

**最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書**

研究課題名	難治性原虫感染症に対する新規ワクチン技術の開発研究
研究機関・部局・職名	国立大学法人帯広畜産大学・原虫病研究センター・准教授
氏名	西川 義文

【研究目的】

原虫とは癌細胞と同様に単一の真核細胞で構成され、動物体内で無限に増殖する感染病原体をいう。医学分野で重要なマラリア原虫は、世界で年間3～5億人が罹患、年間200万人もの命を奪っている。わが国にも存在するトキソプラズマはその感染による流産や新生児の先天性トキソプラズマ症を引き起こし、少子化が進む現代社会には無視できない問題である。また畜産業界では、家畜原虫感染症による家畜の生産性の低下が問題視され、ネオスポラの感染による牛の流産例が全国的に見つかっており、被害の拡大が懸念される。本研究の目的は、医学、獣医・公衆衛生領域で重要視されているにも関わらず未だ有効な予防法が確立されていない難治性原虫症の予防ワクチンを世界に先駆けて開発することにある。

これまでの研究により、原虫感染を制御するためには、効果的なTh1免疫の誘導の必要性が示されている。我々の技術シーズであるオリゴマンノース糖鎖を被覆したリポソーム(OML)は、マンノース受容体を介して抗原提示細胞に抗原を積極的に送達し、効果的なTh1免疫の誘導を可能にした。本研究では、原虫ゲノムからワクチン抗原を探索し、ワクチン抗原を封入したOMLが原虫感染を制御できるか検証する。

本研究はOMLワクチンの実用化に向けて、「ヒトと家畜動物を対象にしたOMLの適応拡大」と「自然宿主を想定し実用化を見据えた試験研究」を提案するものである。それ故、以下の3種類(マラリア原虫、トキソプラズマ、ネオスポラ)の原虫に対するワクチン開発の基礎的研究を下記の3課題について推進する。

- (1) マラリア原虫感染に対するOMLモデルワクチンの開発
- (2) トキソプラズマ感染に対するOMLモデルワクチンの開発
- (3) ネオスポラの自然宿主におけるOMLワクチンの評価

以下に具体的な達成目標を示す。

- (1) マラリア原虫感染に対するOMLモデルワクチンの開発

【背景と目的】

マラリア原虫は赤血球寄生性の原虫であり、原虫特異的な抗体が感染をコントロールできると考えられてきた。しかしながら、マラリア原虫の特殊な免疫回避機構により特異抗体に反応する原虫抗原が変異をすることが、ワクチン開発の障害となっていた。近年の研究により、抗原提示細胞による感染赤血球の貪食とTh1免疫を主役とした細胞性免疫が、マラリア原虫の感染制御に重要であることが明らかとなってきた。

そこで、Th1免疫を活性化できるワクチン抗原を探索し、OMLに封入したモデルワクチンの効果についてマウスモデルを用いて評価する。ここでは、マラリア原虫のワクチン開発の実用化に向けたモデルワクチンの開発を目指す。

【達成目標】

- ・ T細胞(特にCD8陽性細胞)を活性化できるワクチン抗原の同定
 - ・ ワクチン抗原を封入したOML作製技術の確立
 - ・ マウスモデルで原虫の赤血球寄生率とマウスの生存率を指標にしたワクチン効果の誘導
- (2) トキソプラズマ感染に対するOMLモデルワクチンの開発

【背景と目的】

トキソプラズマは宿主細胞内寄生性の原虫であり、原虫特異的な細胞性免疫が感染をコン

トロールできると考えられてきた。これまでの研究で、各種ワクチン抗原が同定され、細胞性免疫を誘導する様々な方法が試されているが、一部の生ワクチンを除き実用化に至っていないのが現状である。ワクチンの生産性と細胞性免疫の誘導効率の悪さが、ワクチン開発の障害となっている。そこで、細胞性免疫を活性化できるワクチン抗原を探索し、OMLに封入したモデルワクチンの効果についてマウスモデルを用いて評価する。ここでは、トキソプラズマのワクチン開発の実用化に向けたモデルワクチンの開発を目指す。

【達成目標】

- ・ T細胞を活性化できるワクチン抗原の同定
- ・ ワクチン抗原を封入したOML作製技術の確立
- ・ マウスモデルで原虫の生体内寄生率（特に脳）とマウスの生存率を指標にしたワクチン効果の誘導

