

受理年月日	受理番号

## 帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成 26 年 5 月 23 日

採択番号	25-共同-8		
研究部門	節足動物衛生工学分野	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	福本 晋也
研究課題名	非感染性ウイルスベクターを用いた新規三日熱マラリアワクチンの開発研究		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	よしだ しげと 吉田 栄人	金沢大学・医薬保健研究域薬学系・教授 研究統括・ワクチン作製・ワクチン効果の評価	
研究分担者	ふくもと しんや 福本 晋也	帯広畜産大学・原虫病研究センター・准教授 感染防御効果の評価(ハマダラ蚊吸血チャレンジ実験)	
	いより みつひろ 伊従 光洋	金沢大学・医薬保健研究域薬学系・特任助教 ワクチン作製・ワクチン作用機序の解析	
	たむら たかひこ 田村 隆彦	金沢大学・医薬保健研究域薬学系・助教 ワクチン作製・ワクチン作用機序の解析	
	みずたに まさのり 水谷 征法	金沢大学・医薬保健研究域薬学系・助教 ワクチン作製・ワクチン作用機序の解析	
研究期間	平成 25 年 4 月 1 日 ~ 平成 26 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	<p>[研究目的] 非感染性ウイルスベクターシステムである Baculovirus Dual Expression System (BDES)は、CMV プロモーターとポリヘドリンプロモーターを連結することによりワクチン抗原をバキュロウイルス表面にディスプレイさせ、さらに哺乳類細胞で発現させることができる新規ワクチンプラットフォームシステムである。我々はこのシステムを用いて、三日熱マラリア(Pv)の各ステージに対応するスペクトルの広い、より効果的なマルチステージワクチンの開発研究を行う。</p> <p>[趣旨]本共同研究で使用する BDES は三日熱マラリアだけでなく、家畜や家禽の原虫病や感染症にも応用可能であるため、帯広畜産大学との本共同研究は動物用ワクチン開発のプロジェクト研究を提案する契機となる。</p>		
研究経過の概要	<p>(1) BDES を用いて三日熱マラリア原虫の感染防御抗原である PvCSP と伝播阻止ワクチン抗原 Pvs25 とを融合発現するように遺伝子導入した 2 価 BDES ワクチン(BDES-Pvs25-PvCSP)を作製し、大量精製を行った。PvCSP には Salvador 株(Sal)と Papua New Guinea 株(PNG)の 2 つの多型が存在するため、抗原として用いた PvCSP はこの 2 多型に対応するようになっている。</p> <p>(2)作製した BDES ワクチン効果を前臨床試験として、マウスモデルで評価するため、ネズミマラリア <i>P. berghei</i> の PbCSP をワクチン抗原である Sal の PvCSP に置換導入した組換え <i>P. berghei</i>{PvCSP(Sal)/Pb}を用いて、感染ハマダラカの吸血によるチャレンジ感染で評価した。</p> <p>(3) PvCSP(Sal)を評価するための組換えパラサイトは既に作製し、これを用いてワクチン評価に使用したが、PvCSP(PNG)の評価を行うため、PvCSP(PNG)/Pb の組換えパラサイトの作製を行った。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>[Pv マラリアワクチンのマウスモデルでの評価]</p> <p>2 価 BDES ワクチン(BDES-Pvs25-PvCSP)の感染防御効果はハマダラカの吸血によるチャレンジ感染で評価した結果、感染防御率は 43%であり、PvCSP 単独のモノステージワクチンの効果を上回った。感染してしまった場合においても感染率の抑制効果が優位にみられ、PvCSP 単独のモノステージワクチンより高い効果があった。</p> <p>伝播阻止効果は Pbs25-28 を Pvs25 遺伝子に置換導入した組換え <i>P. berghei</i> (Pvs25/Pb) を用いて免疫マウスからの直接吸血によるオオシスト形成率で評価した結果、82%の伝播阻止効果を示し、Pvs25 単独のものステージワクチンの効果を上回った。</p> <p>マルチステージワクチン開発は DNA やサブユニットワクチン、あるいはウイルス(アデノウイルスやポックスウイルス)で行われてきているが、免疫干渉によって、その効果が十分発揮されていない。我々が開発した BDES2 価ワクチン (BDES-Pvs25-PvCSP)は免疫干渉を起こさず、感染防御効果と伝播阻止の両効果を持っており、PvCSP 単独、あるいは Pvs25 単独のモノステージワクチンより優れていることが明らかとなった。</p> <p>よって、本研究は感染防御と伝播阻止効果の両効果を持つ三日熱マラリア 2 価ワクチンを作製し、その有効性を遺伝子組換え原虫を用いた <i>in vivo</i> 動物モデルで初めて証明することに成功した。</p> <p>これらの成果は家畜や家禽において、今までのワクチンベクターではできなかった、複数の原虫が感染する重複感染のワクチン開発に応用することができると考えているため、帯広畜産大学との本共同研究は家畜動物用ワクチン開発のプロジェクト研究を提案し、幅広いワクチン開発の契機になることが期待される。</p> <p>また、感染防御抗原である PvCSP には Sal の PvCSP と PNG の PvCSP の 2 つの多型があり、我々はこの多型に対応するようなワクチン作製を行っている。前臨床試験としてマウスモデルでワクチン効果を評価するため、ネズミマラリアの PbCSP を PvCSP(Sal)に置換した、PvCSP(Sal)/Pb は既に作製済みであり、BDES ワクチンの評価に用いているが、ネズミマラリアの PbCSP を PvCSP(PNG)に置換した、PvCSP(PNG)/Pb はまだ作製していなかったため、遺伝子導入組換えパラサイト作製用プラスミドを作製し、PvCSP(PNG)/Pb の作製することができた。今後、ワクチンの改良をおこなうと共に、これらの遺伝子組換えパラサイトを用いて、我々の作製した 2 価ワクチンが Pv の 2 つの多型に対し、感染防御することができるかを評価していきたい。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 帯広畜産大学原虫病研究センター成果報告会「Baculovirus Dual Expression System を用いた三日熱マラリア感染防御-伝播阻止 2 価ワクチンの開発研究」水谷征法、舟津知宏、伊従光洋、AM. Blagborough、福本晋也、RE.Sinden、吉田栄人. 帯広 2013.9.26</li> <li>2. 第 11 回 分子寄生虫・マラリアフォーラム「非感染性ウイルスベクターを用いた三日熱マラリア感染防御-伝播阻止 2 価ワクチンの開発研究」水谷征法、舟津知宏、伊従光洋、AM. Blagborough、福本晋也、RE.Sinden、吉田栄人. 長崎 2013.10.2-3</li> </ol>