

エボラ出血熱の制圧を目指した次世代ワクチン等の開発研究に関する研究

業務主任者 河岡 義裕 東京大学 教授

**研究要旨** 新規エボラワクチンのサルでの検証実験や、アジュバントスクリーニングの準備が進んでいる。ワクチンの臨床試験を見据えて、シエラレオネ大学と共同研究を開始した。重症化メカニズムの解明やワクチンの実用化に役立つことが期待される。

業務項目の担当責任者

河岡義裕

東京大学医科学研究所・教授

## A．研究目的

エボラ出血熱は、エボラウイルスに感染することによって起こる感染症である（図1）。

致死率が非常に高く、効果的な治療薬やワクチンがないため、公衆衛生状非常に深刻な問題を引き起こしている。西アフリカ諸国におけるエボラ出血熱の流行は、2014年3月のギニアでの集団発生が引き金となり、住民の国境を越える移動により隣国へと流行が拡大している。2015年3月15日現在の世界保健機関（WHO）の報告によると、エボラ出血熱の患者数は24,000人を超えており、その内10,194人が死亡している。欧米諸国でも、流行地から帰国した医療関係者を中心に、数名の感染者が出ている。日本でも、流行地からの帰国者の中に、エボラ出血熱の疑いのある人が出ている。現在までのところ陽性患者は出ていないが、日本にもエボラウイルスが入ってくる可能性は大いにある。そのため、エボラ出血熱の予防

治療方法を確立することは急務である。そこで本研究では、安全性が高く効果的なエボラワクチンの開発を目的とする。

東京大学医科学研究所感染・免疫部門ウイルス感染分野河岡研究室では、プロジェクトの総合的推進およびエボラワクチン用の新規アジュバント探索、ワクチン製造細胞株確立、ワクチン投与後の宿主応答解析、ワクチンに対する反応が弱い人に対する対応策確立のための研究を行う。米国ウイスコンシン大学、米国国立衛生研究所(NIH)のRocky Mountain Laboratoriesとの共同研究により、サルを用いたエボラウイルス感染試験を行う。また河岡研究室で得られた基礎的な研究データについて、エボラウイルスを用いた検証実験を実施する。さらに、本感染症の重症化や感染防御のメカニズムを解明するために、シエラレオネ大学および関連医療機関と連携し、エボラ患者から採取したサンプルの解析を行う（図2）。

## B．研究方法

### （1）プロジェクトの総合推進

これまで本研究グループは、米国ウイスコンシン大学との共同研究を通じて、エボラウイルスの増殖に必須の遺伝子VP30を欠損したエボラ VP30ウイルスを作製し、そのワクチンとしての有効性をげっ歯類モデルにおいて示した（Halfmann et al., PNAS, 2008;

J. Virol, 2009)。本研究では、安全で効果的なエボラワクチンの開発を目指し米国ウイスコンシン大学および米国NIHのRocky Mountain Laboratoriesと連携し、エボラ VP30ウイルスのワクチン効果を調べるための検証試験に着手した。

また将来的に、本研究で開発したエボラワクチンの臨床試験や、エボラウイルス感染後に回復した患者のサンプル解析を行うため、エボラウイルス流行国であるシエラレオネにおいて共同研究を立ち上げた。

#### (2) エボラワクチン用の新規アジュバントの探索

日本国内では、エボラ VP30ウイルスが使用できないため、ワクチン抗原として、エボラウイルス様粒子(virus-like particle; エボラVLP)を用いる。スクリーニングでは、インフルエンザワクチンでアジュバント効果が示されている候補化合物を中心に、マウスにおける抗体産生量を調べる。今年度は、エボラVLPを効率良く作成するための条件設定を行った。

#### (3) サルを用いたエボラウイルス感染試験

エボラΔVP30ウイルスは、通常の細胞では増えないが、VP30蛋白質を発現する人工細胞で効率良く増殖することができる。したがって、エボラΔVP30ウイルスは特定の人工細胞でしか増えられないため安全であり、現在臨床試験が行われている他のエボラワクチンと異なりエボラΔVP30ウイルスは、エボラウイルスを構成するほぼ全てのウイルス蛋白質を有するため、より高いワクチン効果が期待される。よって、本研究ではエボラΔVP30ウイルスのワクチン効果を霊長類モデルにおいて、評価した。