(3) ネオスポラの自然宿主におけるOMLワクチンの評価

【背景と目的】

ネオスポラは宿主細胞内寄生性の原虫であり、原虫特異的な細胞性免疫が感染をコントロールできると考えられてきた。我々の研究により同定されたNcGRA7は、マウス実験系においてネオスポラ原虫特異的な細胞性免疫と液性免疫をバランスよく誘導することにより、原虫の垂直感染を制御することが可能である。本研究では、NcGRA7を封入したOMLのワクチン効果について大型自然宿主であるウシで評価する。ここでは、ネオスポラに対するOMLワクチンの実用化プログラムを確立する。

【達成目標】

- ・ ネオスポラのウシ感染モデル系の構築
- ・ ウシにおけるNcGRA7封入OMLによる免疫誘導法の確立
- ・ ウシ感染モデルでの生体内寄生率（特に脳）を指標としたワクチン効果の誘導

【総合評価】	
	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】	
① 総合所見	<p>本研究課題はオリゴマンノース糖鎖を被覆したリポソーム（OML）に抗原を封入し免疫を効率的に誘導する新規ワクチン技術の開発を目指した課題であり、マラリア、トキソプラズマ、ネオスポラと言う人獣における多様な難治性原虫症を対象とした意欲的な研究である。3 課題についてすべて成果を上げることは困難ではないかと考えられたが、それぞれにモデル系でのワクチン開発や評価が行われ、特にネオスポラでは産業上重要なウシでの評価が行われ、目標を達成している。またトキソプラズマの慢性感染時の脳内の炎症による異常情動行動など、予想外の結果も得ている。これらは、初期の準備段階に十分な時間をかけて着実に進めたことによると考えられ、高く評価できる。</p> <p>中間評価でも指摘したことであるが、今後重要なことは、本補助事業終了後に実際に実用化に如何に近づけることができるかである。マラリアについては、MSP1 にしても CSP にしても、基礎データは十分過ぎるものが蓄積しているので、OML を応用することによるメリットとデメリットを明確にしていく必要がある。そしてマウスから霊長類へと進めて最終的にヒトへの応用をめざすことが必要である。トキソプラズマ症についても、ワク</p>

チン開発研究の情報蓄積が甚大であり、やはり OML がツールとして如何にすぐれているかを、より明確な情報としてまとめることが望まれる。そして実際にネコなどの伴侶動物でのワクチン開発をめざし、その基盤となる可能な限りの知見を得ることが重要と考える。ネオスポラ症での成果をもとに、更なる発展を期待したい。

② 目的の達成状況

・所期の目的が (■全て達成された ・ □一部達成された ・ □達成されなかった)

本研究課題はマラリア、トキソプラズマ、ネオスポラと言う人獣における難治性原虫症を対象とし、研究代表者らが開発したオリゴマンノース被覆リポソーム(OML)に抗原を封入し免疫を誘導する新規ワクチン技術の開発をめざした課題であり、これまでに以下の成果を上げている点が評価できる。

1) マラリア

抗原として MSP1、CPS を封入した OML によるマウスの免疫の効果を調べたところ、生存期間が延長し、ワクチン効果が得られている。

2) トキソプラズマ

ワクチン開発のための抗原として 5 種の分子を調べた結果、TgPF を封入した TgPF-OML を接種したマウスにおいて生存期間の延長と生存率の上昇が認められ、これらの個体においては脳内原虫数の減少も見られている。

3) ネオスポラ

ワクチン抗原候補の NcGRA7 を封入した OML の効果をホルスタイン種のウシを用いて検討した結果、感染防御能を確認するに至っている。

これらの結果は、いずれの感染モデルにおいても、OML の応用によってサブユニットワクチンとしての効果が誘導できるということを示したものであり、目標達成と評価してよい。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が (■ある ・ □ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が (■創出された ・ □創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (■ある ・ □ない)

