【報告様式Ａ】

課題管理番号:19im0210107　作成／更新日:2020 年 8 月 31 日

日本医療研究開発機構　　医療分野研究成果展開事業
産学連携医療イノベーション創出プログラム　基本スキーム（ACT-M）
事後評価報告書

公開

Ⅰ 基本情報

研究開発課題名：　（日本語）ユニバーサル肺炎球菌ワクチンの創出研究
（英　語）Research and development of a universal pneumococcal vaccine

研究開発実施期間：2017 年 10 月 2 日～2020 年 3 月 31 日

研究開発代表者　氏名：（日本語）金城　雄樹
（英　語）Yuki Kinjo

研究開発代表者　所属機関・部署・役職：
（日本語）東京慈恵会医科大学・細菌学講座・主任教授
（英　語）Chairman and Professor, Department of Bacteriology, The Jikei University School of Medicine

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

本研究の目的

肺炎球菌は国内での主な死因の 1 つである肺炎や、中耳炎、副鼻腔炎などの主な起炎細菌であり、菌血症や髄膜炎などの侵襲性肺炎球菌感染症（invasive pneumococcal disease; IPD）をひきおこす。IPD は特に 5 歳未満小児と 65 歳以上成人に多い。肺炎球菌は莢膜ポリサッカライドの構造の違いにより、約 100 種類の血清型に分類される。現行の肺炎球菌ワクチンは莢膜ポリサッカライドを抗原として用いており、小児では 13 価肺炎球菌結合型ワクチン（13-valent pneumococcal conjugate vaccine; PCV13）、65 歳以上成人では 23 価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン（23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine; PPSV23）を定期接種に用いている。小児における PCV 導入により、ワクチンに含まれる血清型による IPD 症例の劇的な減少を認めた。しかし、PCV13 に含まれない血清型の肺炎球菌による IPD 症例の増加を認めており（血清型置換）、血清型置換は小児のみならず、成人でも問題になっている。このような背景をふまえ、本研究班では、血清型に依存しない幅広い感染防御効果をもたらすユニバーサルワクチンの創出を目指して、肺炎球菌の表層に存在する PspA（Pneumococcal surface protein A）の融合蛋白質を抗原としたワクチンの開発研究を産学連携で行った（研究分担者：富山県衛生研究所 大石和徳、大阪大学 明田幸宏、国立感染症研究所 森野紗衣子、一般財団法人阪大微生物病研究会 五味康行、竹河志郎、中山大輝、魚谷多恵）。

本研究の成果

本研究では、2 価 PspA 融合蛋白質ワクチンの免疫原性及び感染防御効果を評価すること、特に今後の臨床試験において、そのサンプルを用いた評価を行うことを目的として、3 つのサロゲートマーカーの候補の解析を行った。

ワクチン免疫血清の受身移入による感染防御効果の解析（サロゲートマーカー1）

2 価 PspA 融合蛋白質ワクチンを用いて各種実験動物での免疫原性試験、免疫血清を用いた受動免疫試験及び in vitro 評価試験を実施した。いずれの動物においても本ワクチン投与によって clade 1-5 の PspA に対する抗体価が上昇することを確認した。また、免疫血清を用いた受動免疫試験及び in vitro 評価試験の結果、本ワクチン投与によって機能性のある抗体が誘導されることを確認した。さらに、既存ワクチン免疫血清と本ワクチン免疫血清の感染防御効果を比較するために、マウス受動免疫モデルを用いた検討を実施した。その結果、既存ワクチンと比較しても本ワクチンは良好な感染防御効果を示すことが示唆された。

ワクチン免疫血清を用いた抗体結合性及び抗体依存性補体沈着活性の測定（サロゲートマーカー2）

ワクチン免疫血清による全菌体への抗体結合性及び抗体依存性補体沈着活性測定については、2 価 PspA 融合蛋白質ワクチン免疫血清を用いた解析にて、血清型の異なる種々の肺炎球菌株に対して、優れた抗体結合活性及び補体沈着活性を示した。また、2 価 PspA 融合蛋白質ワクチン免疫血清は現行ワクチン免疫血清と比較して、種々の血清型の肺炎球菌に対して同等以上の高い補体沈着活性が認められた。

ワクチン免疫血清のオプソニン活性の測定（サロゲートマーカー3）

2 価 PspA 融合蛋白質ワクチンの補体依存的殺菌活性（オプソニン活性）について解析を行い、オプソニン活性測定系を構築した。本手法を用いて、細菌学的性状の異なる様々な肺炎球菌株を対象としてオプソニン活性の測定を行い、その評価系において安定的に使用できる候補株を選定した。選定した菌株は、PspA clade 1-5 を網羅しており、また現行肺炎球菌ワクチンとの免疫原性及び感染防御効果を比較することが可能となる血清型の菌株をできるだけ候補として選択した。これらの菌株を用いて、オプソニン活性測定結果

とマウスでの肺炎球菌感染防御効果の相関性を評価するために、マウス感染実験の条件の最適化の検討を行った。

サロゲートマーカーの評価

2 価 PspA 融合蛋白質ワクチンの免疫血清の菌株に対する抗体結合能及び補体沈着能と、免疫血清の腹腔投与による経鼻チャレンジ後のマウス生存率が正相関することを認めた。このため、抗体結合能及び抗体依存性補体沈着能を 2 価 PspA 融合蛋白質ワクチンのサロゲートマーカーとすることができると判断した。