#### (倫理面への配慮)

本研究における実験動物を用いた実験は、東京大学医科学研究所動物実験委員会の承認を得た上で、P2AおよびP3A実験施設内で行っている。遺伝子組換え実験については「遺伝子組換え生物等の使用規制による生物の多様性の確保に関する法律」に則り、文部科学大臣の確認あるいは東京大学医科学研究所組換え生物等安全委員会による機関承認を得た上で実施している。また本研究におけるヒトの検体を用いた研究は、東京大学医科学研究所の倫理審査委員会、および検体提供先であるシエラレオネ大学および関連医療機関の倫理審査委員会による承認を受けた上で実施している。

### C. 研究結果

#### (1) プロジェクトの総合推進

エボラ VP30ウイルスのワクチン効果を検証するため、サルを用いた感染実験の準備を進めた。米国NIHのHeinz Feldmann博士や米国ウイスコンシン大学のPeter Halfmann博士と、緊密な連絡を取り合い、サル実験のための実験計画を作成した。同博士らとは、定期的な電話会議やメールなどによって、これまでのデータや今後の方向性について意見交換を行っている。

臨床試験に使用するエボラ VP30ウイルスは、製造品質管理基準 (Good Manufacturing Practice; GMP) に従った施設において、製造する必要があり、さらに、Biosafety level 3 (BSL3) 施設で扱う必要がある。このような条件を満たす企業や施設は国内では見つからなかったが、米国コロラド州立大学の所属機関であるBioMARCが、GMP条件下のBSL3施設を有するワクチン製造メーカーであることが分かった。現在、エボラ VP30ウイルス製造業務の委託先候補として、BioMARCと協議中である。

将来的に、本研究で開発したエボラワクチンの臨床試験や、エボラウイルス感染後に回復した患者のサンプル解析を行うため、本研究では、エボラウイルス流行国であるシエラレオネにおいて、シエラレオネ大学および関連医療機関との共同研究を立ち上げた。

シエラレオネ大学と関連医療機関である34 Military Hospitalとの協議の結果、同病院の一画に、本研究を遂行するための実験室を貸与してもらえることが決まった。本病院は、エボラ患者用の病棟を有するため、本研究に供するエボラ患者のサンプルを得ることができる。

平成27年1～2月に、上記の実験室のセットアップを行った。すなわち、エボラウイルスを扱うための設備や機器類を実験室内に設置し、また、エボラウイルス感染サンプルの取り扱いに際し、Standard Operating Procedure (SOP)を作成し、安全に実験を遂行するための実験システムを確立した。

現在は、シエラレオネに、複数名の協力研究員を派遣し、エボラ患者から採取した血液サンプルを入手し、血清や白血球の分離作業や、抗体価を調べるためのELISAなどの作業を進めている。

## (2) エボラワクチン用の新規アジュバントの探索

日本国内では、エボラ VP30ウイルスが使用できない。そのため、本年度は、ワクチン抗原として使用するエボラVLPを効率よく作製するための条件設定を行った。具体的には、Jasenoskyら(2001, J Virol)の論文に従い、エボラウイルスの主要マトリックス蛋白質であるVP40と、ウイルス粒子表面糖蛋白質であるGPを発現するプラスミドを、様々な条件で細胞に導入し、上清中のVLP量を調べた。次年度は、今年度の結果に基づいて、VLPを作製し、アジュバントのスクリーニングに供する。

## (3) サルを用いたエボラウイルス感染試験

本研究グループは、過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスを用いて、サルにおけるワクチン効果の評価試験を行った。

不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスのワクチンを2回接種したサルに、致死量の野生型エボラウイルスを感染させたところ、ワクチン接種をしなかったグループのサルは全て死亡した。それに対して、過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスのワクチンを2回接種したグループのサルは全て生残し、またエボラ出血熱の臨床症状も示さなかった。

