

厚生労働科学研究費 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
総括研究報告書

粘膜免疫誘導型新規結核ワクチンの開発

研究代表者 保富康宏 医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター センター長

結核ワクチンである BCG は成人の肺結核に対しては明確な予防効果は認められない。本研究ではパラインフルエンザ 2 型ウイルス (HPIV2) に結核抗原を組み込んだ新たな粘膜免疫誘導型結核ワクチンの開発を試みた。HPIV2 に結核菌分泌抗原 Ag85B 遺伝子を組み込んだ結核菌に対する組み換えワクチンを作製したところ、経鼻投与で肺結核を優位に抑制することが示され、BCG 感作ではさらに効果が増強されることも確認された。また、新たな結核抗原 (ESAT-6、Rv1733、Rv2626、Rpf D) を組み込んだ HPIV2 を HN 遺伝子欠損、V 遺伝子欠損 HPIV2 作製した。生体内における毒性評価試験として HPIV2 ワクチン経鼻投与カニクイザルの鼻粘膜の病理組織学的解析を行い、組織学的変化を確認した。この毒性評価を、マウスを用いて内因性アジュバント効果とその作用機序の解析を開始し、HPIV2 の V 遺伝子を用い、V 遺伝子と自然免疫抑制機能を検討する実験系を確立した。さらに粘膜リンパ組織依存的 IgA 抗体高産生細胞の同定や樹状細胞を介した粘膜リンパ組織形成など、HPIV2 システムの機能解析と安全性評価につながる新規知見を得ることが出来た。また、ヒトでの HPIV2 感染における疫学調査のために呼吸器症状を呈した小児から鼻汁・咽頭ぬぐい液を採取、保存を開始し、一部は測定した。さらに、クリニカルデータシートを作成し、臨床ウイルス学的解析も可能な体制を整え、HPIV2 特異抗体の測定のため、小児から成人に及ぶ健常者の保存血清準備を開始した。

研究分担者

野阪 哲哉 三重大学大学院医学系研究科感染症制御医学・分子遺伝学分野 教授

庵原 俊昭 (独)国立病院機構三重病院 院長

石井 健 医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト プロジェクトリーダー

國澤 純 医薬基盤研究所ワクチンマテリアルプロジェクトプロジェクトリーダー

伊奈田 宏康 鈴鹿医療科学大学・薬学部・病理学研究室 教授

松尾 和浩 日本 BCG 製造 (株) 日本 BCG 研究所 研究開発部 部長

A. 研究目的

新規の結核患者は世界中で毎年 800 万人発生しており、唯一のワクチンである BCG は、小児の結核性髄膜炎並びに粟粒結核に対しては防御効果を示すが、成人の肺結核に対して明確な予防効果は認められない。これらのことから、新規ワクチン開発は急務である。粘膜より感染を示す病原体には、感染時の粘膜での免疫反応が感染防御等に重要であり、この粘膜免疫を誘導す

るためには抗原を適切に粘膜面に投与しなければならない。つまり、肺結核の防御には適切な手法を用いてワクチン抗原を粘膜面へ投与することが重要である。本研究ではパラインフルエンザ 2 型ウイルス (HPIV2) に結核抗原を組み込んだ新たな粘膜免疫誘導型結核ワクチンの開発を目的とした。

B. 研究方法

分担報告書参照

C. 研究結果

- 1) 非複製型 rHPIV2-Ag85B を用いた系では結核に対し有効な免疫反応が誘導されることが確認された (Vaccine 2014)
- 2) BCG 感作ではワクチン効果がより増強されることも判明した。
- 3) 組換えウイルスワクチン作製のためのコンストラクト (pPIV2 V、pPIV2 V (EGFP)、pPIV2 V(Ag85B)、pPIV2 V(E1726D)、pPIV2 HN、pPIV2 HN(EGFP)、pPIV2 HN(Ag85B)、pPIV2 HN(E1726D) を作製した。
- 4) ワクチン用リコンビナントウイルス [HPIV2 V、HPIV2 V (EGFP)、HPIV2 V(Ag85B)] および HPIV2 HN(EGFP)、HPIV2 HN(Ag85B) を作製した。
- 5) PIV2 V 系ウイルス作製のための必要な構成的 V 蛋白発現 BSRT7/5 細胞を作製した。
- 6) 呼吸器症状を呈して当院を受診した小児から鼻汁・咽頭ぬぐい液を採取、保存を開始し、一部は想定した
- 7) クリニカルデータシートを作成し、臨床ウイルス学的解析も可能な体制を整えた。
- 8) HPIV2 特異抗体の測定のため、小児から成人に及ぶ健常者の保存血清準備を開始した。
- 9) rHPIV2 の内因性アジュバント効果とその作用機序の解析を開始し、hPIV2 の V 遺伝子を用い、V 遺伝子と自然免疫抑制機能を検討する実験系を確立した。
- 10) ワクチン発現 HPV の調整、投与に関する技術導入を行うと共に、HPV の経鼻ワクチンベクターとしての機能解析と安全性評価につながる基礎的研究を遂行した。
- 11) 粘膜リンパ組織依存的 IgA 抗体高産生細胞の同定や樹状細胞を介した粘膜リ

ンパ組織形成など、HPIV2 システムの機能解析と安全性評価につながる新規知見を得ることが出来た。

- 12) 鼻粘膜周囲の骨組織を脱灰処理をせず染色可能か検討し、実現可能となった。
- 13) 経鼻投与によるカニクイザルの鼻粘膜について、投与後 6 時間、12 時間、24 時間での病理組織学的解析を行った。
- 14) HPIV2 の V または HN 遺伝子発現ベクターをそれぞれ導入し、それぞれの遺伝子導入 Vero 細胞のクローニングを行い、20 個ずつの候補株を得た。

D. 考 察

結核は世界 3 大感染症の中でも空気感染により伝播することから最もワクチンの必要な感染症と考えられている。呼吸器粘膜より感染を示す本疾患に関しては呼吸器粘膜に免疫反応を誘導する粘膜免疫誘導型ワクチンが感染防御に効果的であると考えられる。現在までに結核ワクチンにおいてはヒト治験が 7 件行われているが、その中で粘膜免疫誘導型ワクチンはない。本研究では HPIV2 をベクターとした粘膜免疫誘導型経鼻投与ワクチンであり、世界的にもその効果は期待されるものと思われる。

新規のワクチン特に組み換えウイルスワクチン等の新規技術を用いたワクチンでは効果の証明 (POC: proof of concept) のみならず、病原性の検討、自然界でのベクターウイルスの蔓延状況等、実用化に向けて必要な知見が数多く要求される。本研究ではそれらも踏まえ、広く知見を収集し実用化に向けて取り組んでおり、それらを踏まえ実用化への歩みを加速させていきたいと考えている。

E. 結 論

HPIV2 ベクターを用いた結核ワクチンの開発に向けて多様な知見が得られた。

F. 研究発表

分担研究報告書参照

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし。