

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

令和3年5月30日

採択番号	2020-共同-7		
研究部門	感染免疫研究部門	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	臨床応用を目指したアデノ随伴ウイルスを用いた熱帯熱マalaria 2 価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	
	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・准教授	
研究分担者	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	
	あべ ゆういち 阿部 優一	金沢大学大学院医薬保健学総合研究科創薬科学専攻・大学院生	
	いたに けい 井谷 慧	金沢大学大学院医薬保健学総合研究科創薬科学専攻・大学院生	
	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	
研究期間	2020年4月1日～2021年3月31日		
目的・趣旨	<p>遺伝子治療用ベクターとしてすでに臨床試験が行われているアデノ随伴ウイルス (AAV) を用いて熱帯熱マalaria 原虫の抗原遺伝子 (Pfs25 および PfCSP) を導入した組換え AAV を作製し、感染防御効果と伝搬阻止効果の両者を誘導可能なマalaria ワクチンを開発することを目的とした。</p> <p>マウスモデルによりマalaria 伝搬阻止実験を行い、ワクチンにより伝播阻止効果を誘導できるか検証することを具体的な目的とした。前年度までの共同研究によって感染防御効果を明らかにした 1 型 AAV (AAV1) ならびに AAV8 に加え、新たに作出した AAV5 を基盤としたワクチンについても評価を行った。</p>		
研究経過の概要	<p>マalaria チャレンジ感染実験</p> <p>開発したプライム・ブースト免疫法を利用し、AAV1 及び AAV5 を基盤としたマalaria ワクチンの感染防御効果を検証した。免疫したマウスに PfCSP 発現型組換え原虫 PfCSP/Pb スポロゾイトによるチャレンジ感染試験を行なった。</p> <p>マalaria 伝搬阻止実験</p> <p>ワクチンを免疫したマウスの血清を原虫病研究センターに持参し蚊への吸血試験を行う予定であったが、COVID-19 の影響を考慮し、金沢大学でマウスに直接蚊を吸血させる伝搬阻止実験 (Direct feeding assay) に変更し検証された。なお、蚊の育成と本実験に関連する実験機器については本共同研究費より拠出した。熱帯熱マalaria 原虫に対する伝搬阻止効果については、英国研究協力者 Dr. Blagborough に血清を送付し、感染者血液を用いた Membrane feeding assay によって検証された。</p>		

<p>研究成果の 概 要</p>	<p>マラリアチャレンジ感染実験の結果</p> <p>AAV1 及び AAV5 を基盤としたマラリアワクチンをマウスに筋肉内接種し PfCSP 発現型組換え原虫 PfCSP/Pb スポロゾイトによるチャレンジ感染試験の結果、いずれのワクチンでも 70%~100%の感染防御効果を示した。</p> <p>抗 PfCSP 抗体価はチャレンジ前(免疫 1 ヶ月後)で、AAV1 免疫群では約 272 万倍、ならびに、AAV5 免疫群では約 236 万倍であり、共に上昇した。</p> <p>マラリア伝搬阻止実験の結果</p> <p>(i) Direct feeding assay: 赤血球期の Pfs25 発現型組換え原虫 PbPfs25DR3 を AAV1 及び AAV5 免疫マウスに感染させた後、直接ハマダラカに吸血させ、蚊にマラリア原虫が伝播するか評価した。対照群に比較した伝播阻止効果は、免疫 1 ヶ月後で AAV1 では 98%以上、AAV5 では 95%以上であり、蚊への伝搬を強力に抑制した。各蚊におけるオオシスト形成数をカウントした結果、いずれの場合でも平均オオシスト数は 99.99%抑制された。抗 Pfs25 抗体価は、AAV1 免疫群では約 72 万倍、AAV5 免疫群では約 46 万倍であった。</p> <p>(ii) Membrane feeding assay: AAV1 ワクチン免疫によって得られた血清(抗 Pfs25 抗体値>平均 100 万倍)を英国に送付し、ブルキナファソの熱帯熱マラリア原虫感染血を用いて伝搬阻止効果を検証した。血清対感染血比の各希釈率(1:5、1:10 及び 1:100)に依存した伝搬阻止効果(100%~88%)が示された。各蚊において形成されたオオシスト数も希釈率に依存して 100%~66%の抑制効果が確認された。</p> <p>展 望</p> <p>AAV を基盤とした熱帯熱マラリア2価ワクチンにおいては、接種された個体を感染から防御できるだけでなく、感染者からハマダラカへの熱帯熱マラリア原虫の伝搬を防げることが立証された。このことから、スポロゾイト期の抗原変異によって感染防御効果が減少した場合でも、感染者から地域住人への伝搬を阻止することが可能と考えられる。本ワクチンの臨床応用に向けた開発研究を継続して行う予定である。</p>
<p>研究成果の 発 表</p>	<p>【原著論文】</p> <p>1. Iyori M., Ogawa R., Emran TB., Tanbo S, Yoshida S. Characterization of the gene expression patterns in the murine liver following intramuscular administration of baculovirus. <i>Gene Expression</i>, vol.20, 2020.</p>