細胞内増殖が可能な菌である。種々の機構で M $\phi$  の殺菌から逃れ、結果的に慢性持続性炎症 (慢性感染症) および肉芽腫形成を誘発する。抗結核菌免疫に IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12 が重要であることは解析されている<sup>19)20)</sup>。

### 3 IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12, IL-15 と結核免疫

細菌の貪食に伴って M $\phi$  が産生するサイトカインのうち、IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$  や IL-1 は、T 細胞, NK 細胞および  $\gamma\delta$  型 T 細胞

からの IFN- $\gamma$  産生誘導に関与している。IFN- $\gamma$  は、M $\phi$  を活性化し貪食した菌の殺菌処理を促進するヘルパー T 細胞、キラー T 細胞の分化因子としても作用する。IL-12 と IFN- $\gamma$  産生の間にはポジティブフィードバック機構が働いて IFN- $\gamma$  は M $\phi$  からの IL-12 産生を誘導し、IL-12 は T 細胞からの IFN- $\gamma$  産生をさらに増幅し、初期防御反応では感染局所に M $\phi$  を集め、特異的防御免疫が成立する<sup>19)</sup>。

また、IL-15 はメモリーキラー T 細胞を活性化して結核免疫に寄与する。一方、IL-10 は結核免疫の M $\phi$  機能を抑制する。IL-10, TGF- $\beta$ , IL-4 も結核に対する免疫応答を抑制する。

結核性肉芽腫の形成に TNF- $\alpha$  の存在が最も重要である。

#### 4 IL-23, IL-27, IL-31, IL-32 と結核免疫

IL-7, IL-15, IL-17, IL-23, IL-27, IL-31 はキラー T 分化を誘導した。

#### 5 ヒトサイトカイン産生異常症およびサイトカインレセプター異常と結核感染

ヒトにおいて、IFN- $\gamma$  受容体遺伝子に変異がみられた先天性 IFN- $\gamma$  レセプター欠損児に、BCG ワクチン注射で重症全身性感染が認められたり *M. avium* 感染症を来した、マウスでも IFN- $\gamma$  遺伝子ノックアウトマウスや IFN- $\gamma$  受容体遺伝子ノックアウトマウスでは結核易感性である<sup>19)</sup>。

TNF- $\alpha$  は肉芽腫形成のみでなく慢性の長期感染結核に重要であり、抗 TNF- $\alpha$  抗体投与マウスや、TNF レセプター (TNF-Rp55) 欠失マウス、TNF- $-/-$ マウスでは結核菌感染

の死亡率が著増し、肉芽腫形成も損なわれた重症の肺結核病理像を示した。筆者らは世界に先がけて IL-6 産生能欠損患者 IL-6 $-/-$ 患者を発見した。この患者は易感染性に肺炎を繰り返し発症した。興味深いことに肺炎感染時 CRP 陰性で発熱も認められなかった。

IL-12 レセプター欠損マウスや IL-12 欠損患者では結核菌感染・増殖を抑制できなかった。IL-12p40 と IL-12R $\beta_1$ 欠損患者では IL-12 とホモロジーのある IL-23 や IL-23R 欠損を伴うことが多い。IL-12 欠損、IL-12R 欠損患者の易結核菌感染性が IL-23 $-/-$ に起因する可能性がある。

#### 6 サイトカインと結核治療

① マウスの系において、筆者らはアデノウイルスベクターに IL-6 関連遺伝子 (IL-6 DNA + IL-6 レセプター DNA + gp130 DNA) を導入し、結核感染治療効果を明らかにした。結核菌に特異的キラー T 細胞誘導活性、IL-2 産生増強と相関した。

② Condos らは多剤耐性結核の 5 症例に対して、IFN- $\gamma$  の吸入治療を試みた。5 例中 4 例で喀痰塗抹で菌陰性化した。

#### 7 肉芽腫形成とサイトカイン

結核性肉芽腫の形成に TNF- $\alpha$  の存在が最も重要である。近年新しい抗リウマチ薬としてモノクローナル抗 TNF- $\alpha$  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。

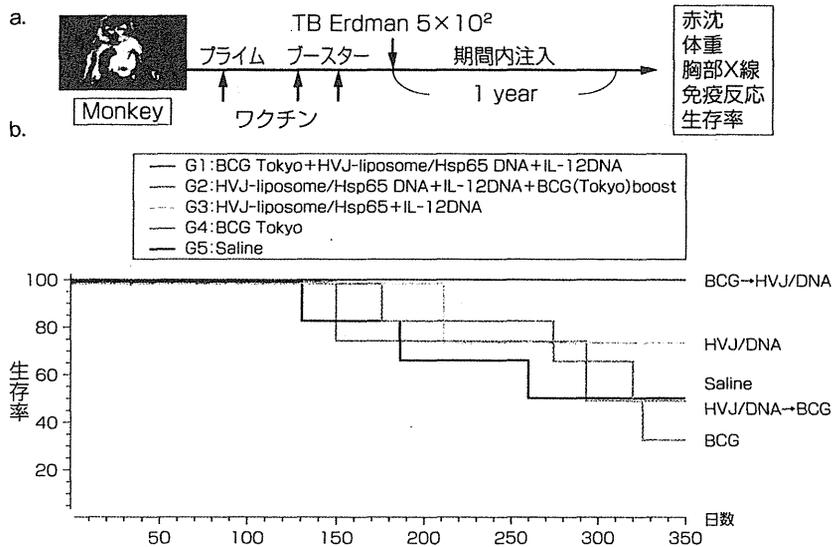


図 4 ヒトの結核感染に最も近いカニクイザルを用いた HVJ-リポソーム/HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンの結核予防効果

## 新しい結核ワクチンと免疫

### 1 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<sup>21)</sup>, 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) に大別される。

### 2 DNA ワクチン

#### ● BCG ワクチンより 1 万倍強力な結核予防ワクチン (表 1)

われわれは 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 (図 4a)。

このワクチンは、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ワクチン

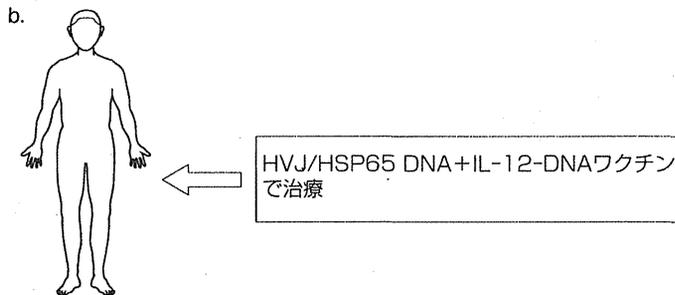
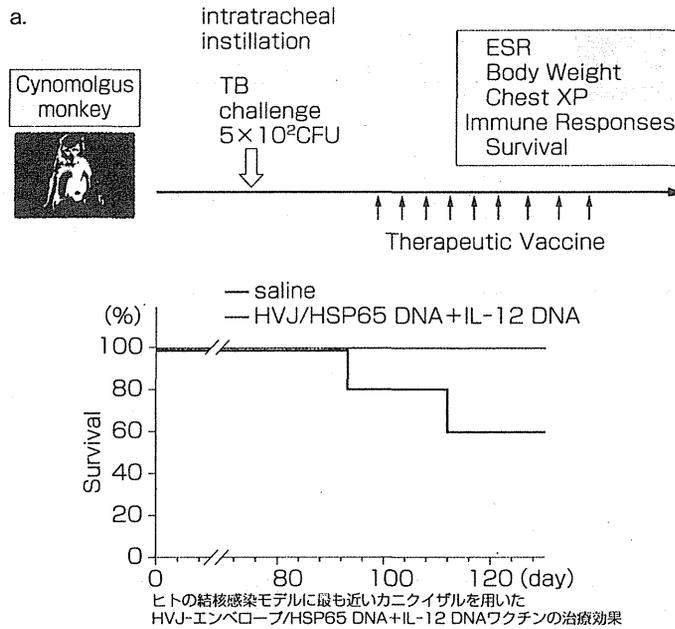
効果とキラー T 活性が相関した<sup>6)22)23)</sup> (図 2)。

