

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460754

研究課題名(和文) SE36ワクチンの効果とマラリア抵抗性に関する遺伝的バックグラウンドの解明

研究課題名(英文) Analysis of genetic background in a population that participated in the Phase 1b trial of BK-SE36

研究代表者

東岸 任弘 (Tougan, Takahiro)

大阪大学・微生物病研究所・助教

研究者番号：20379093

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々は熱帯熱マラリア原虫SERA5のN-末端ドメイン由来の組換えタンパク質を抗原とするBK-SE36ワクチンの開発を行っている。ウガンダにおける6-20歳健康児童を対象とした第1b相臨床試験、および追跡研究において、マラリア症状を72%減少する一方、その免疫原性はおよそ30%であった。そこで我々は、この差異が個体の遺伝的バックグラウンドに起因している可能性を排除するために、複数の遺伝子多型に注目し解析を行った。その結果、SE36抗原の免疫原性およびマラリア発症とHLA-DRB1、DQB1遺伝子座のアレル多型、Fcγレセプター、鎌形赤血球形質(HbS)との関係は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：The BK-SE36 vaccine, derived from the serine repeat antigen 5 (SERA5) of *Plasmodium falciparum*, is a promising blood stage vaccine candidate against malaria. In a Phase 1b clinical trial and follow-up study in Uganda, the risk for malaria symptoms was reduced by 72% compared with the control group. Although this vaccine seems promising, the number of responders to the vaccine was only approximately 30%, with the majority of the responders being in the younger cohort. An important consideration while using this vaccine is that the host genetic factors may be influencing the ability to mount an effective immune response to the vaccine as well as the susceptibility to malaria infection. We, therefore, analyzed the allelic polymorphism of HLA-DRB1 alleles and so on. In this study, HLA-DRB1 and DQB1 alleles and Fcγ receptors and sickle cell trait (HbS) did not influence the antibody response to BK-SE36 and the vaccinees' susceptibility to clinical malaria.

研究分野：マラリア生物学

キーワード：マラリア BK-SE36ワクチン 遺伝的バックグラウンド HLA Fcγレセプター 鎌形赤血球形質

1. 研究開始当初の背景

マラリア原虫感染症は年間3-5億人が感染し、100万人が死亡しており、その抜本的な対策として効果の高いワクチンの開発が期待されている。我々は、熱帯熱マラリア原虫SERA5 (serine repeat antigen 5)のN-末端ドメインを改良して抗原としたSE36マラリアワクチンの開発を行ってきた。日本国内において第1a相臨床試験を実施し、マラリア感染歴のない日本人成人においてその安全性と100%の抗体誘導を確認した(Horii et al. 2010)。2010年よりウガンダのマラリア高度流行地域において21歳以上の成人での抗SE36抗体の陽性者と陰性者を対象として第1b相臨床試験ステージ1を実施し、その安全性と免疫原性を確認した。その後、6-20歳健康児童を対象としてステージ2を実施し、安全性・免疫原性の確認した他に、その後の追跡研究により有効性も確認した。この有効性は約60%と、他の候補抗原であるRTS/S、MSP3と比較してもはるかに高いものであった。

当臨床試験において、SE36ワクチン接種者66人・非接種者(プラセボ)18人に加え、さらに2011年3月から11月までの追跡調査として50人の対照者を追加した合計132人(脱落者2名)について、抗体価、マラリア感染時の血中原虫率などのデータを得ている。

本研究では、今回実施した臨床試験により得られた血液サンプルを解析することで、SE36ワクチンに対する応答者と非応答者の遺伝的バックグラウンドの差異を明らかにし、より正確なワクチン効果、およびマラリア感染に対する感受性・抵抗性の評価を可能とすることを目的とする。

