

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： C型肝炎ウイルスワクチン実用化を目指した基礎的研究
2. 研究開発代表者： 加藤孝宣（国立感染症研究所 ウイルス第二部 室長）
3. 研究開発の成果

C型肝炎ウイルス（HCV）JFH-1株とHuH-7細胞を用いたHCV感染増殖システムにより、HCVの培養細胞での増殖複製が可能となった。そこで、このシステムで得られたウイルス粒子を免疫原として用いることで、これまで不可能であったHCV粒子ワクチンを開発することを考えた。これまでの検討により、この培養細胞で産生したウイルス粒子を用いたワクチンをマウスへ接種することにより抗HCV抗体の誘導が可能であり、誘導された抗体が中和活性を持つことを確認している。そこで、本研究事業では、この培養細胞で作製したウイルス粒子ワクチンの有効性と安全性について霊長類モデルを用いて明らかにし、さらに実用化に向けてワクチン抗原の作製方法の改良および安全かつ有効な新規アジュバントの開発を目的として検討を行った。

霊長類モデルとして10頭のマーモセットを用い、HCV粒子ワクチンの有効性について検討を行った。新規アジュバントの候補として医薬基盤研よりK3-SPGの供与を受け、HCV粒子ワクチンと共に5頭のマーモセットに接種実験を行った。コントロールにはワクチン用アジュバントとして広く用いられているAlumを用いて、こちらも5頭のマーモセットに接種した。その結果、K3-SPGアジュバントとともに接種したマーモセットにおいてはHCVに対する中和抗体および細胞性免疫の誘導が確認できた。Alumをアジュバントとして用いたマーモセットでは中和抗体の誘導は確認されなかった。K3-SPGアジュバントと共に接種されたマーモセットでは、誘導された中和抗体は免疫に用いた遺伝子型2a株だけでなく、遺伝子型1b株のエンベロープを持つウイルスの感染阻害が可能であり、汎遺伝子型の中和活性が確認できたことから、このHCV粒子ワクチンとK3-SPGアジュバントの組み合わせは、HCV感染予防ワクチンとして有用と考えられた。

本検討でワクチン抗原として使用されたHCV粒子は癌細胞であるHuH-7細胞で産生される。そのため、その安全性について問題が指摘される可能性があり、ヒトに投与するワクチンとして認可されるまでに多くの検証と手続きが必要となる。そこでワクチン産生の実績があるVero細胞を用い、効率的にHCV増殖と感染性ウイルス粒子の産生が可能なHCV培養系の構築を行った。HCV粒子ワクチンの非癌細胞での作製のため、様々なワクチン産生の実績があるVero細胞を用い、効率的にHCV増殖と感染性ウイルス粒子の生成が可能な培養系の構築を試みた。Vero細胞にHCVの複製に必要なmiR-122、感染受容体のひとつであるSR-B1、HCVの感染性ウイルス粒子産生に必要なアポEを導入することにより、HCVの感染から複製、粒子生成が可能な新規培養系が構築できた。

さらに、新規アジュバントとしてToll-like receptor 3 (TLR3)を標的としたCTL誘導型の核酸免疫アジュバントの開発を行った。この新規TLR3アジュバントは炎症反応を誘発せず、局所でのTh1型サイトカイン産生とNK/CTLの活性化を誘導することがわかった。また種々のノックアウトマウスを用いた解析から、新規アジュバントによるCTL誘導はTLR3-TICAM-1-IRF3経路に依存し、このCTL誘導にはTLR3依存的に産生されるIFN- β が重要であることが明らかとなった。