

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：84420

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05995

研究課題名（和文）新規結核BCGワクチンの免疫抑制サルモデルでの検証

研究課題名（英文）The evaluation of new recombinant BCG vaccine with SIV-TB co-infected cynomolgus macaques

研究代表者

山川 奈津子（YAMAKAWA, Natsuko）

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター・研究員

研究者番号：80712752

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：結核は世界三大感染症の一つで、いまだに年間130万人もの人々が命を落としている。結核の予防手段として現在唯一認可されているのは、BCGワクチン接種である。しかしBCGワクチンは弱毒化生ワクチンであるため、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）陽性患者や先天性免疫不全症の子供等、免疫力が低下している人々への投与は禁止されている。そこで我々は、すべての人々へ安全に投与できる結核ワクチン開発を進めている。本研究では、よりヒトの結核感染病態に近い動物モデルであるカニクイザルを用いて、新規結核ワクチンを評価した。その結果、既存のBCGワクチンよりも各臓器において結核菌の増殖を抑える傾向が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

結核はエイズ、マラリアと共に世界三大感染症の一つであり、いまだに特にアフリカや東南アジアを中心に多くの命が失われている。現在認可されている唯一の結核ワクチン、BCGは弱毒化生ワクチンであるため、免疫力が低下している人々へは接種できない。これまで世界中で、既存のBCGワクチンよりも結核菌感染に対する防御効果が高く、副反応のリスクが低い結核ワクチンの開発が行われてきた。本研究の新規結核ワクチンが実用化されれば、日本への貢献だけでなく、これまでBCGワクチンを投与できなかった世界中の人々にとっても有意義である。

研究成果の概要（英文）：Tuberculosis (TB) is one of the three major infectious diseases in the world and still kills 1.3 million people annually. The only currently approved means of TB prevention is BCG vaccination. However, as the BCG vaccine is a weakened live attenuated vaccine, its administration to immunocompromised individuals, such as human immunodeficiency virus (HIV)-positive patients and children with congenital immunodeficiency diseases, is prohibited. Therefore, we are developing a safe, universally applicable TB vaccine. In this study, a novel TB vaccine was evaluated using an animal model, the crab-eating macaque (*Macaca fascicularis*), which more closely resembles the pathophysiology of TB infection in humans. The results indicated that the new vaccine tended to suppress the growth of *Mycobacterium tuberculosis* in various organs more than the existing BCG vaccine.

研究分野：免疫応答解析

キーワード：結核 ワクチン BCG カニクイザル

1. 研究開始当初の背景

結核は結核菌の感染により発症する疾患で、単独の病原体による感染症としては世界の死因第1位である。そのため世界保健機関（WHO）も、結核撲滅に向けた対策（感染予防、診断・治療法の開発等）を積極的に推進している。しかしながら、2018年には世界で新たに1,000万人が結核を発病、140万人が死亡し、この数年間大きな改善がみられていない(WHO Global tuberculosis report 2019)。欧米の先進諸国が低蔓延国である一方、日本の結核罹患率は人口10万人当たり約13人で中蔓延国に区分される(結核の統計 2019)。さらに都市別でみると大阪市では、10万人当たり約30人の罹患率で、より深刻な状況にある地域も国内に散見される。オリンピック・パラリンピック開催に向けての感染症対策にも、結核に対する政策が盛り込まれているが(厚生労働省)、中国やインド、フィリピンなどのアジア隣国は多数の患者を抱えており、これらの国から多くの渡航者を受け入れる本国にとって結核予防、防疫は極めて重要な課題である。

結核の予防として現在有効性が確認されている唯一の方法はBCGワクチン接種である。BCGワクチンは肺結核だけではなく、重症化しやすい乳幼児の結核性髄膜炎や粟粒結核にも効果を示し、生後1年までに接種することが推奨されている。結核による致死率は約12%であるが、免疫抑制状態にあるHIV陽性者では約30%まで上昇する。結核とHIVの共感染は、アフリカ等で大きな問題になっている。しかし既存のBCGワクチンは弱毒化生ワクチンであるため、その病原性から、HIV陽性患者や免疫抑制治療を受けている人々への接種は禁じられている。従って、免疫抑制状態の人々へも投与できる、すなわち既存のBCGワクチンよりも副反応のリスクが低く、結核菌感染に対する免疫誘導効果が高いワクチンの開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、マウスモデルで効果の見られた新規の結核ワクチン、S0CS1-BCGワクチンの安全性および結核防御効果を、サルにおける免疫抑制モデルであるサル免疫不全ウイルス(SIV)感染カニクイザルモデルを用いて検証し、ワクチンの安全性および効果を評価することを目的とした。