2. 研究の目的

我々は、ウガンダのマラリア高度流行地域においてBK-SE36マラリアワクチンの第1b相臨床試験ステージ1・2(安全性及び免疫原性)および、追跡研究を成功裡に終了した。その中で興味深いことに、SE36ワクチンに対する抗体産生の応答者と非応答者がはっきりと分かれる結果となった。本研究では当該臨床試験ステージ2で取得した132名分の血液サンプルについて、ヒト白血球抗原(HLA)遺伝子、Fcγレセプター遺伝子、IgG遺伝子の3遺伝子に着目し、アレル多型、一塩基多型(SNPs)、およびコピー数変異(CNV)を解析する。これにより応答者と非応答者の遺伝的バックグラウンドの差異を明らかにし、より正確なワクチン効果、およびマラリア感染に対する感受性・抵抗性の評価を可能とすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、第1b相臨床試験ステージ2で取得した132名分の血液サンプルからゲノムDNAを抽出し、遺伝学的解析を行う。解析

にはマラリア感染に対する免疫に特に重要であると考えられるヒト白血球抗原(HLA)遺伝子、Fcγレセプター遺伝子、IgG遺伝子の3遺伝子に着目し、アレル多型、一塩基多型(SNPs)、およびコピー数変異(CNV)を解析する。

最初に、HLA遺伝子についてはDRB1遺伝子アレル多型を、FcγレセプターについてはFcγRIIIaとFcγRIIIb遺伝子の既知の2つのSNPsとCNVについて解析を、IgG遺伝子については新規SNPsの同定を行う。得られたデータは、すでに取得済みであるSE36ワクチンのワクチン効果試験の結果、抗SE36抗体価、血球原虫率等のデータを用いて、遺伝的バックグラウンドの差異とSE36ワクチンのワクチン効果、マラリア感染に対する感受性・抵抗性との関係について統計学的手法を用いた比較解析を行う。

4. 研究成果

マラリア感染症は年間1億人以上が感染し、およそ100万人が死亡する熱帯感染症である。これまでに我々は熱帯熱マラリア原虫の抗原タンパク質であるSERA5 (serine repeat antigen 5)のN-末端ドメイン由来の組換えタンパク質を抗原とするBK-SE36ワクチンの開発を行ってきた。2010年より、アフリカ・ウガンダのマラリア高度流行地域において、6-20歳健康児童を対象とした第1b相臨床試験を実施し、安全性、および免疫原性を確認した。さらに追跡研究において、マラリア症状を72%減少することが明らかにした。一方、その免疫原性はおよそ30%であり、抗SE36抗体の誘導能、およびマラリア抵抗性との間には個人差が認められた。一般にこのような個人差生じる原因の一つとして遺伝的バックグラウンドの差異が知られている。中でもヒト白血球抗原(HLA)はT細胞表面に存在する抗原提示分子であり、その多型性が抗原提示能、さらにはマラリア抵抗性の個体差を決定付ける一因である。そこでマラリア自然感染後、およびワクチン接種後の抗SE36抗体応答の個体差に關与する遺伝的バックグラウンドの解析を目的として、今回実施した臨床試験より得られた血液サンプルからDNAを抽出し、HLA-DQB1遺伝子座のタイピングを行った。その結果、抗SE36抗体価およびBK-SE36ワクチンの効果とHLA-DQB1遺伝子座のアレル多型との関係は認められなかった。

また、IgGレセプターとして知られるFcγレセプターの中でも、FcγRIIIa中の131番目のHis-Asn変異、FcγRIIIa中の176番目のPhe-Val変異がIgGとの結合力に影響し、マラリア抵抗性への關与が報告されている。そこで、これらの変異とBK-SE36ワクチンの効果との関係を解析した。また、Fcγレセプター遺伝子群の中でも特にFcγRII、FcγRIIIはゲノム上にタンデムにコードされており、この領域は遺伝子の重複や欠失が起こりやすく、対になる2アレルのみならず、1、3、4アリ

ルなどとコピー数にばらつきがある(コピー数変異)。このコピー数変異がマラリア抵抗性に関与していることが報告されており(Niderer, 2010)。コピー数変異とBK-SE36 ワクチンの効果との関係を解析した。さらに、鎌型赤血球貧血症患者はマラリア抵抗性を持つことが知られており、その原因として、ヘモグロビン 鎖の6番目のアミノ酸に置換が生じていることが知られている(Glu Val 変異)。そこで、この変異とBK-SE36 ワクチンの効果との関係を解析した。その結果、いずれの変異もBK-SE36 ワクチンの効果と統計学的に有意な関連は認められなかった。このことから、第1b 相臨床試験およびその追跡研究で確認されたBK-SE36 ワクチンの効果は以上の変異とは関係なく有効であることが確認できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Yagi M, Bang G, Tougan T, Palacpac NM, Arisue N, Aoshi T, Matsumoto Y, Ishii KJ, Egwang TG, Druilhe P, Horii T.