さらに、このワクチンを多剤耐性結核菌感染後にワクチン投与し、多剤耐性結核治療ワクチン効果を示した。また、超薬剤耐性結核 (XDR-TB) に対しても治療効果 (延命効果) をこのワクチンは発揮した。

これらの研究が高く評価され、筆者は WHO STOP TB Partnership および WHO の WGND (Working Group on New TB Drugs) のメンバーに選出された。

### 3 SCID-PBL/hu を用いたヒトワクチン効果

IL-2R $\gamma$  鎖遺伝子欠損 SCID-PBL/hu の系で結核患者リンパ球を SCID マウスに生着させ、ヒト結核ワクチン効果解析モデルを初めて開発した<sup>24)</sup>。



多剤耐性結核患

図 5 結核治療ワクチン

## 新しい結核ワクチンの開発状況 (臨床応用)

### 1 Stop TB Partnership (WHO)

WHO は現在進行中で、しかも臨床応用に有望な新しい結核ワクチン開発のリストを発表した。われわれの HVJ/Hsp65DNA+IL-12DNA ワクチンも候補の一つとしてその中に推奨されている。

## 2 結核ワクチンの応用の可能性

### A 新しい結核ワクチンの臨床応用

カニクイザル (最もヒトの結核感染に近いモデル) を用い BCG より強力な予防ワクチン効果 (生存率, 免疫反応, 血沈, 肺の X 線像) を示すこのワクチンを開発した<sup>5)25)26)</sup> (表 1)。

### B プライム・ブースト法

BCG をプライムし, HSP65+IL-12 DNA ワ

クチンをブーストする方法を用いた。サルでこのプライム・ブースト法で100%の生存を示した<sup>3)4)7)</sup>(図4)。本邦では乳幼児にBCG接種(プライム)が義務づけられていることにより、成人ワクチン(中学生, 成人, 高齢者)としてこのDNAワクチンをブーストとして用いる結核ワクチンの臨床応用案である<sup>3)5)7)</sup>。

### ㊦ 治療ワクチン

感染したカニクイザルの系でこのワクチンを投与した。この群では100%の生存率が認められた<sup>4)23)</sup>。このワクチンはカニクイザルの系において治療ワクチン効果を示し、ヒトMDR-TB, XDR-TBの治療剤として極めて有用であることが示唆された(図5)。

## おわりに

最近の獲得免疫と結核, 自然免疫と結核, サイトカインと結核についてレビューした。2009年WHOの委員会においてわれわれのHSP65DNA+IL-12DNAワクチンによる結核治療効果が高く評価された。このワクチンが結核の発症予防や治療に役立つ日を夢見ている。

### 文献

- 岡田全司. 結核. 分子予防環境医学研究会, 編. 分子予防環境医学: 生命科学研究所の予防・環境医学への統合. 東京: 本の泉社, 2010: 141-56.
- Flynn JL, Chan J. Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 93-129.
- Okada M, Kita Y. Tuberculosis vaccine development: the development of novel (preclinical) DNA vaccine. *Human Vaccine* 2010; 6: 1-12.
- Okada M, Kita Y, Nakajima T, et al. Novel prophylactic and therapeutic vaccine against tuberculosis. *Vaccine* 2009; 27: 3267-70.
- Okada M, Kita Y, Nakajima T, et al. Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. *Vaccine* 2007; 25: 2990-3.
- Yoshida S, Tanaka T, Kita Y, 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: 1191-204.
- Okada M, Kita Y. Anti-tuberculosis immunity by cytotoxic T cells. Granulysin and the development of novel vaccines. (HSP65 DNA + IL-12 DNA). *Kekkaku* 2010; 85: 531-8.
- Okada M, Kita Y, Nakajima T, et al. The study of novel DNA vaccines against tuberculosis: induction of pathogen-specific CTL in the mouse and monkey models of tuberculosis. *Hum Vaccin Immunother* 2013; 9: 515-25.
- Kita Y, Hashimoto S, Nakajima T, et al. Novel therapeutic vaccines [(Hsp65 + IL-12) DNA-, granulysin- and Ksp37-vaccine] against tuberculosis and synergistic effects in the combination with chemotherapy. *Hum Vaccin Immunother* 2013; 9: 526-33.
- Stenger S, Hanson DA, Teitebaum R, et al. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 1998; 282: 121-5.
- Huang LP, Lyu SC, Clayberger C, et al. Granulysin-mediated tumor rejection in transgenic mice. *J Immunol* 2007; 178: 77-84.
- Pitabut N, Mahasirimongkol S, Yanai H, et al. Decreased plasma granulysin and increased interferon-gamma concentrations in patients with newly diagnosed and relapsed tuberculosis. *Microbiol Immunol* 2011; 55: 565-73.
- Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *Adv Immunol* 2001; 78: 1-56.
- 加藤博巳, 審良静男. RNAウイルス認識におけるMDA5とRIG-Iヘリケースの役割. *Annual Review 免疫*. 東京: 中外医学社, 2008: 57-60.
- Okada M, Yoshimura N, Kaieda T, et al. Establish-

ment and characterization of human T hybrid cells secreting immunoregulatory molecules. Proc Natl Acad Sci USA 1981 ; 78 : 7718-21.

- 16) 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 : 583-90.
- 17) Kaieda T, Okada M, Yoshimura N, et al. A human helper T cell clone secreting both killer helper factor (s) and T cell replacing factor (s). J Immunol 1982 ; 129 : 46-51.
- 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 : 1543-9.
- 19) 岡田全司. 結核感染. サイトカインの病態への関与 : 感染症. 別冊・医学のあゆみ サイトカイン state of arts 2004 : 209-13.
- 20) 岡田全司. 結核ワクチン. 泉 孝英, 監. 結核, 第4版. 東京 : 医学書院, 2006.
- 21) Skeiky YA, Alderson MR, Ovendale PJ, et al. Differential immune responses and protective efficacy induced by components of a tuberculosis polyprotein vaccine, Mtb72F, delivered as naked DNA or recombinant protein. J Immunol 2004 ; 172 : 7618-28.
- 22) Okada M, Kita Y, Nakajima T, et al. Novel prophylactic vaccine using a prime-boost method and hemagglutinating virus of Japan-envelope against tuberculosis. Clin Dev Immunol 2011 ; e549281.
- 23) 岡田全司. 新たな結核ワクチン. 感染・炎症・免疫 2011 ; 41 : 46-51.
- 24) 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 : 1335-43.
- 25) 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.
- 26) Walsh GP, Tan EV, dela Cruz EC, et al. The Philippine cynomolgus monkey provides a new non-human primate model of tuberculosis that resem-

bles human disease. Nat Med 1996 ; 2 : 430-6.

