

連載

わが国の結核対策の現状と課題(7)

「結核予防ワクチンの開発状況とその応用の可能性」

国立病院機構近畿中央胸部疾患センター
臨床研究センター長 岡田 全司

I 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、最大の感染症の一つである(WHOレポート2007年)^{1,2)}。結核症に対する宿主の抵抗性細胞性免疫といって過言ではない。とくに獲得免疫(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、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(図1)^{3~6)}。新しい抗結核ワクチン開発状況とその応用の可能性について述べる⁷⁾。

II 結核と免疫

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及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¹⁾参照)

2. キラーT細胞(CD8陽性T細胞)

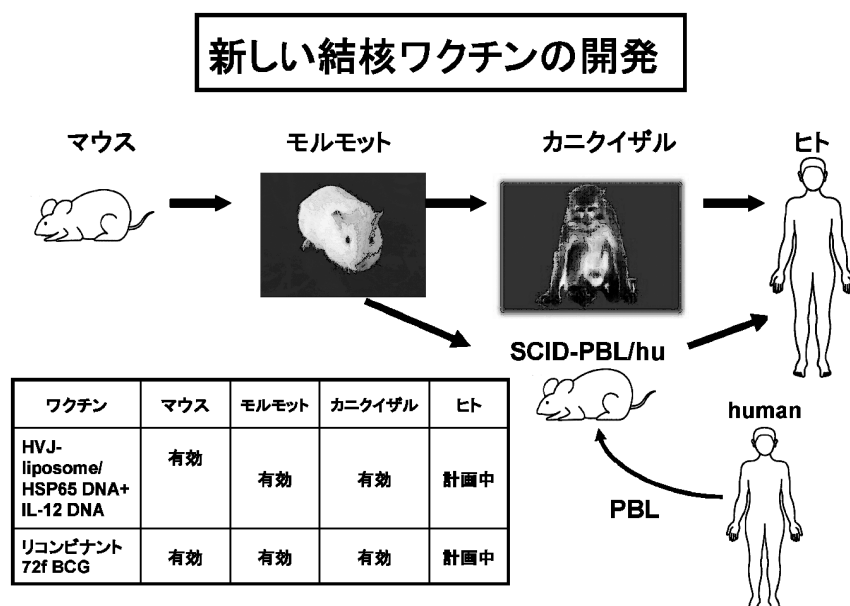
CD8陽性T細胞はマウスで抗結核免疫に重要である^{1,2,9-11)}。

キラーTの一つの役割としてIFN- γ を分泌して抗結核免疫に寄与するが、結核感染Mφ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陽性T細胞が結核菌で感染したMφをFas-independent, granule (granulysin)-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。

3. 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陽性キラーT細胞(Tc)の誘導に

図1



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。IL-6, IFN- γ 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¹¹⁾。

III BCG ワクチン

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⁷⁾。とくに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。この結果を元に WHO は BCG ワクチンは成人の結核に無効であると世界中に勧告した。日本も WHO の勧告に従った。一方、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 BCG は十分な予防効果がある。

IV 新しい結核ワクチンの開発状況

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, 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。

1) 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-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。このワクチンでマウスを免疫して結核菌を投与すると、マウス肺の結核菌数が BCG ワクチン投与の1万分の1以下となった。これを1万倍強力という。

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⁴⁾。

この新しい結核ワクチンの開発研究が高く評価され、WHO STOP TB Partnership および WHO STOP TB WGND (Working Group on New Drugs) に選出された。

一方、Huygen らは、Ag85A の DNA ワクチンを用い、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。

(2) リコンビナント BCG ワクチン

BCG 東京菌に、遺伝子を導入しリコンビナント BCG を作製した。我々は 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明らかにした⁵⁾。さらに、サブユニットワクチンの Mtb72f 融合タンパク質の¹³⁾ DNA を導入し72f リコンビナント BCG の作製に成功した。この72f rBCG はサルでも結核予防効果を示した (図1)⁸⁾。

2. 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、画期的な、ヒト結核ワクチン効果解析モデルを開発した^{4,5)}。

3. Stop TB Partnership

Stop TB Partnership (WHO) は2008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 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 (表1, 2, 3)。表内で太字で示したワクチンが評価されている。