以上の結果から、過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスを免疫したサルは、エボラウイルス感染を防御することが明らかとなった(Marzi et al., Science, 2015)。

## D. 考察

(1) 開発中のエボラワクチンの効果のサルにおける検証実験や、アジュバントスクリーニングの準備が進んでいる。また本研究で開発したエボラワクチンの臨床試験や、エボラ患者のサンプル解析を行うため、シエラレオネ大学との共同研究を立ち上げることができた。本研究の成果が、エボラワクチンの早期実用化につながることを期待される。

(2) 効率の良いエボラVLP産生システムを確立することによって、アジュバントスクリーニングを速やかに進めることが可能となる。

### (3)サルを用いたエボラウイルス感染試験

本研究結果によって、過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスのワクチンとしての有望性が示された。本ワクチンによって、現在臨床試験が行われている 3 種類のエボラワクチンの問題点が解決できる可能性が高く、エボラ制圧に向けて大きな一歩となることが期待される。

#### **E . 結論**

過酸化水素水で不活化したエボラΔVP30ウイルスワクチンとアジュバントの組み合わせによって、より安全で効果的なエボラワクチンの開発できる可能性が高い。またエボラ患者のサンプル解析から得られる知見は、新規治療戦略や新規診断法の開発に有用な情報となる。

#### **F . 健康危険情報**

なし

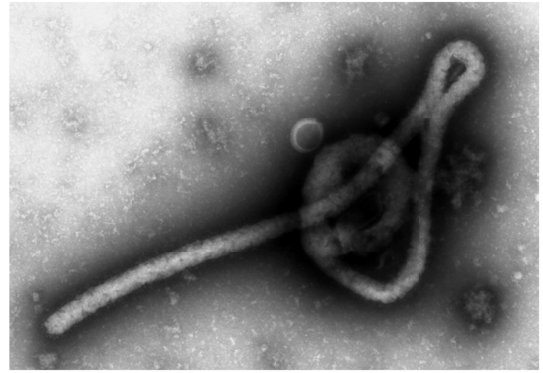
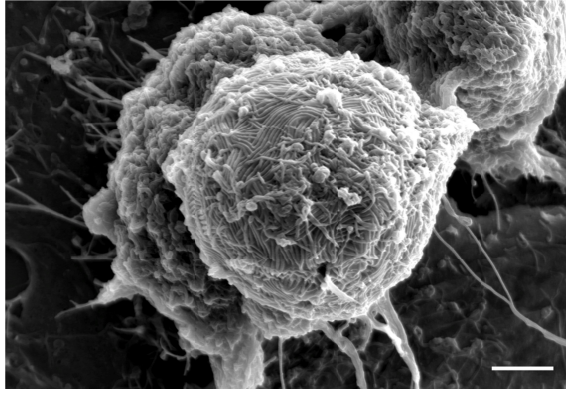
#### **G . 研究発表**

Marzi A, Halfmann P, Hill-Batorski L, Feldmann F, Shupert WL, Neumann G, Feldmann H and Kawaoka Y. An ebola whole virus vaccine is protective in non-human primates. Science, 2015.

なし

#### **H . 知的財産権の出願・登録状況**

なし



**図1：エボラウイルスの電子顕微鏡写真**

(左図)細胞に感染させた、エボラウイルスの形状を走査型顕微鏡にて観察した。写真中のバーは2 $\mu$ m (マイクロメートル)の大きさを示す。(右図)透過型電子顕微鏡で撮影したエボラウイルス。  
電子顕微鏡写真提供：東京大学医科学研究所 野田岳志 准教授