## ABSTRACT

### Immunity against *Mycobacterium Tuberculosis*

Masaji OKADA\*

One-third of the world's population is infected with *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), and 2 million people die from tuberculosis (TB) every year. It is well established that protection against TB depends on both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells. In particular, cells involved in acquired immune responses (cytotoxic T cells, Th1 helper T cells, and macrophages) play an important role in the TB defense. Recently, it has been shown that innate immune receptors such as the Toll-Like Receptors (TLRs) also play a very important role in the development of anti-TB immunity.

Recent advances in TB immunity have been reviewed, including (1) T cell immunity, (2) TLR biology (3) acquired immunity (CTL) and granulysin-mediated cytotoxicity, and (4) development of a novel DNA vaccine against TB (HSP65+IL-12 DNA vaccine). Compared to the BCG vaccine, this DNA vaccine was shown to provide a considerable degree of protection in mice by inducing the generation of CD8<sup>+</sup> positive CTLs. This vaccine was also effective in the treatment of multi-drug resistant TB (MDR-TB) and extremely drug resistant TB (XDR-TB). This novel vaccine conferred a higher degree of protection than the BCG vaccine in various monkey models, including a cynomolgus monkey model, which is currently the best animal model of human tuberculosis. Furthermore, this vaccine demonstrated therapeutic efficacy and augmented the immune responses in TB-infected monkeys. These data indicate that our novel DNA vaccine might be useful against TB, including XDR-TB and MDR-TB, and hence should be evaluated in human therapeutic clinical trials.

(Author's)

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

BCG—結核予防ワクチン (DNA ワクチン)

101. 結核予防ワクチン (DNA ワクチン) の開発状況とその応用の可能性について教えてください

回答・解説 岡田全司\* 喜多洋子\* 橋元里実\* 西田泰子\*  
仲谷 均\* 西松志保\* 木岡由美子\*

回答要旨

BCG ワクチンは小児 (乳幼児) の結核性髄膜炎や粟粒結核に有効である。しかしながら、成人の結核に対する予防ワクチンとしては無効である。したがって、成人の結核に対しても有効な新しい結核ワクチン Hsp65 DNA+IL-12 DNA ワクチンを開発した。このワクチンはマウスの系で、BCG ワクチンよりも 1 万倍強力な結核予防ワクチン効果を示した。さらに、ヒトの結核感染にもっとも近いカニクイザルでも、強力な結核予防効果を発揮した。このワクチンは小児に対する BCG ワクチンに代わる、より強力なワクチンになる可能性が考えられる。他の研究者の種々の新しい結核ワクチンの臨床試験などについても言及する。

感染を受け、毎年 940 万人の結核患者が発生し、180 万人が毎年結核で死亡している、最大の感染症の一つである<sup>1-3)</sup>。1998 年、米国 CDC および ACFT 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。BCG ワクチンは成人の結核予防に無効であることが WHO より発表され、わが国でも法令改正が行われ、小・中学生、成人の定期的 BCG 接種が中止となった。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いたっていない。われわれは BCG よりもはるかに強力な新しい結核予防ワクチン (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 (表)<sup>4,5)</sup>。

解説

はじめに

結核は、いまだに世界の人口の 1/3 が結核菌の

1. 新たな結核ワクチン (DNA ワクチンなど)
- 1) 新しい結核ワクチン

結核ワクチンは ① DNA ワクチン、② リコンビナント BCG ワクチン (弱毒化結核菌を含む)、③

表 新しい結核ワクチンにおける動物実験モデルを用いた開発研究

ワクチン	マウス	モルモット	サル	SCIDPBL/hu	ヒト
HVJ-エンベロープ/ Hsp65 DNA+IL-12 DNA	BCG ワクチンより 1 万倍強力な予防ワクチン効果	有効	有効		計画 (第 I 相, II 相)
	治療効果	計画	治療効果	治療効果	
	多剤耐性結核に治療効果 超薬剤耐性結核に治療効果	計画	計画		
HVJ-リボソーム/ Hsp65 DNA+IL-12 DNA	BCG ワクチンより 100 倍強力な予防ワクチン効果	有効	有効 (100%生存)		
	リコンビナント 72 f BCG	予防ワクチン効果 (有効)	有効	有効	

OKADA Masaji KITA Yoko HASHIMOTO Satomi NISHIDA Yasuko NAKATANI Hitoshi NISHIMATSU Shiho KIOKA Yumiko

\*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 堺市北区長曾根町 1180]

TEL 072-252-3021 FAX 072-251-2153 E-mail: okm@kch.hosp.go.jp

サブユニットワクチンに大別される。

2) DNA ワクチン：BCG ワクチンより 1 万倍強力な結核予防ワクチン (図 1)

われわれは、マウスの系で Hsp65 DNA + IL-12 DNA (HVJ-エンベロープ) のワクチン (Hsp65 DNA ワクチン) が 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。すなわち BCG プライム-boost 予防投与群は、BCG 単独予防ワクチン群に比較してマウス肺内結核菌数を 1 万分の 1 に減少させた。なお、Hsp65 は結核菌由来の Heat Shock Protein 65 kDa で、後述の Antigen (Ag) 85A タンパクと同様に結核免疫を強く誘導する。

このワクチンは、結核菌に対するキラー T 細胞の分化誘導を増強しワクチン効果を発揮した<sup>4)</sup>。さらに、このワクチンは、多剤耐性結核や超薬剤耐性結核 (XDR-TB) に対しても治療効果 (延命効果) を発揮した。

これらの研究が高く評価され、筆者は WHO STOP TB Partnership および WHO の WGND (Working Group on New TB Drugs) のメンバーに選出された。

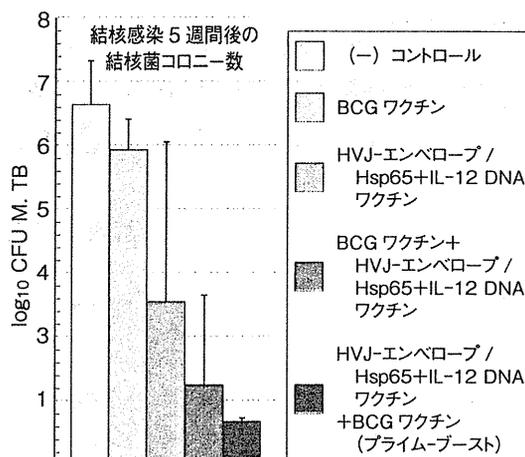


図 1 マウスの結核感染モデルを用いた HVJ-エンベロープ/Hsp65+IL-12 DNA ワクチン (BCG より 1 万倍強力)

2. 新しい結核ワクチンの開発状況 (臨床応用)