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。が WHO の目標である。

表 1

| A. Priming, Pre-Exposure | 特徴 |
|---|---|
| 1. Phase I : 現在-2008年 | |
| a. rBCG30 | リコンビナント 85B BCG |
| b. rBCG30 Δ AureC : Hly (VPM1002) | リコンビナント listeriolysin BCG |
| c. AERAS-407 | リコンビナント perfringiolysin |
| d. rBCG30ARMF, rBCG Mtb B30, rBCG h IFN γ | リコンビナント 85B BCG |
| e. Nas L3 / Htk BCG | 鼻粘膜ワクチン/heat killed whole BCG コペンハーゲン株 |
| f. mc ² 6220, mc ² 6221, mc ² 6222, mc ² 6231 | non-replicating, M. Tuberculosis strain (Δ lys A Δ pan CD) |
| g. mc ² 5059 | replicating pro-apoptotic M.bovis BCG 株 (Δ nuoG) |
| 2. Phase I 2009 or Later | |
| a. HBHA (heparin-binding haemagglutinin) | メチル化21-K Da 蛋白 |
| b. Attenuated Live Vaccine based on Phop | 弱毒化ヒト結核菌 (virulence gene の pho P の不活性) |
| c. paBCG (pro-apoptotic BCG) | anti-apoptotic 酵素活性を減弱 |

表2

| B. BOOSTING, PRE-Exposure | |
|--|---|
| 1. Phase I : 現在-2008年 | 特徴 |
| a. MVA85A | リコンビナント MVA (Ag85A を発現した) |
| b. M72 | Mtb32+Mtb29 の fusion 蛋白 |
| c. AERAS-402 | Replication-incompetent adenovirus 35 vector expressing M. Tuberculosis antigens Ag85A, Ag85B, and TB 10.4. |
| d. SSI Hybrid-1 | |
| e. SSI HyVac4/AERAS-404 | fusion 蛋白 (Ag85B-ESAT-6) |
| f. AERAS-405 | fusion 蛋白 (Ag85B-TB10.4) |
| g. r30 | Shigella-delivered recombinant double-stranded RNA nucleocapsid (Ag85A, 85B, Rv3407, latency antigen) |
| h. Nas L3/Htk BCG | リコンビナント Ag85B 蛋白 |
| 2. Phase I : 2009 or Later | |
| a. Hsp C TM TB Vaccine | Heat shock protein antigen complexes (Hsp Cs) |
| b. HBHA (heparin-binding haemagglutinin) | Nasal vaccine/Man capped |
| c. NasL3/AM85B conjugate | Arabinomannan oligosaccharide |
| d. PP1, PP2, PP3 | BCG boosting |
| f. AC ₂ SGL Diacylated Sulfoglycolipids | AC ₂ SGL Mycobacterial lipids |
| g. HVJ-liposome/Hsp65 DNA + IL-12 DNA | M.Okada, 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター |

表3

| C. POST EXPOSURE-Immunotherapy | |
|---|---|
| 1. Phase I : 現在-2008年 | 特徴 |
| a. Mycobacterium vaccae Heat-Killed | |
| b. MVA85A | |
| c. RUTI | Fragmented M.Tuberculosis cells |
| d. Nas L3/Htk BCG | |
| 2. Phase I : 2009 or Later | |
| a. NasL3/AM85B conjugate | |
| b. hspDNA vaccine | naked hsp 65 DNA vaccine |
| c. HG856A | Chimeric ESAT6/Ag 85A DNA ワクチン |
| d. HBHA (heparin-binding haemagglutinin) | |
| e. HG856-BCG | Recombinant BCG overexpressing chimeric ESAT6/Ag85A fusion protein |
| f. HG856-SeV | Recombinant Sendai virus overexpressing chimeric ESAT6/Ag85A fusion protein |
| g. TB Vax | Epitope-based DNA-prime/peptide-boost vaccine. (liposome と CpG アジュバント) |
| h. F36, F727 | |
| i. Mycobacterium vaccae Heat-Killed | |
| j. Ac ₂ SGL Diacylated Sulfoglycolipid | |

これらのワクチンについて概略する。

1. 結核ワクチンの方法

① Prevent infection, ② Prevent disease, ③ Prevent reactivation of latent TB infection④ Shorten the course and improve the response to chemotherapy

2. 三つのカテゴリーに結核ワクチンは分類される

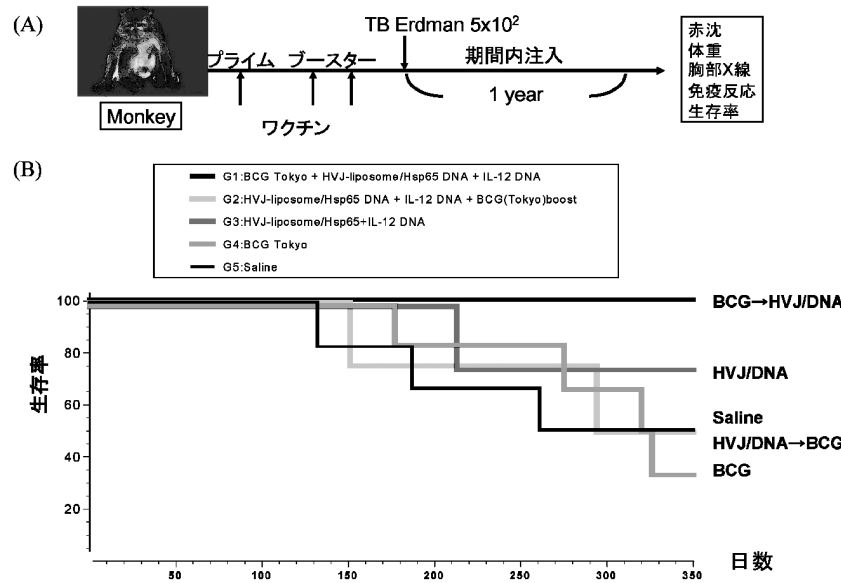
① Priming, Pre-Exposure, (表1) ② Boosting, Pre-Exposure, (表2) ③ Post Exposure-Immunotherapy (表3)

