



図 9a : 32 Military HospitalのJoint Medical Unit内の建物。この建物の中にある実験室を使用している。

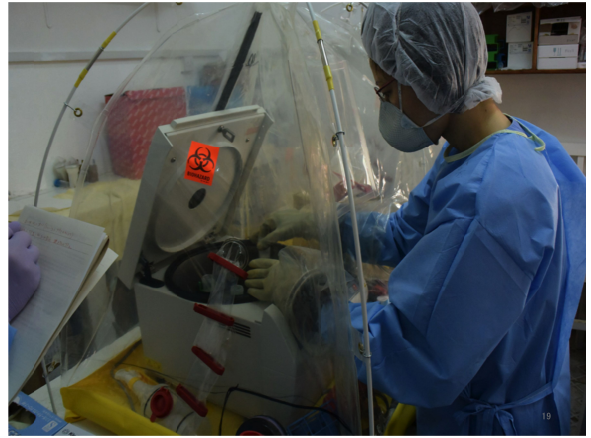


図 9b : 実験室の様子。防護服を着用し、グローブテント内で実験作業を行う。写真は、研究協力員である東京大学医科学研究所・渡辺登喜子准教授。



図 9c : 32 Military HospitalのJoint Medical Unitの医療スタッフとともに。右端から、東京大学医科学研究所・福山聡特任准教授、山下誠特任教授。中央は、東京大学医科学研究所の大学院博士課程2年生の前村忠さん。

エボラワクチン用の新規アジュバントの探索に関する研究

担当責任者 河岡 義裕 東京大学 教授

研究要旨 インフルエンザワクチンとAlumアジュバントで免疫したマウスは、致死性のインフルエンザウイルスの感染を防御した。候補化合物のアジュバント効果を比較検討するためには、ま

ず的確なワクチン抗原のドーズを決めることが重要である。

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

現在の西アフリカ諸国におけるエボラ出血熱の流行では多大な犠牲者が出ており、本病の予防・治療方法を確立することは急務である。3種類のエボラワクチンの臨床試験が行われているが、副反応や製造量および効果の限界などが問題視されており、安全性が高く効果的な新規エボラワクチンの開発が望まれている。

本研究グループは、これまでに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ウイルスを作製しており、この変異ウイルスのワクチンとしての有効性を動物モデルにおいて示している(Halfmann et al, 2008, PNAS; 2009, J Virol) (参考文献1, 2)。本研究では、より安全性が高く効果的なエボラワクチンの開発を目指して、不活化したエボラΔVP30ウイルスの免疫原性を高めるアジュバントの探索を行うことを目的とする。

アジュバントは、ワクチンと一緒に投与することによって、そのワクチン効果を高める物質である。医薬としては新しいものではないが、近年の免疫学における目覚ましい発展により、アジュバント機能の分子メカニ

ズムが明らかになりつつある。本研究では、安全性が高く、かつ、不活化したエボラ VP30ウイルスの免疫原性を高めるアジュバント候補物質のスクリーニングを行う。

B . 研究方法

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を効率良く産生するための条件設定を行った。

(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。

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

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。

我々はこれまでに、エボラウイルスの主要マトリックス蛋白質であるVP40蛋白質と、ウイルス粒子表面糖蛋白質であるGP蛋白質を発現するプラスミドを、ヒト胎児腎臓由来の293T細胞に導入することによって、エボラウイルス様粒子(VLP)が産生されることを示した(Jasenosky et al., 2001, J Virol; Noda et al., 2002, J Virol)。今年度は、VP40と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を測定することによって、効率良くVLPを産生する条件を調べた。次年度には、今年度の結果に基づいて、エボラVLPを作製し、アジュバントのスクリーニングに供する。

D. 考察

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。

E. 結論

エボラウイルスのVP40とGPを発現するプラスミドを細胞に導入する条件設定を行うことによって、効率良くエボラVLPを作成することができた。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

サルを用いたエボラウイルス感染試験に関する研究

担当責任者 河岡 義裕 東京大学 教授

研究要旨 エボラウイルスの遺伝子の一部を欠損した変異エボラウイルスを作製し、そのワクチンとしての効果を霊長類モデルで検証した。本変異ウイルスで免疫したサルは、致死量の野生型エボラウイルスの感染を防御した。