3. 研究の方法

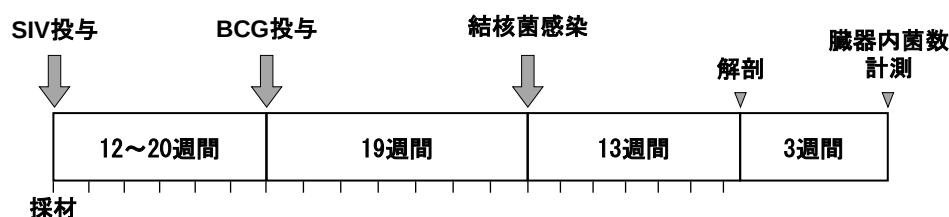


図 実験スケジュール。図中下部の目盛りは採血等の採材日を表している。

カニクイザルを10頭選定した(体重2.5-3.5 kg、3-10才齢)。SIVを感染させた後、経日的に採血し、分離した血液細胞からSIV感染成立の確認(定量PCR)、T細胞数の変

動確認（フローサイトメトリー）を行い、SIVの感染状態が近似したサルを更に選定した。ワクチンを投与しない群は2頭とした。4頭に対照群として現在日本で乳幼児に投与されているBCG東京株を、残り4頭のサルにS0CS1-BCGワクチンを各左上腕へ皮内投与（ $\sim \times 10^6$ CFU/頭、乳幼児への投与量と同量）した。1-3週間に1度ワクチン投与部位の観察・写真撮影、体重測定、検温および採血（13 mL/頭）を行い、ワクチンの安全性を検証した。

安全性を確認できたので、ワクチン投与19週後に結核菌Erdman株を100 CFU/頭、経気道感染させた。感染後は2週間隔で臨床診断（CT画像、体重、食欲不振等の確認）、血液検査（赤血球沈降速度測定、生化学検査（C反応性タンパク（CRP）等の測定）、一般的な結核感染診断法である抗原特異的インターフェロン γ 遊離検査（IGRA）等）を行い、情報収集した。

採取した血液中の血しょうおよび末梢血単核細胞（PBMC）を分離した。ワクチン接種による全身への影響を検証するため、血しょう中のサイトカイン等産生を検出した（マルチプレックス法）。また抗結核免疫の主体と考えられているT細胞の機能を解析するため、PBMCを結核菌抗原で刺激し、抗原特異的なインターフェロン γ 産生T細胞を検出した（ELISPOTアッセイ等）。

結核菌感染後 13 週もしくは体重 20%減を指標にエンドポイントを判断し、安楽殺・解剖を行った。肺、脾臓、肝臓、腎臓、リンパ節、心臓等を採取した。臓器内で生存している結核菌数（生菌数）からワクチン効果を判定するため、各臓器をすり潰し、結核菌増殖用の 7H10 プレートに塗布後 37℃で 3-4 週間培養、コロニーを数えた。

4. 研究成果

S0CS1-BCG ワクチンは既存の BCG ワクチンよりも各臓器における結核菌数を抑える傾向が見られた。また採取していた血液サンプルの解析を行ったところ、S0CS1-BCG ワクチンの接種後にT細胞応答を活性化させるサイトカインや、炎症反応を抑制するサイトカインの産生が上昇する傾向が見られた。本研究では各群 4 頭ずつのサルを使用した。良好な結果を得られているが、サルは実験結果の個体差が大きい実験動物であるため、2023 年度中盤より追加実験を開始している。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1 . 発表者名 Yamakawa, N. and Yasutomi, Y.
2 . 発表標題 The evaluation of a novel tuberculosis vaccine with cynomolgus monkeys
3 . 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 Yamakawa, N. and Yasutomi, Y.
2 . 発表標題 The evaluation of a new recombinant BCG vaccine in Cynomolgus Macaque model
3 . 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 山川奈津子、相馬祥吾 、保富康宏
2 . 発表標題 結核感染カニクイザルモデルを用いた新規BCGワクチンの検証
3 . 学会等名 第17回霊長類医科学フォーラム
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 Yamakawa, N. and Yasutomi, Y.
2 . 発表標題 The evaluation of a new recombinant BCG vaccine in cynomolgus macaque model
3 . 学会等名 6th global forum on TB vaccines (国際学会)
4 . 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------