Protective epitopes of the Plasmodium falciparum SERA5 malaria vaccine reside in intrinsically unstructured N-terminal repetitive sequences.

PLoS One. 2014 Jun 2;9(6):e98460. 査読有

2. Aka P, Vila MC, Jariwala A, Nkrumah F, Emmanuel B, Yagi M, Palacpac NM, Periago MV, Neequaye J, Kiruthu C, Tougan T, Levine PH, Biggar RJ, Pfeiffer RM, Bhatia K, Horii T, Bethony JM, Mbulaitaye SM.

Endemic Burkitt lymphoma is associated with strength and diversity of Plasmodium falciparum malaria stage-specific antigen antibody response.

Blood. 2013 Aug 1;122(5):629-35. 査読有

3. Palacpac NM, Ntege E, Yeka A, Balikagala B, Suzuki N, Shirai H, Yagi M, Ito K, Fukushima W, Hirota Y, Nsereko C, Okada T, Kanoi BN, Tetsutani K, Arisue N, Itagaki S, Tougan T, Ishii KJ, Ueda S, Egwang TG, Horii T.

Phase 1b randomized trial and follow-up study in Uganda of the blood-stage malaria vaccine candidate BK-SE36.

PLoS One. 2013 May 28;8(5):e64073. 査読有

4. Tanabe K, Mita T, Palacpac NM, Arisue N, Tougan T, Kawai S, Jombart T, Kobayashi F, Horii T.

Within-population genetic diversity of Plasmodium falciparum vaccine candidate antigens reveals geographic distance from a Central sub-Saharan African origin.

Vaccine. 2013 Feb 18;31(9):1334-9. 査読有

5. Tougan T, Aoshi T, Coban C, Katakai Y, Kai C, Yasutomi Y, Ishii KJ, Horii T.

TLR9 adjuvants enhance immunogenicity and protective efficacy of the SE36/AHG malaria vaccine in nonhuman primate models.

Hum Vaccin Immunother. 2013 Jan 4;9(2):283-290. 査読有

〔学会発表〕(計 11 件)

1. 東岸任弘、Jyotheeswara Reddy Edula、堀井俊宏

マラリア原虫感染赤血球における血清タンパク質の取り込みメカニズムの解明

Analysis of uptake mechanism of host serum proteins by the malaria parasite-infected red blood cells

第85回日本寄生虫学会大会

平成28年3月19日(土)(平成28年3月19日(土)~3月20日(日))

宮崎市民プラザ(宮崎)

2. 東岸任弘、Jyotheeswara Reddy Edula、川下理日人、堀井俊宏

マラリア原虫の寄生戦略の新規解析法の開発

Development of novel analysis method of parasitic strategy of malaria parasite BMB2015(第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会・合同大会)(ポスター発表)

平成27年12月3日(火)(平成27年12月1日(火)~12月4日(金))

神戸ポートアイランド(兵庫)

3. Takahiro Tougan, Toshihiro Horii

Identification and characterization of host proteins associated with N-terminal domain (P47) of SERA5 of P. falciparum

感染症若手フォーラム 2015(ポスター発表)

平成27年9月8日(火)(平成27年9月6日(日)~9月8日(火))

アテーナ海月(兵庫)

4. 東岸任弘、堀井俊宏

ワクチン候補抗原 SERA5 結合タンパク質の同定とその解析

第82回日本寄生虫学会大会(口頭発表)

平成27年3月21日(土)(平成27年3月21日(土)~3月22日(日))

杏林大学三鷹キャンパス(東京)