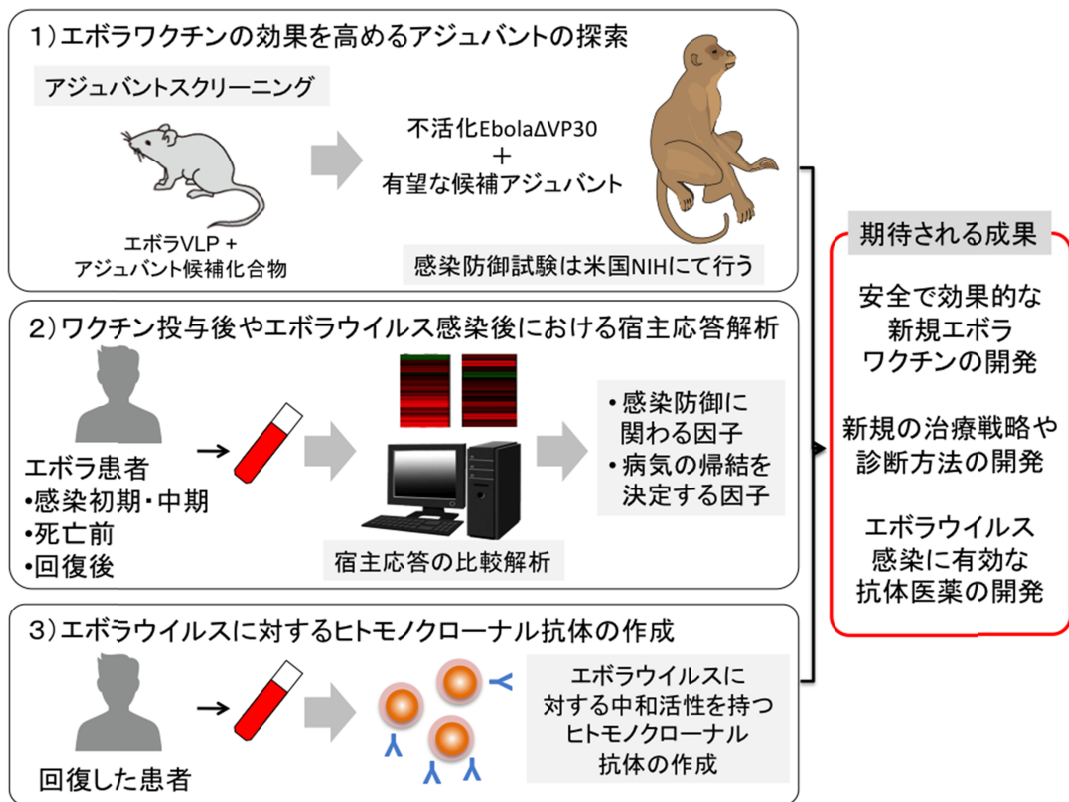


図2：本研究の流れ図

プロジェクトの総合推進

担当責任者 河岡 義裕 東京大学 教授

**研究要旨** 新規エボラワクチンのサルでの検証実験や、アジュバントスクリーニングの準備が進んでいる。臨床試験に向けて、シエラレオネ大学との共同研究を立ち上げた。本研究の成果が、エボラワクチンの早期実用化につながることを期待される。

**研究協力員**

山下誠（東京大学・特任教授）  
福山聡（東京大学・特任准教授）  
渡邊登喜子（東京大学・特任准教授）

**A．研究目的**

エボラ出血熱は、エボラウイルス感染によって起こる全身感染症である。致死率が非常に高く、効果的な治療法やワクチンがないため、公衆衛生上非常に深刻な問題を引き起こしている。最近の西アフリカ諸国におけるエボラ出血熱の流行では多数の犠牲者が出ており、日本にもエボラウイルスが入ってくる可能性は大いにあるため、エボラ出血熱の予防・治療方法を確立することは急務である。そのため、本研究では、安全性が高く効果的なエボラワクチンの開発を目的として、プロジェクトの総合的推進を行う。

**B．研究方法**

これまで本研究グループは、米国ウイスコンシン大学との共同研究を通じて、エボラウイルスの増殖に必須の遺伝子VP30を欠損したエボラ VP30ウイルスを作製し、そのワクチンとしての有効性をげっ歯類モデルにおいて示した（Halfmann et al., PNAS, 2008; J. Virol, 2009）。本研究では、安全で効果的なエボラワクチンの開発を目指し、

米国ウイスコンシン大学および米国国立衛生研究所(NIH)のRocky Mountain Laboratoriesと連携し、エボラ VP30ウイルスのワクチン効果を調べるための検証試験に着手した(1)。