また、受け身移入によるマウス感染防御活性は、PspA 免疫血清と PCV13 免疫血清とを同じ系で評価できるサロゲートマーカーとして重要である。本研究では、ウサギ免疫血清のマウス受動免疫試験（PCV13 免疫血清と PspA 免疫血清投与の比較）における clade 1 の菌株の経鼻チャレンジ後のマウス生存率を評価した。その結果、PspA 免疫血清は用量依存的な生存率上昇効果を示し、その効果は PCV13 免疫血清と比較して同等以上であった。マウスに受け身移入した抗ヒト PspA IgG 量 vs マウス生存率(%)の相関/抗ヒト capsular polysaccharide（CPS）IgG 量 vs マウス生存率(%)相関について検討することで、抗ヒト PspA 抗体と抗ヒト CPS 抗体のマウス生存率の上昇効率を比較できると考えられた。

ヒト抗 PspA 抗体の血清疫学調査

健常人での PspA 抗体価に関する基礎的データを得るために血清疫学調査を行った。国内血清銀行から血清の分与を受け、乳児から高齢者まで全年齢群にわたる健常者における血清中 clade 別抗 PspA-IgG 抗体濃度について測定を行い、年齢群別解析を実施した。解析の結果、抗 PspA IgG 抗体の年齢群別抗体保有状況は、幼児期～学童期に幾何平均抗体濃度 GMC が最も高くなり、成人から高齢者にかけて横ばいから減衰の傾向が観察された。さらに、clade 間での抗体濃度の相関を検討したところ、同一 Family 内（clade1 と 2、clade4 と 5）でより高い相関の傾向が観察された。この傾向は、他の年齢群に比べて肺炎球菌への曝露歴が少ないと考えられる 6-23 か月群においても観察された。幼児期は鼻腔への肺炎球菌の保菌率が高く、また自然感染、保菌による抗 PspA 抗体の上昇が報告されており、本結果はそれらの報告と合致する所見であった。自然感染や保菌により獲得された抗 PspA IgG 抗体においても clade 間での交差反応を示すことが示唆され、特に同一 Family 内で交差性が高い可能性が考えられた。

ユニバーサル肺炎球菌ワクチンの非臨床試験

本研究の期間に決定した培養・精製手法を用いて、非臨床試験用被験物質の製造、品質管理試験及び安定性試験を実施した。製造した被験物質を用いて感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン（薬食審査発 0527 第 1 号）を参考に設定した非臨床安全性試験（GLP 試験）を実施し、本ワクチンの動物における安全性を評価した。また、GLP 試験と合わせて薬効を裏付ける試験を実施し、動物モデルにおける本ワクチンの有効性を評価した。

ヒト由来単クローン抗体の機能解析

肺炎球菌罹患患者の血液から分離した PBMC を用いて、抗 PspA 単クローン抗体を作製した。樹立した抗体の内、PspA の clade を超えて広域反応性を示した抗体について、動物を用いた感染防御試験及び in vitro 評価試験を実施し、抗体の機能を評価した。樹立した抗体の内、PspA の clade を超えて広域反応性を示し、かつ感染防御作用が認められた抗体のエピトープ同定を行った。また、ELISA 系を用いて同エピトープを認識する抗体の定量系を構築した。

本研究の意義

本研究開発では、ユニバーサル肺炎球菌ワクチンの創出を目標として、産学連携で 2 価 PspA 融合蛋白質ワクチンの開発研究を行った。本新規 PspA 融合蛋白質ワクチンの特徴は 2 種類の PspA 融合蛋白質で構成する 2 価 PspA 融合蛋白質ワクチンで、肺炎球菌性肺炎や IPD 症例から分離された原因菌の 100%近くに対して感染防御活性が期待できる点である。ユニバーサル肺炎球菌ワクチンの臨床試験を実施するために、PMDA に医薬品安全性相談を行い、対面助言を受けて、非臨床試験（安全性試験）を行い、概ね完了した。また、臨床試験において、免疫原性及び感染防御効果を評価するためのサロゲートマーカーの有用性を示唆する結果を得た。また、健常人でのヒト PspA 抗体の血清疫学調査を行い、健常人での PspA 抗体価についての基礎的情報を得た。さらに、ヒト型抗 PspA 抗体を樹立し、感染防御エピトープの同定及び ELISA 定量系を構築した。本研究により、ユニバーサル肺炎球菌ワクチンの臨床試験開始に向けて、大きく進展することができたことから、本研究の意義は大きいと考えている。

III 事後評価総合所見

現行のワクチンよりも幅広い感染防御効果をもたらすことが期待される PspA を抗原とする肺炎球菌のユニバーサルワクチンの研究開発として、GLP 試験をほぼ完了し、オプソニン活性評価系の確立などサロゲートマーカーの開発についても当初目標の多くを達成できた点が評価されました。また、良好な産学連携体制、人員増と開発体制の再構築から窺える企業の高い開発意欲、競合技術に対する差別化要因の分析、今後の開発および事業化計画の明確さ等も高い評価を得ました。

今後は、効率的な治験実施のため適切なサロゲートマーカーの検討をさらに進め、ユニバーサルワクチンをいち早く患者さんのもとに届けていただくことを期待します。