1) Stop TB Partnership (WHO)

WHO は現在進行中で、しかも臨床応用に有望な新しい結核ワクチン開発のリストを発表した。われわれの Hsp65 DNA ワクチンも候補の一つとして、そのなかに推奨されている。

2) 結核ワクチンの応用の可能性

● 新しい結核ワクチンの臨床応用

カニクイザル (もっともヒトの結核感染に近いモデル) を用い、BCG より強力な予防ワクチン効

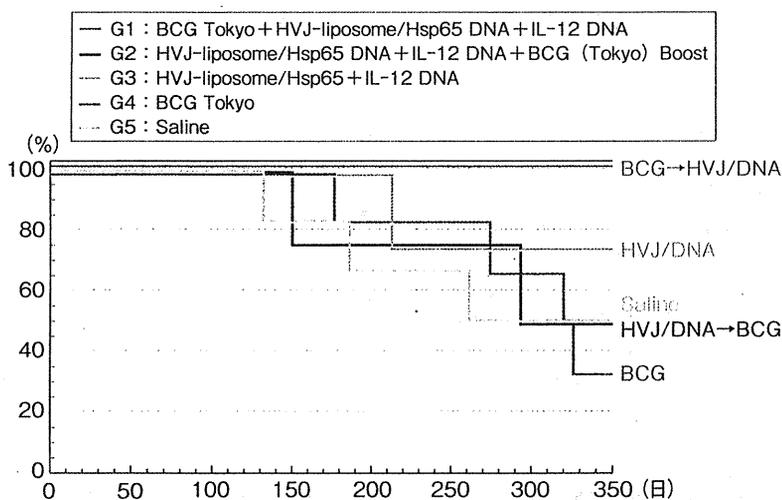


図 2 カニクイザルを用いた HVJ/Hsp65 DNA+IL-12 DNA vaccine と BCG を使ったプライム-boost 法

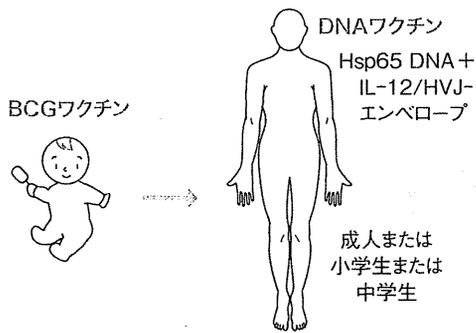


図3 新しい結核予防ワクチン(案)(DNA ワクチン)

果(生存率, 免疫反応, 血沈, 肺のX線像)を示すワクチンを開発した<sup>1-4)</sup>。すなわち, 現在もっとも有力なものとして Hsp65 DNA ワクチンがあげられる(図1)。72f 融合タンパクサブユニットワクチンは第Ⅱ相となっている。McShane Dr. らのワクシニアウイルス-Ag85A DNA ワクチンのⅡb相(double-blind ランダム化)試験が, 南アフリカで約2,800名の小児に対して行われた。BCG 接種歴がある小児で HIV(-)を選んだ。その結果, 結核 QFT 陰性から QFT 陽性への転化(結核感染)において差が認められず, 結核予防ワクチン効果は認められなかった<sup>5)</sup>。

われわれの Hsp65 DNA ワクチンは下記のごとく 85A DNA ワクチンよりも強力な予防ワクチン効果を示すと考えられることより, 早く第Ⅰ相, Ⅱ相試験を行いたい。

④ プライム-ブースト法

マウスと同様に BCG をプライムし, Hsp65 DNA ワクチンをブーストする方法を用いた(図2)。サルでこのプライム-ブースト法で100%の生存を示した(図2)<sup>3)</sup>。一方, BCG ワクチン単独

投与群は33%の生存率であった。わが国では乳幼児に BCG 接種(プライム)が義務づけられていることにより, 成人ワクチン(中学生, 成人, 老人)としてこの DNA ワクチンをブーストとして用いる結核ワクチンの臨床応用案である<sup>3-5)</sup>(図3)。

おわりに

2009年 WHO の委員会において, われわれの Hsp65 DNA + IL-12DNA ワクチンが高く評価された。他に 72f ワクチンや MVA85A ワクチンが評価された。これらのワクチンが結核発症予防に役立つ日が近い。

Key words: 結核ワクチン, DNA ワクチン, キラー T 細胞

文献

- 1) Okada M, Kita Y: Tuberculosis vaccine development: The development of novel (preclinical) DNA vaccine. Hum Vaccin 6: 297-308, 2010
- 2) 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 他: 新しい結核ワクチンの開発. 小児科 51: 1243-1251, 2010
- 3) Okada M, Kita Y, Nakajima T, et al: Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. Vaccine 25: 2990-2993, 2007
- 4) Okada M, Kita Y, Nakajima T, et al: Novel prophylactic vaccine using a prime-boost method and hemagglutinating virus of Japan-envelope against tuberculosis. Clin Dev Immunol [Epub 2011 Mar 7] doi: 10.1155/2011/549281
- 5) Tameris MD, Hatherill M, Landry BS, et al: Safety and efficacy of MVA85A, a new tuberculosis vaccine, in infants previously vaccinated with BCG: a randomised, placebo-controlled phase 2b trial. Lancet 381: 1021-1028, 2013

## グローバル感染症

### 1. 結核におけるワクチンへの期待

— 多剤耐性結核に対する新規治療用 DNA ワクチンの開発・実用化 —

岡田 全 司\*

#### 要 旨

(1) 国内ではワクチンの新規技術である DNA ワクチン開発が遅れている。国内開発に必要な DNA ワクチン・ガイドライン策定には、純国産品での first in human の臨床治験の実施が必要である。したがって、世界に先駆けてそれを計画した。

(2) 多剤耐性結核 (MDR-TB) は難治性で、有効な治療法はない。したがって、MDR-TB に治療効果を発揮する HVJ-エンベロープ/HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンを開発した。このワクチンは MDR-TB 感染マウスで MDR-TB 菌の減少、および超多剤耐性結核感染マウスで治療効果 (生存率改善) を示した。さらに、ヒトの結核感染に最も近いカニクイザルで生存率改善などの結核治療効果を発揮した。したがって、臨床治験を計画している。まずは第 I 相医師主導治験。一方、このワクチンはマウスの系で BCG よりも 1 万倍強力な結核予防ワクチン効果をも示した。さらに、ヒトの結核感染に最も近いカニクイザルでも強力な結核予防効果を発揮した。予防ワクチンの臨床応用も強く期待できる。

#### はじめに

国内では新規技術である DNA ワクチン開発が遅れている。米国で開発された DNA ワクチンの国内治験が開始されたが後期治験からで、国内開発に必要なガイドライン策定に