マラリアは結核、エイズとともに最も重要な感染症であるが、宿主と同じ真核生物であることから、抗生物質はドキシサイクリンなど一部を除いては無効であり、またクロロキンなどかつての特効薬も耐性株の出現によりその使用効果は激減している。一方、ワクチンに関しても、これまで有効性が認められているマラリア原虫やトキソプラズマのワクチンはいずれも不活化ワクチンであり、生産に高度の施設が必要であったり、ワクチン株の病原性の復帰が懸念されたりしており、多くの研究者の努力にも関わらず、臨床で用いることの可能な有効なものとは得られていない。このような背景において、アジュバントを用いずにマンノース受容体を介して効率的に抗原提示細胞に抗原を送り込んで免疫能を

上げることによって、実験に使用しているマウスの生存期間を延長させ、また一部は完全に原虫を排除した結果は、極めて重要なものである。獣医学領域でのネオスポラの重要性に鑑みれば、本研究からネオスポラ症ワクチンに応用できる技術を開発したという点だけでも評価されるべきである。元々の研究目的にあるような、汎用性の高いワクチン技術として OML の価値については、トキソプラズマやネオスポラに関しても感染防御を示す結果を得ており、これまでの寄生虫ワクチンの開発の中でもその優位性は特筆すべきである。

この研究課題で応用を試みる OML については特許を既に 1 件取得し、他に 2 件が出願中であるように、技術の面での先進性を認めることができる。特にネオスポラワクチンについてはニュージーランドで特許登録を済ませ、アメリカとオーストラリアでも特許登録手続き中であること等実用化への意欲的な姿勢が窺える。

原虫感染における脳内の炎症反応に関する知見は興味深い。特にトキソプラズマ感染では、慢性感染においても脳内での炎症反応が持続し、これがマウスの異常な情動行動の原因となっている可能性を見出した点は、当初の目的にはない新たな結果である。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が (見込まれる ・ 見込まれない)

マンノースとその受容体を利用し、リボソームに封入した抗原を免疫担当細胞に効率的に送り込み、アジュバントを用いずにワクチン効果を狙う本研究が進展すれば、ここで取り上げているマラリア、トキソプラズマ、ネオスポラのみならず、住血吸虫など他の重要寄生虫疾患に対するワクチン開発の道を開くことになり、その貢献は大である。獣医学領域で重要なネオスポラ症については、そのワクチン開発に OML が寄与可能であると結論づけられれば、畜産農家を中心にして、地域産業や地域経済の改善に直接寄与する貢献となりうるであろう。

我が国ではあまり知られていないが、難治性原虫病であるマラリア原虫、トキソプラズマ、ネオスポラの感染症は、世界的に多数の人や家畜に甚大な被害を与えている。マラリアは年間 3～5 億人が罹患し、年間死亡者数は 200 万人に達し、トキソプラズマは世界人口の 30～60% が感染している。またネオスポラ感染ではウシの流産が大きな問題になっている。特に途上国では、家畜の 100% が難治性原虫病の危険にさらされているといわれている。このような状況下で、本研究による新規ワクチンの開発が可能になれば、将来の深刻な食糧問題を解決するための大きな手掛かりが与えられることとなる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

短期間でマラリア、トキソプラズマ、ネオスポラと 3 種の寄生原虫に対するワクチン開発を進める本研究はかなり挑戦的であるが、それぞれの課題にポストドクを配し相互の情報交換を緊密に行いながら研究を進めたことがうかがえ、研究代表者のマネジメント

能力の高さが判る。助成金の使用も適切であり、問題はない。指摘事項への対応も誠実なものであり、好ましい。本研究はリポソームに封入した抗原をマンノースを用いて特異的に抗原提示細胞に送り込むと言う先端技術を用いた開発研究であり、応用研究に焦点をあてて進めたことが成功につながっている。

平成 22 年度に開始した本研究からマラリア、トキソプラズマ、ネオスポラの全てにおいて特許申請に至っている点は大きく評価されるべきである。特にネオスポラに関しては NcGRA7 を封入した OML がニュージーランドで特許を取得しており、今後の実用化にも重要なポイントである。

また論文も専門誌に 10 件公表しており、会議発表も 46 件以上と十分な努力を行った。オープンキャンパスでのアウトリーチ活動を積極的に進め、子供達から成人まで幅広く研究成果、また寄生虫疾患について解説を行っている。特に、NEXT プログラムにおける寄生虫関連の 3 つの研究課題で連携し、毎年高校生に体験授業と実習を行った点は非常に優れた試みである。一般人を対象とした教育広報活動については一層の努力が望まれる。また Web ページは継続的な最新化が望まれる。