VI 結核ワクチンの応用の可能性

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, 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) を示すワクチン二種を開発した⁸⁾。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

図2 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/HSP-65 DNA + IL12 DNA ワクチンの結核予防効果

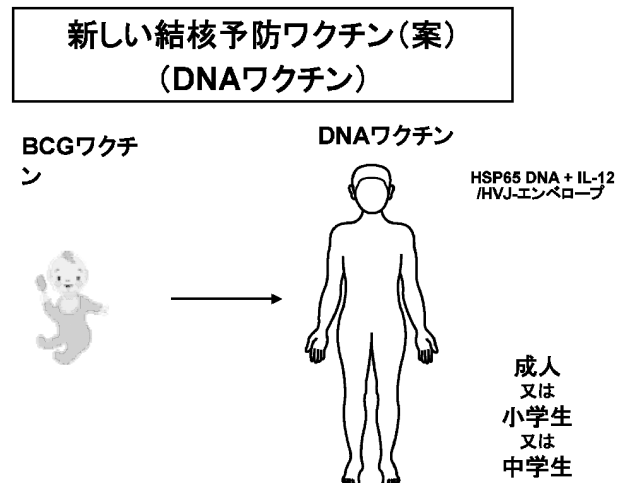


あげられる。事実、我々はカニクイザルで結核感染後1年で、コントロール群（生食投与群）では0%生存。HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン投与群は50%生存、r72f BCG ワクチンで75%生存を認めた。Ag85B-ESAT-6 融合タンパク質（Anderson 博士ら）も報告されているが、モルモット、サルでは効果は不明である。一方 Huygen の Ag85A DNA ワクチンはマウス・モルモットで有効であったがサルの結核感染予防に対し有効でなかったという。72f 融合タンパクサブユニットワクチン、ワクシニアウイルスに 85A DNA を導入したワクチンや r85B BCG（Horowitz ら）は第 I 相 clinical trial となっている¹⁴⁾。A. Hill Dr. 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。

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

さらに BCG ワクチンをプライミングし、新しいワクチンをブースターする方法を用いた。このプライミングブースター法で100%の生存を示した³⁾（図2）。一方、BCG ワクチン単独投与群は33%の生存率であった³⁾。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、プライミングワクチンとして BCG ワクチンを用い、成人ワクチン（中学生、成人、老人）としてこの DNA ワクチンをブースター

図3



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3）。

VII おわりに

HSP65DNA + IL-12DNA/HVJ エンベロープワクチンが優れていることより、このワクチンが結核の発症予防や治療に役立つ日を夢見ている。厚生科研、文部科研、大阪結核予防会研究費等により支援を受けた。

文 献

1) 岡田全司. 結核“分子予防環境医学：生命科学研究の予防・環境医学への統合”（分子予防環境医学研究会編）. 東京：本の泉社，2003，pp. 150-161.

- 2) Flynn JL, Chan J. Immunology of Tuberculosis. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 93-129.
 - 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* 2007; 25: 2990-2993.
 - 4) 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: 1191-1204.
 - 5) 岡田全司. 新しい結核ワクチンの開発. *Jpn J Clin Immunol* 2008; 31(5): 356-368.
 - 6) Kita Y, Tanaka T, Yoshida S, et al. Novel recombinant BCG- and DNA-vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model. *Vaccine* 2005; 23: 2269-2272.
 - 7) 岡田全司. 結核ワクチン. 泉 孝英, 網谷良一, 編. 結核 第4版. 東京: 医学書院, 2004.
 - 8) Okada M, Kita Y, Nakajima T, et al. Novel prophylactic and therapeutic vaccine against Tuberculosis. *Vaccine* (in press).
 - 9) 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: 1335-1343.
 - 10) 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: 7718-7721.
 - 11) 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: 583-590.
 - 12) 岡田全司. 平成20年度厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究) 統括研究報告書 輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究(主任研究者 岡田全司), 2009; 1-250.
 - 13) 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(12): 7618-7628.
 - 14) McShane H, Pathan AA, Sander CR, 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.
-