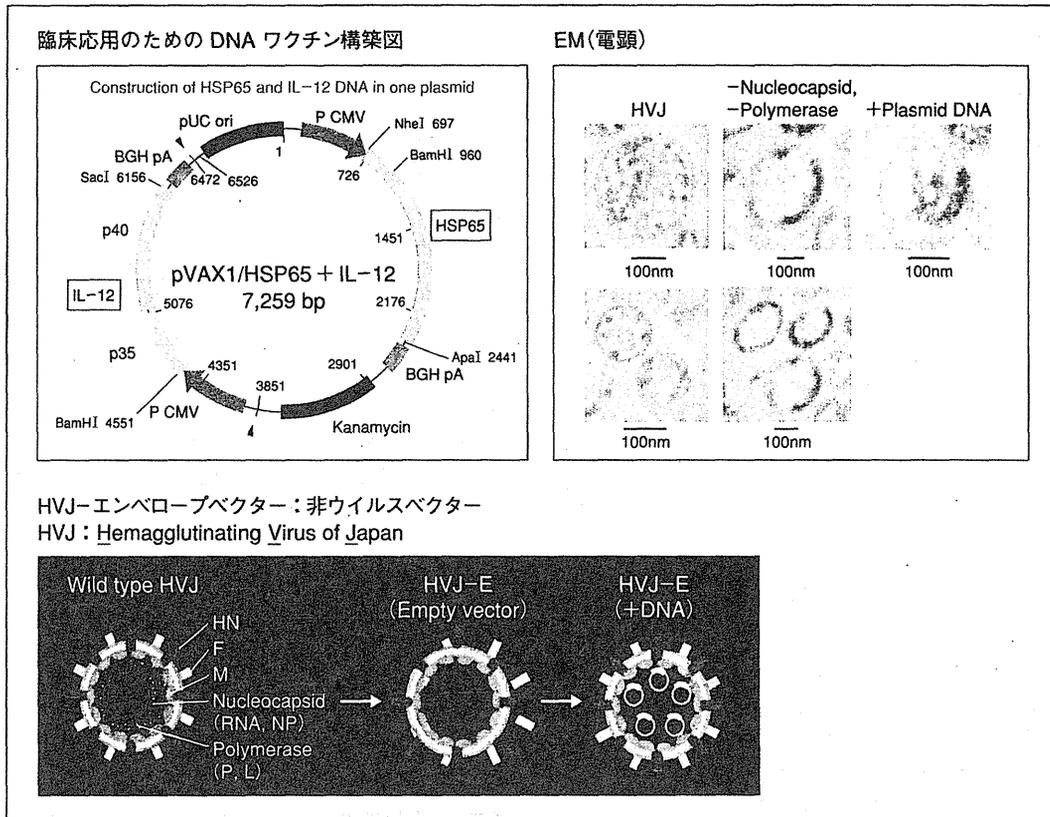
は純国産品で first in human 治験実施の必要性がある。我々は世界で初めて結核治療 DNA ワクチンを開発した。

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 860 万人 (2012 年度) の結核患者が発生し、毎年 130 万人が結核で死亡している。結核は世界の三大感染症の 1 つである<sup>1~4)</sup>。1999 年、「結核緊急事態宣言」が厚生省より出された。一方、BCG は成人の結核予防に無効であることが WHO より報告された。1998 年、米国疾病対策セン

\* 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 センター長

キーワード：DNA ワクチン，  
多剤耐性結核治療ワクチン，  
細胞傷害性 T 細胞，結核予防ワクチン，  
ヒト臨床治験

図1 HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン



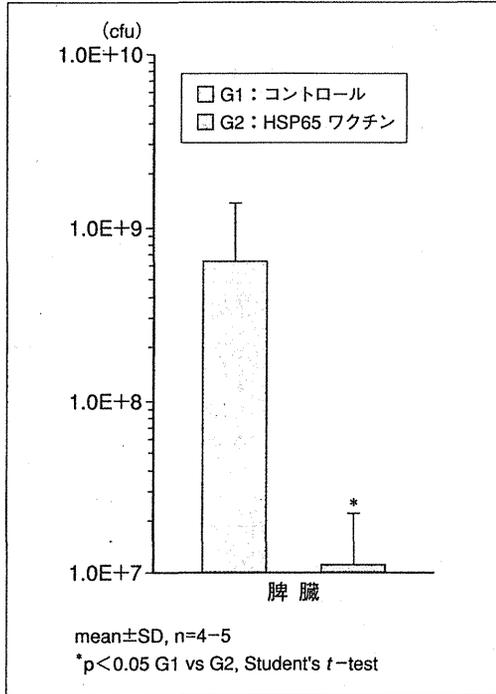
ター (CDC) は結核に対し、政府・学術機関・企業が一体となって新世代の結核ワクチンを開発する必要性を強く主張した。また ACET は、国民の健康の大敵である結核撲滅のためには、BCG に代わる有効なワクチンが必要であることを示した。しかしながら、BCG に代わる結核ワクチンは欧米でも臨床応用には至っていない。一方、世界中では毎年約 50 万人の多剤耐性結核 (MDR-TB) が発症する。日本では、MDR-TB 菌の約 30% が超多剤耐性結核 (XDR-TB) 菌である<sup>1-3)</sup>。したがって、新しい結核治療ワクチンおよび化学療法薬の開発が必須であり、世界中で競争の時代となっている。特に、結核治療における化学療法薬に対して必ず耐性菌が出現する。一方、結核治療ワクチンは耐性菌を誘導しない。したがって、結核免疫そのものを増

強させ、結核菌を殺傷し、また耐性菌を出現 (誘導) させない結核治療ワクチンの開発が切望されている。我々は BCG よりもはるかに強力な新しい DNA ワクチン、HVJ-エンベロープ/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン (世界に先駆けての結核治療ワクチンおよび結核予防ワクチン) の開発に成功した (図 1)<sup>5-8)</sup>。したがって、MDR-TB に対するこの新しい治療 DNA ワクチンのヒトの臨床試験についても述べる。

多剤耐性結核 (MDR-TB) 治療ワクチン

結核予防効果を示した HVJ-エンベロープ/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン (以下 HSP65 ワクチン) (後述の結核予防ワクチンの項参照) は、MDR-TB および XDR-TB に対して治療効果を発揮することを明らかにし

図2 多剤耐性結核(MDR-TB)感染マウスに対する治療ワクチン効果



MDR-TB 感染後, 1, 8, 15 日後にワクチンを投与し, 感染 30 日後の結核菌数を評価した. 群間の統計的有意差は Student's *t* 検定を用いた.

た<sup>5)9)</sup>.

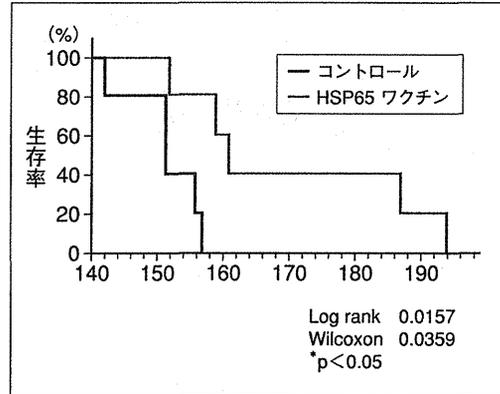
### 1. 科学的成果

HSP65 ワクチンはマウス, モルモット結核モデルに加え, 米国国立衛生研究所 (NIH) の関連機関のレオナルド・ウッド研究所が確立したヒトに最も近いカンクイザル結核モデル (Tan, et al: Nature Med, 1996) で薬効確認. 小動物の評価のみで臨床へ進んだ品目は開発に失敗している状況で, 本研究の臨床での薬効を示せれば, 世界初の治療ワクチンとして革新的科学的成果が期待できる.