5. Takahiro Tougan, Nirianne Q. Palacpac, Masanori Yagi, Thomas G Egwang, Toshihiro Horii

HLA gene polymorphism in Ugandan population that participated in the Phase

1b trial of BK-SE36
17th A-IMBN Conference (口頭発表)
平成26年12月2日(火)(平成26年1
1月30日(日)~12月2日(火))
St. Luke's Medical Center (Manila,
Philippines)

6. Takahiro Tougan, Nirianne Q. Palacpac,
Masanori Yagi, Thomas G Egwang and
Toshihiro Horii

African HLA genes in a population that
participated in the Phase 1b trial of
BK-SE36

The 12th Awaji International Forum on
Infection and Immunity (ポスター発表)

平成25年9月11日(水)(平成25年9
月10日(火)~9月13日(金))

淡路夢舞台国際会議場(兵庫)

7. Takahiro Tougan, Nirianne Q. Palacpac,
Masanori Yagi, Thomas G Egwang and
Toshihiro Horii

Seoul National University Cancer Research
Institute, Medical Campus, Seoul, Korea
African HLA genes in a population that
participated in the Phase 1b trial of
BK-SE36

Forum Cheju 16 (口頭発表)

平成25年8月30日(金)(平成25年8
月30日(金)~8月31日(土))

8. 東岸任弘、青枝大貴、Cevayir Coban、片
貝祐子、保富康宏、甲斐知恵子、石井健、堀
井俊宏

次世代 SE36 マラリアワクチンの開発と実用
化：モデル動物としてのカニクイザル・リス
ザルの利用

第60回日本実験動物学会総会(口頭発表)
ワークショップ

平成25年5月17日(金)(平成25年5
月15日(水)~5月17日(金))

つくば国際会議場(茨城)

9. 東岸任弘、Nirianne Q. Palacpac、八木
正典、中村昇太、後藤和義、Thomas G. Egwang、
堀井俊宏

抗 SE36 抗体の誘導とマラリア抵抗性に関与
する遺伝的バックグラウンドの研究

Analysis of African HLA genes in a
population that participated in the Phase
1b trial of BK-SE36

第82回日本寄生虫学会大会(口頭発表)

平成25年3月31日(日)(平成25年3
月29日(木)~3月31日(日))

東京医科歯科大学湯島キャンパス(東京)

10. 東岸任弘、青枝大貴、Cevayir Coban、
片貝祐子、甲斐知恵子、保富康宏、石井健、
堀井俊宏

新規アジュバントを添加した次世代 SE36 マ

ラリアワクチンの開発：旅行者用ワクチンへ
のアプローチ

日本薬学会第133回年会(口頭発表)シンポ
ジウム

平成25年3月28日(木)(平成25年3
月27日(水)~3月30日(土))

パシフィコ横浜(神奈川)

11. 東岸任弘、Nirianne Q. Palacpac、八木
正典、中村昇太、後藤和義、Thomas G. Egwang、
堀井俊宏

抗 SE36 抗体の誘導とマラリア抵抗性に関与
する遺伝的バックグラウンドの研究

感染症若手フォーラム 2013(口頭発表)

平成25年2月28日(木)(平成25年2
月28日(木)~3月2日(土))

北広島クラッセホテル(北海道)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1件)

名称：新規マラリアワクチン及びアジュバン
ト(BK-SE36/CpG)

発明者：堀井俊宏；石井健；東岸任弘

権利者：国立大学法人大阪大学

種類：特許

番号：特願 2015-5748658

出願年月日：平成27年5月2日

国内外の別：日本

〔その他〕

ホームページ等

大阪大学微生物病研究所分子原虫学分野ホ
ームページ

[http://www.biken.osaka-u.ac.jp/lab/prot
ozool/index.html](http://www.biken.osaka-u.ac.jp/lab/prot
ozool/index.html)

6. 研究組織

(1)研究代表者

東岸 任弘(TOUGAN, Takahiro)

大阪大学・微生物病研究所・助教

研究者番号：20379093

(2)連携研究者

堀井 俊宏(HORII, Toshihiro)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号：80142305