本研究は、米国ウイスコンシン大学と米国国立衛生研究所(NIH)の協力を得て、行っている。

A . 研究目的

現在、世界保健機関（WHO）の報告によれば、西アフリカ諸国で流行しているエボラ出血熱によって、感染者数が2万4千人以上、犠牲者数は1万人以上にのぼっている。しかし、未だにエボラウイルスに有効なワクチンの開発には至っておらず、現在臨床試験が行われている3種類のエボラウイルスワクチンにも、その効果や安全性の問題が懸念されている。例えば、エボラDNAワクチンは、単独使用では効果が低いため他のワクチンとの併用が必要である。アデノウイルスベクターを用いたエボラワクチンは、十分な効果を発揮するには大量のウイルスを培養する必要があるためワクチン製造の効率化が課題である。水疱性口炎ウイルスベクターを用いたエボラワクチンは、生ワクチン接種による服反応が問題となり、臨床試験中止を引き起こした。そのため、新しいエボラウイルスワクチンを開発してエボラ出血熱の予防および治療方法を確立することは最重要課題である。

B . 研究方法

これまでに本研究グループは、エボラウイルスの増殖に必須の遺伝子VP30を欠損した変異エボラウイルス（以後、“エボラΔVP30ウイルス”と呼ぶ）を、人工的に作製している（Halfmann et al., PNAS, 2008; J Virol, 2009；参考文献1、2）。このエボラ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（図10）。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

本研究グループは、エボラ ΔVP30 ウイルスのワクチンとしての効果を調べるために、1000 万個のエボラ ΔVP30 ウイルスをサルに筋肉内接種し 4 週間後に致死量のエボラウイルスを感染させた。エボラ ΔVP30 ウイルスを接種していないサルが全て死亡したのに対して、エボラ ΔVP30 ウイルスを接種したサルは生残した。

エボラ ΔVP30 ウイルスをワクチンとして使用し、人に接種することを想定する場合、安全性に配慮して、生きているウイルスの増殖性を弱めた生ワクチンではなく、その増殖性をなくした不活化ワクチンであることが望まれる。より安全なエボラウイルスワクチンを開発するため、本研究グループは、エボラ ΔVP30 ウイルスの不活化の方法について、1) ガンマ線を用いた方法と、2) 過酸化水素水を用いた方法を検討し、エボラ ΔVP30 ウイルスのワクチン効果の評価試験を行った(図 1 1)。

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とガンマ線で不活化したエボラウイルスのワクチンを接種し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(図 1 1)。

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

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。

今後は、少ない回数での免疫でも十分なワクチン効果を発揮できるよう、不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスの免疫原性を高める方法を模索する。

E . 結論

過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスは、安全性が高く、効果的な新規エボラワクチンとして有望である。

G . 研究発表

1. 論文発表

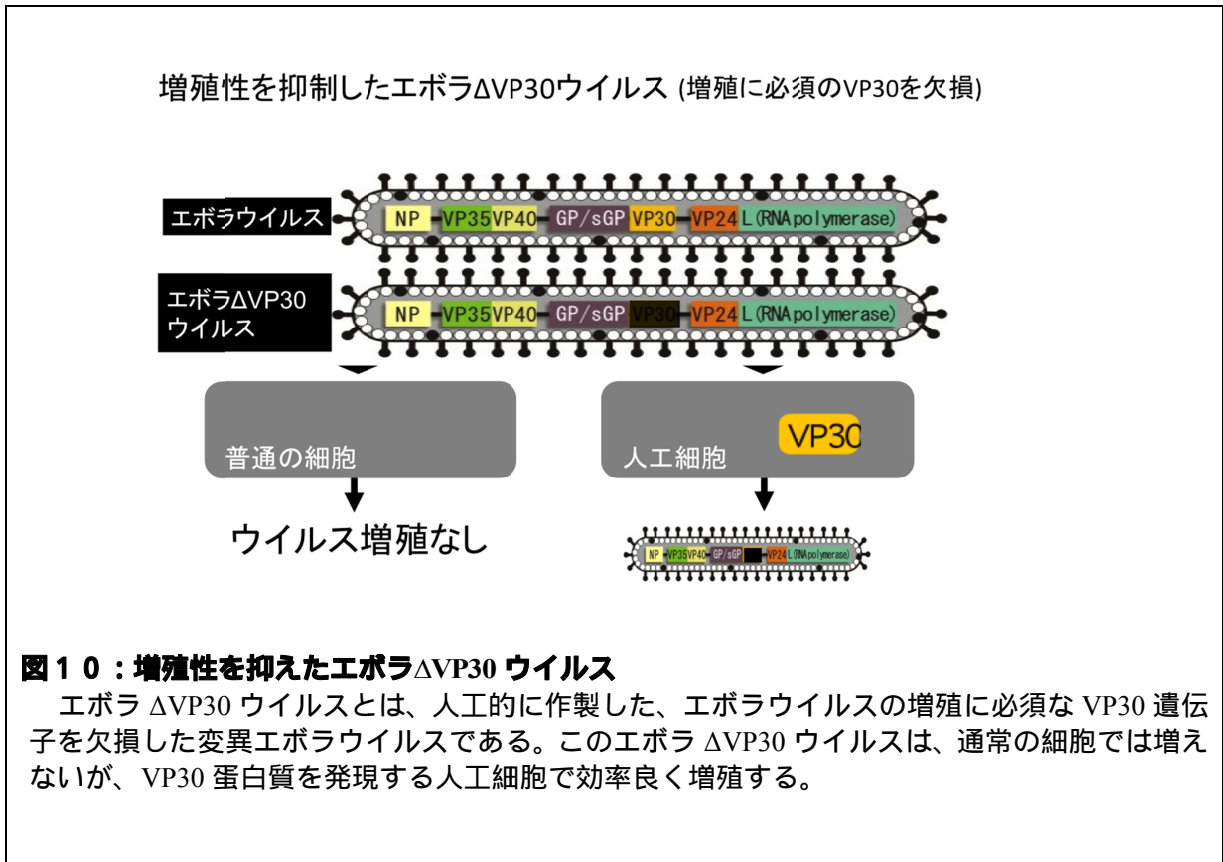
Marzi A, Halfmann P, Hill-Batorski L, Feldmann F, Shupert WL, Neumann G, Feldmann H and Kawaoka Y. An ebola whole virus vaccine is protective in non-human primates. Science, 2015.