#### 1) 新しい結核ワクチン HSP65 ワクチンの結核治療効果の特徴

(1) MDR-TB に対する治療効果を示した (図 2).

図3 超多剤耐性結核(XDR-TB)感染マウスに対する治療ワクチン効果



XDR-TB 感染後, 1, 8, 15 日後にワクチンを投与し, 生存率を評価した. 群間の統計的有意差は Log rank 検定および Wilcoxon 検定を用いた.

(2) XDR-TB 菌感染マウスにおいて, ワクチン投与群ではコントロール群に比べて有意差をもって, 延命効果を発揮した (図 3).

MDR-TB 菌または XDR-TB 菌をマウスに  $5 \times 10^5$  静脈内投与した後, このワクチンを 3 回 筋肉内注射して生存率と肺・肝・脾の結核菌数を測定した. MDR-TB 菌を投与した研究では, 肺・肝・脾の MDR-TB 菌数が有意に減少した. XDR-TB 菌を投与した研究では, このワクチン投与群ではコントロール群に対して有意に著明な延命効果を示した.

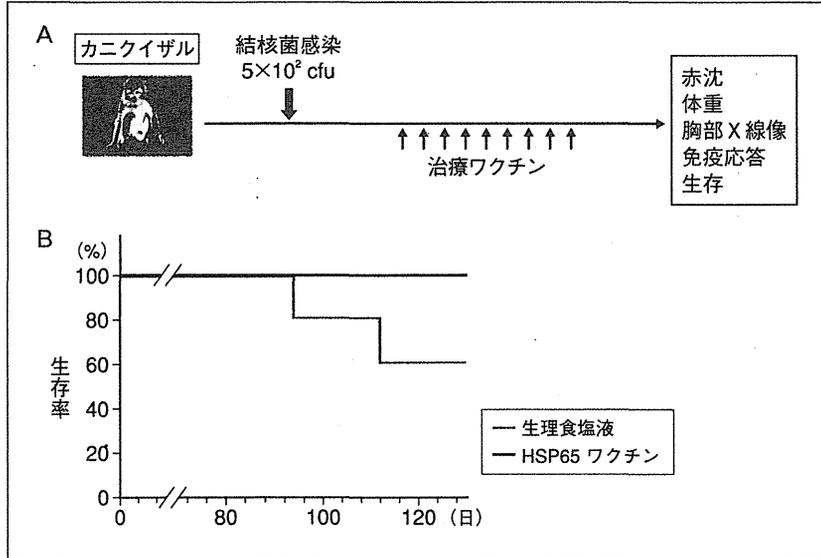
#### 2) ヒト免疫モデルにおける治療ワクチン効果

ヒト末梢血リンパ球 (PBL) を腹腔内投与して IL-2 受容体  $\gamma$  鎖ノックアウト SCID-PBL/hu マウスを作製<sup>10)</sup> し, 結核菌を感染させて解析した. HSP65 ワクチン治療群で, このマウスの肝臓の結核菌数の有意な減少が認められた. したがって, ヒトにおいてもこの HSP65 ワクチンは有効であることが強く示唆された.

#### 3) カンクイザル感染モデルにおける治療ワクチン効果

ヒトの結核感染に最も近いカンクイザル

図4 カニクイザル感染モデルにおける結核治療ワクチン効果



A : 治療ワクチン投与. ヒト結核菌 Erdman 株を  $5 \times 10^2$  cfu 気道感染させ, 1 週間後からワクチンを週 3 回, 3 週間で計 9 回投与した. その後, 赤沈, 体重, 胸部 X 線像, 免疫応答, 生存などを評価した.

B : カニクイザルの治療ワクチン効果 (生存曲線). 結核感染後 130 日までの生存曲線. 生食コントロール群は 60% の生存であったのに対し, HSP65 ワクチン投与群では 100% の生存であった.

感染モデル<sup>11)</sup> を筆者は世界で初めて用い, HSP65 ワクチンが治療効果を発揮することを明らかにした.

(1) 治療ワクチン効果について: ヒト結核菌を気道投与感染させ, HSP65 ワクチンをサルの筋肉内に 9 回投与した. 治療効果は, 生存率, 赤沈, 体重, 免疫応答, 胸部 X 線などで評価した (図 4 A).

生存率では HSP65 ワクチン投与群は, 生理食塩液 (コントロール) 群に比べて改善が見られた. HSP65 ワクチン投与群では 100% 生存, 一方コントロール群では 60% の生存であった<sup>9)</sup> (図 4 B). また, ワクチン投与群では赤沈の改善効果が認められ, 体重も増加した. HSP65 ワクチンで刺激した PBL の増殖反応が増強された.

(2) IL-2 産生と生存について: カニクイザル感染モデルにワクチン投与後, 結核死菌

H37Ra で刺激した PBL の IL-2 産生を測定した結果, HSP65 ワクチン投与群では IL-2 の産生がコントロール群より高くなった. また, コントロール群の IL-2 の産生は生存率と相関した. したがって, HSP65 ワクチンは IL-2 の産生を高めることにより延命効果を発揮すると考えられる<sup>12)</sup>.

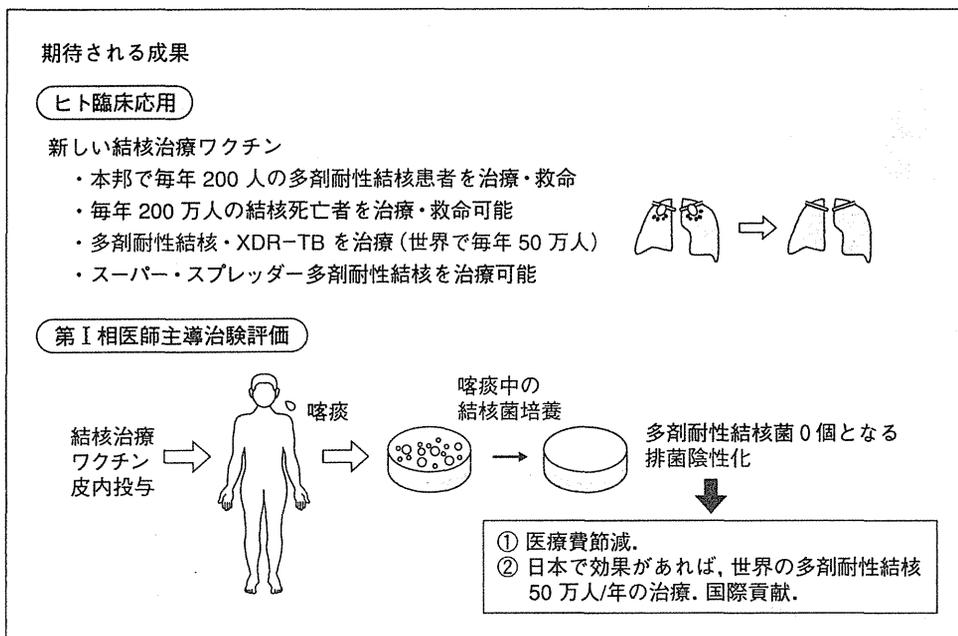
これが高く評価され, 2009 年から WHO の Working Group on New TB Drugs (WGND) 委員会の委員に選ばれている.

