

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006-2008

課題番号：18390138

研究課題名 (和文) 新しい結核ワクチンによる強力な結核感染治療効果とキラー細胞分化誘導機構の解明

研究課題名 (英文) The study of the mechanism of therapeutic efficacy of novel vaccines on Tuberculosis-infection and the induction of cytotoxic T cells by the vaccines

研究代表者 岡田 全司 (OKADA MASAJI)

独立行政法人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・

臨床研究センター長

研究者番号：40160684

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学 (含真菌学)

キーワード：感染免疫

1. 研究計画の概要

- (1) 我々が世界に先駆けて開発した強力な Hsp65 DNA+IL-12 DNA ワクチンの抗結核効果がいかなる機序により発揮されるかは不明である。我々はキラーT細胞分化因子の発見者であり、キラーT細胞より分泌される結核菌殺傷タンパク granulysin の重要性を明らかにしてきた。したがって、これらのワクチンによるキラーT細胞活性化機構を解明する。
- (2) 一方、多剤耐性結核の高頻度発症が世界的な大問題の一つである。多剤耐性結核に対するこのワクチンによる治療効果の免疫学的な機構を解明する。特にキラーT細胞分化誘導による治療機構を解析する。
- (3) 新しい結核ワクチンを用いた結核に対する治療効果の解明と免疫機構解明において治療効果をマウス、カンクイザル、及び SCID-PBL/hu の系で行う。

2. 研究の進捗状況

- (1) 新しい結核治療ワクチンの開発：このワクチンはマウス及び SCID-PBL/hu の系を用い、多剤耐性結核や超薬剤耐性結核に対し、治療効果を発揮する画期的なワクチンであることを発見。この DNA ワクチンはマウス及びヒト生体内 T細胞免疫を解析する SCID-PBL/hu の系を用い、多剤耐性結核や超薬剤耐性結核に対し、治療効果 (結核菌数減少及び延命効果) を発揮する画期的なワクチンであることを発見
- (2) この DNA ワクチンが強力なキラーT細胞

分化誘導活性を有すること、IFN- γ 産生増強を明らかにした。HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンの抗結核効果がキラーT分化誘導と関係した。

- (3) 15K granulysin タンパクがキラーT細胞分化誘導活性を示した。世界に先駆けての発見である。15K granulysin は結核菌に対するキラーTを分化誘導した。さらに、IL-6 と相乗的なキラーT分化誘導を示した。さらに、IL-2 と相乗的なキラーT分化誘導を発揮した。すなわち 15K granulysin は IL-6 や IL-2 とは異なるキラーT分化シグナルを介することが示唆された。
- (4) ヒト結核感染に最も近いカンクイザルを用い、この DNA ワクチンが世界で初めて結核治療ワクチン効果を示した。結核免疫 (結核菌に対する T細胞増殖) 増強を示した。
- (5) granulysin Tg マウスを作製し、granulysin による生体内結核菌殺傷効果とキラーT分化及び M ϕ 活性化を最初に明らかにした。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

(理由)

- (1) 我々は世界に先駆けて、BCG ワクチンより、1 万倍強力な HVJ-エンベロープ/HSP65 DNA+IL-12 DNA 結核予防ワクチンを開発した。さらに、治療ワクチン効果も示した (WHO 会議で高い評価)。カンクイザル (ヒトに最も近い結核感染モデル) で BCG よりもすぐれた画期的な結核予防ワクチン効果を得た。

- (2) さらに、キラーT由来結核菌殺傷タンパク **granulysin** 遺伝子導入マウスを作製し、結核菌殺傷効果を生体内で発見した。**granulysin** はキラーT細胞分化因子であることを発見した (Vaccine. in press)。
- (3) 新しい結核治療ワクチンを開発した: このDNAワクチンはマウス及びヒト生体内T細胞免疫を解析するSCID-PBL/huの系を用い、多剤耐性結核や超薬剤耐性結核に対し、治療効果(結核菌数減少及び延命効果)を発揮する画期的なワクチンであることを発見 (Vaccine. 2009)。このDNAワクチンが強力なキラーT細胞分化誘導活性を有すること、IFN- γ 産生増強を明らかにした。
- (4) 15K **granulysin** はIL-6と相乗的にキラーT細胞の分化を誘導した。さらに15K **granulysin** はIL-2ともキラーT細胞分化を相乗的に誘導した。
- (5) このDNAワクチンが、サルの系でも治療ワクチン効果を示し、T細胞増殖活性を示した。これらは世界に先駆けての発見である (Vaccine. 2009)。

4. 今後の研究の推進方策

- (1) HSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンの抗結核効果がキラーT分化誘導と関係した。さらに、**granulysin** がキラーT分化因子の一つであることを発見した(特許取得)。したがって、**granulysin** ワクチンとHSP65 DNA+IL-12 DNA ワクチンによる相乗的な結核治療効果とキラーT活性化機構を解明する。
- (2) これらの二種のワクチンによるキラーT分化機構は全く不明である。したがって、**granulysin** Tg SCID-PBL/hu を作製し、ヒト・キラーTの新しい分化 pathway を解明する。キラーT分化因子IL-6やIL-2との関係を解析する。HSP65を介したM ϕ やTLRの活性化機構や**granulysin**によるM ϕ 活性化も解明する。進展が認められた二種の結核ワクチンによる多剤耐性結核に対する極めて強力な相乗的な治療効果ならびに結核免疫能を解明する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 26 件)

- ① Okada M, (21人中1番目) Kaneda Y, Yoshida S, Inoue Y, McMurray D.N, Tan E.V, Sakatani M. :Novel prophylactic and therapeutic vaccine against Tuberculosis. Vaccine. 2009;27(25-26):3267-70 査読あり

- ② Okada M (26人中1番目), Kaneda Y, Yoshida S, D N. McMurray, E.V.Tan, R Gelber, Sakatani M.: Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. Vaccine. 2007;25(16):2990-3 査読あり
- ③ Yoshida S, Inoue Y, Kaneda Y, Okada M (12人中12番目) : 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 査読あり

[学会発表] (計 36 件)

- ① Okada M 「Novel therapeutic vaccine against tuberculosis using mice and cynomolgus monkeys」 6th World Congress on Vaccine, (WCVII2008) Milan, Italy 2008, Sept 23 招待講演

[図書] (計 1 件)

- ① 岡田全司: 結核ワクチン. “結核 第4版” p50-58 (編集 泉孝英, 富岡洋海) 医学書院, 2006

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

岡田全司, 大杉義征、三原昌彦、高橋将文、伊澤淳

「キラーT細胞の誘導抑制剤」

出願番号: PCT-JP2006/322726

出願日: 2006年11月15日 2006年

○取得状況 (計 1 件)

岡田全司, 高森靖、安井正文

「感染症治療剤 15K **granulysin**」

特許取得 2008年7月4日

特許 4149713号 2008年

[その他]

新聞掲載 2件 (朝日新聞)

ラジオ講演 1件 (ニッケイ)

ホームページ

<http://www.hosp.go.jp/~kch/>