さらに、エボラワクチンの速やかな実用化を目指して、臨床試験を行うために今年度は、臨床試験用のワクチンウイルス製造システムの構築に着手した(2)。

また将来的に、本研究で開発したエボラワクチンの臨床試験や、エボラウイルス感染後に回復した患者のサンプル解析を行うため、エボラウイルス流行国における研究体制を立ち上げた(3)。

上記の研究を滞りなく遂行するために本業務では、海外の協力研究機関および国内外の企業などと緊密な連絡を取り合い、意見交換や準備等を行った。

**(倫理面への配慮)**

本研究における実験動物を用いた実験は、東京大学医科学研究所動物実験委員会の承認を得た上で、P2AおよびP3A実験施設内で行っている。遺伝子組換え実験については「遺伝子組換え生物等の使用規制による生物の多様性の確保に関する法律」に則り、文部科学大臣の確認あるいは東京大学医科学研究所組換え生物等安全委員会による機関承認を得た上で実施している。また本研究におけるヒトの検体を用いた研究は、東京大学医科学研究所の倫理審査委員会、および検体提供先であるシエラレオネ大学および関連医療機関の倫理審査委員会による承認を受けた上で実施している。

本研究におけるサルを用いた実験は、米国NIHのRocky Mountain Laboratoriesの実験施設で行っており、当該施設の動物実験委員会の承認を得た上で行っている。

### C. 研究結果

(1) サルにおけるエボラワクチンの検証実験について

エボラ VP30ウイルスのワクチン効果を検証するため、サルを用いた感染実験の準備を進めた。本実験はBiosafety level 4 (BSL4)実験施設において行う必要がある。そこで、米国NIHのHeinz Feldmann博士や米国ウイスコンシン大学のPeter Halfmann博士と、緊密な連絡を取り合い、サル実験のための実験計画を作成した。米国NIHのRocky Mountain LaboratoriesのBiosafety level 4 (BSL4)実験施設において、本研究のサル感染実験を行うためのスペースを確保した(図3)。

Heinz Feldmann博士、Peter Halfmann博士らとは、定期的な電話会議やメールなどによって、これまでのデータや今後の方向性について意見交換を行っている。



**図3a:米国NIHのRocky Mountain LaboratoriesのBSL4実験施設内**



**図3b:BSL4実験施設内で実験を行う様子(Peter Halfmann博士)**

(2) ワクチンウイルス製造システムの構築

エボラ VP30ウイルスは、VP30蛋白質発現細胞において、効率良く増殖する。臨床試験に使用するエボラ VP30ウイルスは、製造品質管理基準(Good Manufacturing Practice; GMP)に従った施設において、作製し直したVP30蛋白質発現細胞を用いて製造する必要がある。さらに、エボラ VP30ウイルスは、Biosafety level 3 (BSL3)施設で扱う必要がある。上記の条件を満たす企業や施設を探したところ、米国コロラド州立大学の所属機関であるBioMARCが、GMP条件下のBSL3施設を有するワクチン製造メーカーであることが分かった。現在、エボラ VP30ウイルス製造業務の委託先候補として、BioMARCと協議中である。



### (3) シエラレオネでの共同研究の立ち上げ

将来的に、本研究で開発したエボラワクチンの臨床試験や、エボラウイルス感染後に回復した患者のサンプル解析を行うため、本研究では、今年度エボラウイルス流行国であるシエラレオネにおいて、シエラレオネ大学および関連医療機関との共同研究を立ち上げた。

シエラレオネ共和国は、西アフリカの西部、大西洋岸に位置しており、北にギニア、南東にリベリアと国境を接する。ギニアから始まったエボラ出血熱の流行は、隣国のリベリアやシエラレオネに日拡大した。3月25日現在のWHOの報告によると、シエラレオネにおけるエボラウイルス感染者は11,841人にもものぼっており、最もエボラウイルス感染者数の多い国となっている(図4)。