ヒト臨床試験 (MDR-TB 患者に対して)

(1) さらに MDR-TB に対する新規治療用 DNA ワクチンの開発・実用化に関する研究を開始した (厚生労働科学研究費補助金の支援)<sup>13)</sup>.

(2) 研究の目的は, 新しい結核治療ワクチン HSP65 ワクチンの臨床応用を目的として,

図5 期待される成果と第I相医師主導治験評価



第I相の医師主導治験を行うことである。したがって、薬としての実用化のために安全性試験や製造を行い、治験を行うことを目指した。MDR-TB患者は世界で約50万人で、アジアで増加しているが、治療が困難で、莫大な医療費を要する。この治験で新しい治療法を実用化する(図5)。

(3) 研究方法：この研究は、国立病院機構と大阪大学を中心に行った。

開発初期から医薬品医療機器総合機構(PMDA)と密接に相談する必要があり、すでに個別面談、事前面談を実施した。このように、治験に向けた準備を進めている。

(4) 国立病院機構で、それを中心としてPMDA、大阪大学、遺伝子治療学会、民間企業が産学官共同で研究を進め、ガイドライン策定につなげる。

(5) 平成25, 26年度において、動物試験データの取得、ワクチンのGMP製造を行い、PMDAの対面助言で計画を最終化して、27年度に医師主導治験を開始する計画である。

(6) 対象はイソニアジドおよびリファンピシンに耐性のMDR-TB患者。主要評価項目は安全性・忍容性の評価で、副次的項目としてワクチン治療2ヵ月後の抗結核作用(結核排菌減少)と免疫反応を評価する。

#### 結核予防ワクチン

##### 1. 新しい結核ワクチン開発

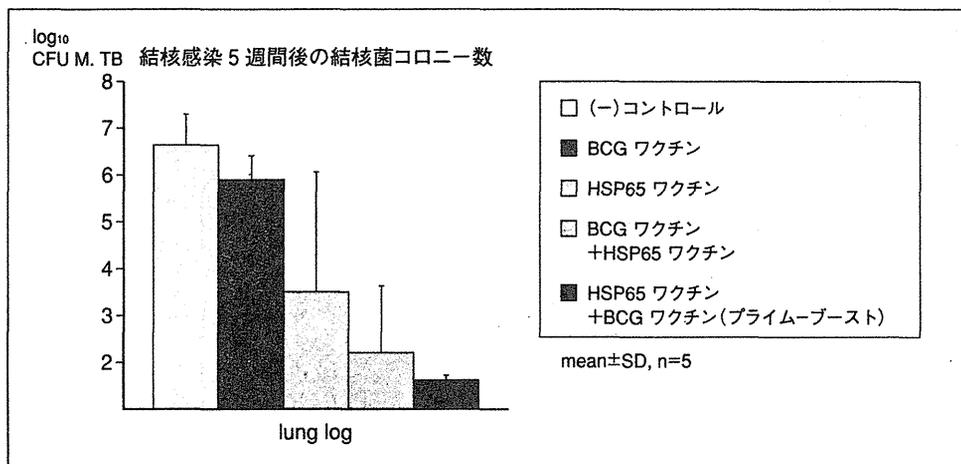
###### 1) 新しい結核ワクチン

結核ワクチンは、① DNA ワクチン、② サブユニットワクチン、③ リコンビナントBCGワクチン(弱毒化結核菌を含む)、④ その他に大別される。

###### 2) DNA ワクチン

(1) BCGワクチンより1万倍強力な結核予防ワクチン：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 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

図6 マウスの結核感染モデルを用いた HVJ-エンベロープ/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン (HSP65 ワクチン) (BCG より 1 万倍強力な)



にした。結核菌 H37Rv 由来の HSP65 DNA および IL-12 DNA をプラスミドに導入し、さらに HVJ バクターに導入し、ワクチンとした (図 1)。

この HSP65 ワクチンと BCG でマウスを免疫し結核菌を投与すると、マウス肺の結核菌数が BCG ワクチン単独投与群の 1 万分の 1 以下となった (これを 1 万倍強力と言う) (図 6)。肺病理像ではワクチン投与群で結核病巣の著明な改善効果が認められた<sup>7)</sup>。

さらに、結核菌に対する CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の分化誘導を増強した<sup>7)</sup>。この強力なワクチン効果と CTL 活性が相関した。また Th1 細胞の分化誘導、IFN $\gamma$  産生の増強をこのワクチンが発揮することも明らかにした。

(2) HVJ-エンベロープの強力なアジュバント作用：HVJ (Hemagglutinating Virus of Japan) を不活化した不活性化センダイウイルス粒子を HVJ-エンベロープとして用いた。この HVJ-エンベロープに pVAX-HSP65 DNA + IL-12 DNA を封入した (図 1)。

この HVJ-エンベロープは、① 1 本鎖 RNA が RIG-I 受容体を介して強力な自然免

疫を誘導する。また、② 樹状細胞を活性化して IFN $\beta$  の産生を誘導し、③ NK 細胞の活性化、④ IL-6 の産生を誘導する。IL-6 は制御性 T 細胞の誘導を制御する。したがって強力な免疫増強を誘導する。

以上の①～④の機序で HVJ-エンベロープは強力なアジュバント効果を発揮する。

### 3) リコンビナント BCG ワクチン

サブユニットワクチンで強力な予防効果が得られた Mtb72f 融合タンパク質の DNA を導入した 72f リコンビナント BCG (rBCG) の作製に成功した。この 72f rBCG ワクチンは、サルでも結核予防効果を示した<sup>11)</sup>。

### 結核ワクチンの臨床応用への展望

#### 1. Stop TB Partnership

Stop TB Partnership (WHO) は 2012 年に、現在進行中でしかも臨床応用に有望な新しい結核ワクチン開発のリストを発表した。

我々の HSP65 ワクチンも候補の 1 つとしてその中に推奨されている。

また WHO は、2006～2015 年 Global Plan to Stop TB として新しい有効な結核ワクチン開発、2050 年までに結核撲滅を目標としている。

図7 カニクイザルを用いた HVJ/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンと BCG を使ったプライムブースト法