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし。

参考文献

1. Halfmann P, Ebihara H, Marzi A, Hatta Y, Watanabe S, Suresh M, Neumann G, Feldmann H, Kawaoka Y. Replication-deficient ebolavirus as a vaccine candidate. 2009. J Virol. 83:3810-5.
2. Halfmann P, Kim JH, Ebihara H, Noda T, Neumann G, Feldmann H, Kawaoka Y. Generation of biologically contained Ebola viruses. 2008. Proc Natl Acad Sci U S A. 105:1129-33.



サルにおけるワクチン効果の検証

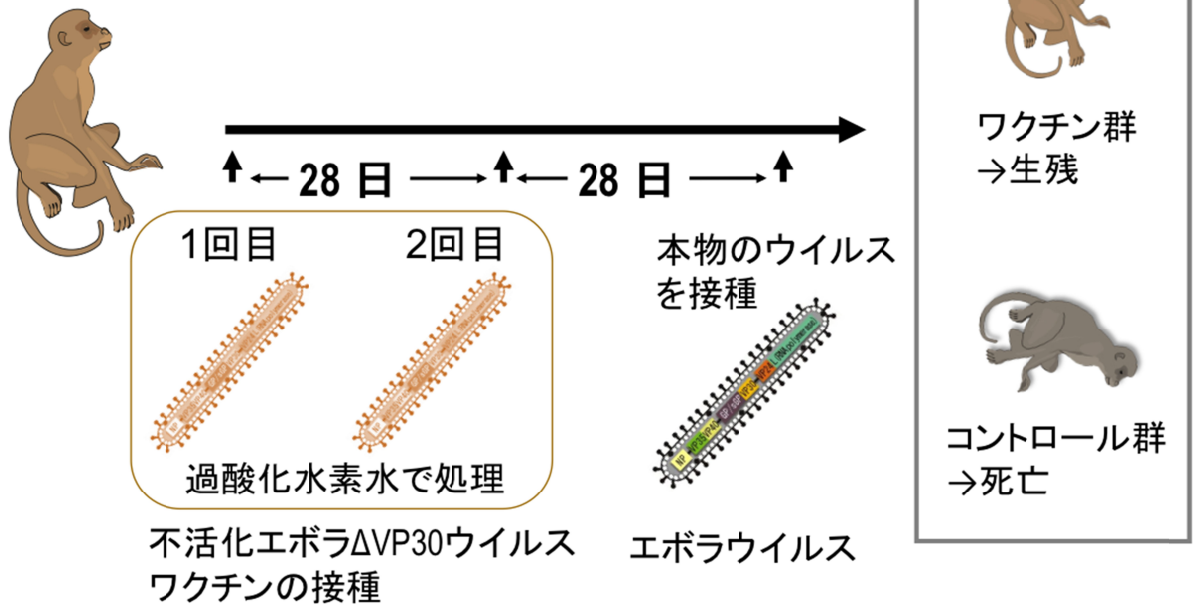


図 1 1 : 不活化したエボラ Δ VP30 ウイルスの、サルにおけるワクチン効果の検証

過酸化水素水で不活化したエボラ Δ VP30 ウイルスワクチンを、サルに 2 回接種した。その後、致死量の野生型エボラウイルスを感染させたところ、ワクチンを接種しなかったグループ（コントロール群）のサルは全て死亡したが、ワクチンを接種したグループのサルは全て生残した。