

医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

平成 30 年度終了課題 事後評価報告書

プロジェクトリーダー (企業責任者)	日本ビーシージ製造株式会社 中央研究所所長 山本三郎
研究責任者	新潟大学大学院医歯学総合研究科 教授 松本壮吉
支援タイプ	シーズ育成タイプ
研究開発実施期間	平成 26 年 12 月～平成 30 年 11 月
研究開発課題	新規結核菌抗原と DNA アジュバントを用いた成人肺結核に対するブースターワクチンの開発

1. 研究開発の目的

現行の唯一の結核ワクチンである BCG は、子供の重症結核には高い有効性を認めるが、成人肺結核に対する効果は限定的である。新規結核菌抗原である MDP1 は潜在期においても持続的に産生される主要抗原であり、いわゆる潜在性結核患者である未発症感染者の免疫系に認識される。一方、G9.1 は Th1 細胞賦活作用を有する CpG DNA で、高いアジュバント効果がある。本研究開発の目的は、乳児期に接種した BCG をプライムワクチンとして、新たに開発する MDP1+G9.1 ブースターワクチンを学齢期後半段階で接種することにより、細胞性免疫を主体とした結核免疫の賦活化を図り、これにより成人期における重要な疾患である肺結核の根絶を目指す。

2. 研究開発の概要

① 成果

大腸菌発現系による MDP1 (大腸菌 MDP1:eMDP1) と速育抗酸菌発現系による MDP1 (抗酸菌 MDP1:mMDP1) の免疫原性および免疫応答を比較し、MDP1 産生宿主を速育抗酸菌 (*Mycobacterium smegmatis*) と決定した。HPLC 精製時に混入するトリエチルアミンをイオン交換法によりナトリウムで置換した *in vivo* G9.1 を用いることとした。ブースターワクチンの作用機序として、MDP1 と G9.1 は、形質細胞様樹状細胞 (pDC) の IFN- α 産生を介して pDC と骨髄性樹状細胞に共刺激分子の発現を亢進し、Th1 優位の免疫を誘導することを明らかにした。また、pDC から産生される IFN- α は IFN- γ 産生の増強にも関わり、MDP1+G9.1 に対する免疫応答は pDC 依存的であることを明らかにした。さらにヒト細胞での *in vitro* のサイトカイン産生実験で得られたデータを参考に、マウスおよびモルモットを用いて MDP1 と G9.1 の最適混合モル比を検証し、1:3 (重量比 1:1) と決定した。またブースターワクチンの投与方法、投与量、投与間隔の検討を行い、MDP1 (20 μ g) と G9.1 (20 μ g) を混合調製したブースターワクチンを 3 週間隔で 3 回皮内接種する手順案を定めた。この手順により mMDP1 と *in vivo* G9.1 でモルモット、マウス、カンクイザルをそれぞれ免疫した後、有毒結核菌を経気道感染させたところ免疫動物では結核菌抵抗性が示され、その作用機序に IFN- γ が関与することが示唆された。

研究開発目標	達成度
① 組換え MDP1 の調製と精製	① 100% : 高抗原性を示す組換え抗酸菌産生 MDP1 の実験室レベルの調製・精製法を確立した。
② G9.1 の合成と精製	② 100% : 体内投与用として、TEA を Na 置換した G9.1 (<i>in vivo</i> G9.1) の合成・精製法を確立した。

③ MDP1 と G9.1 の混合比の最適比の検討	③ 100% : ヒト由来細胞や動物でのワクチンに対する細胞応答および免疫応答を指標に、MDP1:G9.1 の混合モル比を 1:3 と決定した。
④ 投与方法・投与量・投与間隔の検討	④ 90% : MDP1 と G9.1 を 3 週間隔で 3 回皮内接種することで、十分な免疫応答を惹起することを確認した。
⑤ ブースターワクチンの機序解明	⑤ 90% : MDP1+G9.1 に対する免疫応答は形質細胞様樹状細胞に依存的であった。
⑥ 霊長類におけるワクチン効果の検証	⑥ 90% : ブースターワクチン免疫サルは有毒結核菌に抵抗性を示すことを確認した。
⑦ 非臨床試験に向けたブースターワクチン製品の試験製造と効果や安全性の確認	⑦ 0% : 原薬の調製が実験室レベルに留まったためワクチン製品の試験製造に至らず、その効果や安全性は確認できなかった。
⑧ 知的財産権の確保	⑧ 100% : 特許 1 件を取得し、特願 1 件を申請した。

②今後の展開

本研究は、新規の結核ブースターワクチンを開発し、その投与によって終生の抗結核防御免疫を付与することで、結核の発症予防を目指すものである。ブースターワクチンは、潜伏感染時にも結核菌が終始産生する DNA 結合性蛋白質「MDP1」を抗原とし、天然型の免疫賦活オリゴ DNA「G9.1」をアジュバントとして組み合わせた新しく効果的なワクチンである。今後、本研究によって決定した製造法によりワクチンの GMP 製造を行う。次ぎに非臨床試験を実施し、2022 年度以降の臨床試験に繋げる。

3. 総合所見

新規結核菌抗原と DNA アジュバントのブースターワクチンとしての作用機序の解明や、抗酸菌発現抗原の優位性の発見など、独創性の高い結核ブースターワクチンシーズとしての可能性を示したという点は評価できる。

しかし、現状は基礎的検討段階であり、臨床応用につながる動物実験での検証は不十分である。また、物質特許を含めた特許戦略、非臨床試験に向けた GMP 製造法の確立や製造施設の確保も大きな課題となっている。

本課題は社会的ニーズも高く、強力な新規結核ワクチンの創成への期待感は強い。今後、上記課題の解決と競合技術に対する優位性を明確にするとともに、企業開発経験者を加えたより強力なプロジェクト体制の元で、更なる研究開発の推進を期待する。

※記載の情報は平成 31 年 2 月時点の情報です。