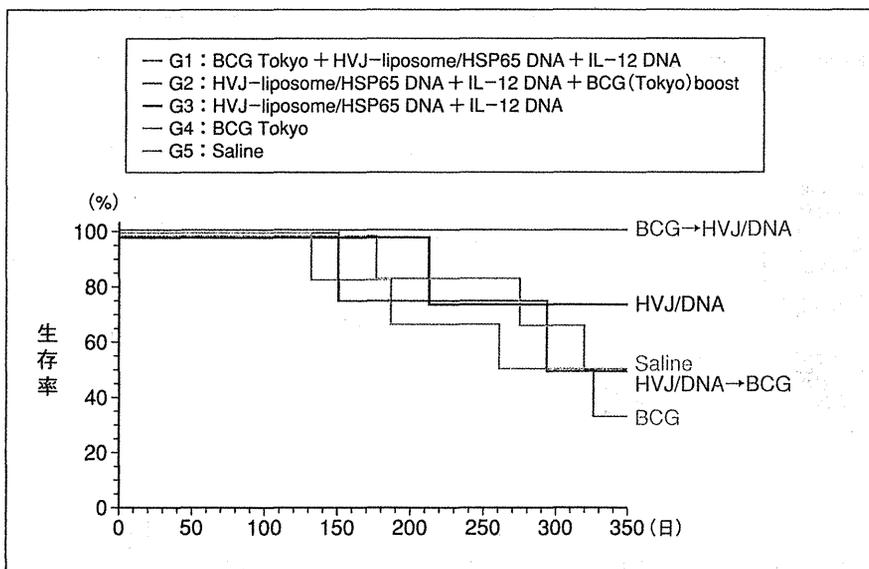
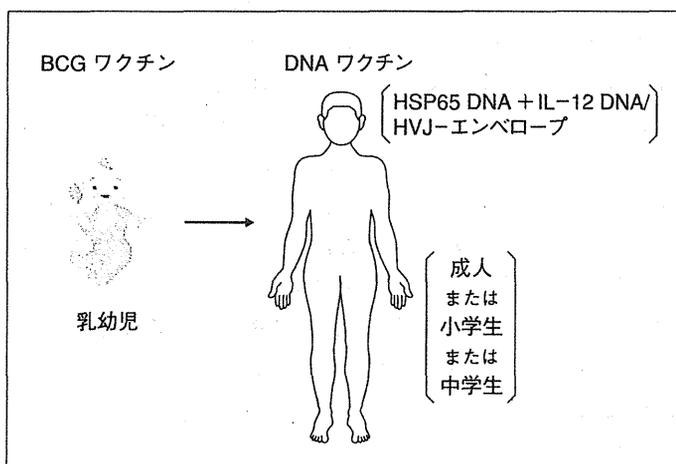


図8 新しい結核予防ワクチン(案) (DNA ワクチン)



2. 結核ワクチンの臨床応用の可能性

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)<sup>14)</sup>を用い BCG より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) を示すワクチンを, 我々は世界に先駆けて開発した<sup>4-6)9)11)12)15)</sup>. すなわち, 現在最も有力なものとして HSP65 ワクチンが挙げられる. McShane 博士ら

の MVA85A ワクチンは, 第 II 相臨床試験で BCG ワクチンを接種した南アフリカの小児にこのワクチンをブーストワクチンとして投与した場合, この Ag85A DNA ワクチンの結核予防効果は認められなかった. このように, いまだに臨床的にヒトの結核予防に有効なワクチンは開発されていない<sup>16)</sup>.

## 2) プライム-ブースト法 (乳幼児 BCG-成人 HVJ/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン)

我々は BCG ワクチンをプライムし、新しいワクチンをブーストする方法を用い、結核予防効果を調べた。サルで、このプライム-ブースト法で100%の生存を示した<sup>4)6)</sup> (図7)。このワクチンはサルのリンパ球からの IFN $\gamma$  産生と IL-2 産生を増強した<sup>15)</sup>。一方、BCG ワクチン単独投与群は 33% の生存率であった。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我々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 接種が義務づけられていることにより、プライムワクチンとして BCG ワクチンを用い、成人後 (中学生, 成人, 老人) この DNA ワクチンをブーストワクチンとして用いる結核ワクチンの臨床応用案である (図8)<sup>2)6)</sup>。

## 3) 結核治療ワクチンの臨床応用

我々の HSP65 ワクチンはマウスの系で MDR-TB や XDR-TB に治療効果を発揮した。さらに、カニクイザルの系でも結核治療効果を発揮した<sup>5)13)17)</sup>。したがって現在、厚生労働省, PMDA の指導のもとに第 I 相治療を計画している<sup>13)</sup>。

## おわりに

2009 年 WHO の委員会において、我々の HVJ-エンベロープ/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンによるカニクイザルを用いた結核治療効果と結核予防効果が高く評価された。このワクチンが結核の発症予防や治療に役立つ日を夢見ながら、厚生労働省, PMDA の指導のもとに臨床治療を計画している。

## 文 献

- 岡田全司: 結核. 分子予防環境医学: 生命科学研究所の予防・環境医学への統合 (分子予防環境医学研究会 編), p141-156. 本の泉社, 東京, 2010.
- 岡田全司: 新たな結核ワクチン. 感染・炎症・免疫 41 (1): 46-51, 2011.
- Flynn J L, et al: Immunology of tuberculosis. Annu Rev Immunol 19: 93-129, 2001.
- Okada M, et al: Tuberculosis vaccine development: The development of novel (preclinical) DNA vaccine. Hum Vaccin 6 (4): 297-308, 2010.
- Okada M, et al: Novel prophylactic and therapeutic vaccine against tuberculosis. Vaccine 27: 3267-3270, 2009.
- Okada M, et al: Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. Vaccine 25: 2990-2993, 2007.
- Okada M, et al: Novel prophylactic vaccine using a prime-boost method and hemagglutinating virus of Japan-envelope against tuberculosis. Clin Dev Immunol 2011: e549281, 2011.
- Yoshida S, 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 24: 1191-1204, 2006.
- Kita Y, et al: Development of therapeutic and prophylactic vaccine against Tuberculosis using monkey and transgenic mice models. Hum Vaccin 7: 108-114, 2011.
- Tanaka F, 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 57: 1335-1343, 1997.
- Kita Y, et al: Novel recombinant BCG and DNA-vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model. Vaccine 23: 2132-2135, 2005.
- Kita Y et al: Novel therapeutic vaccines [(HSP65 + IL-12) DNA-, granulysin- and Ksp37-vaccine] against tuberculosis and synergistic effects in the combination with chemotherapy. Hum Vaccin Immunother 9 (3): 526-533, 2013.
- 平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研

- 究事業「多剤耐性結核に対する新規治療用 DNA ワクチンの開発・実用化に関する研究」研究報告書. (印刷中)
- 14) Walsh G.P., et al: The Philippine cynomolgus monkey provides a new nonhuman primate model of tuberculosis that resembles human disease. *Nat Med* 2 (4): 430-436, 1996.
- 15) Okada M., et al: The study of novel DNA vaccines against tuberculosis: Induction of pathogen-specific CTL in the mouse and monkey models of tuberculosis. *Hum Vaccin Immunother* 9 (3): 515-525, 2013.
- 16) Tameris M.D., et al: Safety and efficacy of MVA85A, a new tuberculosis vaccine, in infants previously vaccinated with BCG: a randomised, placebo-controlled phase 2b trial. *Lancet* 381: 1021-1028, 2013.
- 17) Okada M., et al: Novel therapeutic vaccine: granulysin and new DNA vaccine against Tuberculosis. *Hum Vaccin* 7: 60-67, 2011.

---

### Global Infectious Disease

#### 1. Expectation and Clinical Trial of Novel Vaccines against Tuberculosis: Novel Therapeutic DNA Vaccines against Multi-Drug Resistant Tuberculosis and Their Clinical Trial

Masaji Okada

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