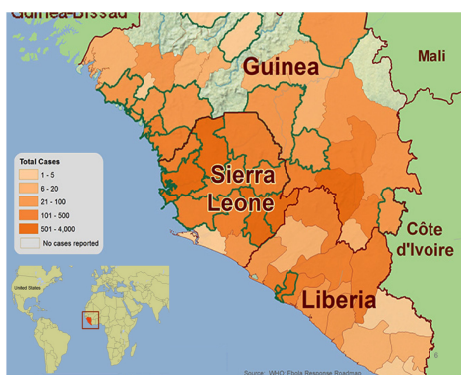


図4：シエラレオネ(Sierra Leone)共和国

シエラレオネでの共同研究を立ち上げるべく、業務責任者である河岡義裕教授は、米国ウイスコンシン大学のPeter Hallmann博士とともに、平成26年12月末にシエラレオネに渡航し、首都フリータウンに一週間滞在した。

シエラレオネでは、エボラウイルス感染対策として、空港やホテルなどにおける体調や体温のチェックが常時行われていた(図5)。また建物内に入る際には、消毒液による手指の消毒が徹底されていた(図6)。



図5：シエラレオネのルンギ空港での健康チェック



図6：ホテルに入る前の消毒液による手指の消毒



平成26年12月のシエラレオネ出張の際に、河岡教授とHalfmann博士は、シエラレオネ大学、シエラレオネ政府、ならびにWHO関係者と面会し、本研究について協議を行った(図7)。その結果、シエラレオネ大学および関連医療機関から、非常にサポート的なコメントを得ることができ、本研究を遂行するための共同研究体制を立ち上げることができた。

シエラレオネ大学と関連医療機関である34 Military Hospital(責任者はFoday Sahr教授:図7a, 8a)との協議の結果、34 Military HospitalのJoint Medical Unitの一画に、本研究を遂行するための実験室を貸与してもらえることが決まった。Joint Medical Unitは、エボラ患者用の病棟を有するため(図8)、本研究に供するエボラ患者のサンプルを得ることができる。

平成27年1月末から2月前半に、米国ウイコンシン大学のPeter Halfmann博士とAmie Eisfeld-Fenney博士が実験室のセットアップを行った。すなわち、エボラウイルスを扱うためのグローブボックス、卓上遠心機、-80度フリーザー、ELISA用プレートリーダーなどを購入し、実験室内に設置した。また、エボラウイルス感染サンプルの取り扱いに際し、Standard Operating Procedure(SOP)を作成し、安全に実験を遂行するための実験システムを確立した(図9)。

現在は、シエラレオネに、複数名の協力研究員を派遣し、エボラ患者から採取した血液サンプルを入手し、血清や白血球の分離作業や、抗体価を調べるためのELISAなどの作業を進めている。

現地に派遣した研究協力員と派遣期間は以下の通りである(図9)。

#### 東京大学医科学研究所

河岡義裕・教授  
平成26年12月24日-12月31日  
平成27年2月8日-2月11日

渡辺登喜子・特任准教授  
平成27年2月18日-3月4日

山下誠・特任教授  
平成27年3月1日-3月25日

福山聡・特任准教授  
平成27年3月15日-4月12日

前村忠・大学院生  
平成27年3月22日-4月12日

#### 米国ウイコンシン大学

Amie Eisfeld-Fenney博士  
平成27年2月4日-2月17日

Kevin Walters博士  
平成27年2月18日-3月11日

Peter Halfmann博士  
平成26年12月24日-12月31日  
平成27年2月4日-2月22日  
平成27年3月11日-3月22日

#### **D . 考察**

開発中のエボラワクチンの効果のサルにおける検証実験や、アジュバントスクリーニングの準備が進んでいる。また本研究で開発したエボラワクチンの臨床試験や、エボラ患者のサンプル解析を行うため、シエラレオネ大学との共同研究を立ち上げることができた。本研究の成果が、エボラワクチンの早期実用化につながることを期待される。さらに厚労省の検討会において、新興・再興感染症対策について協議する際に有用な情報を提供することが期待される。

#### **E . 結論**

本研究は、より安全で効果的なエボラワクチンの開発および実現化に向けて、大きく進んでいる。

#### **F . 研究発表**

なし

#### **G . 知的財産権の出願・登録状況**

なし