

非構造蛋白質を標的とする デングウイルスワクチン

鹿児島大学 共同獣医学部 共同獣医学科
教授 小原 恭子

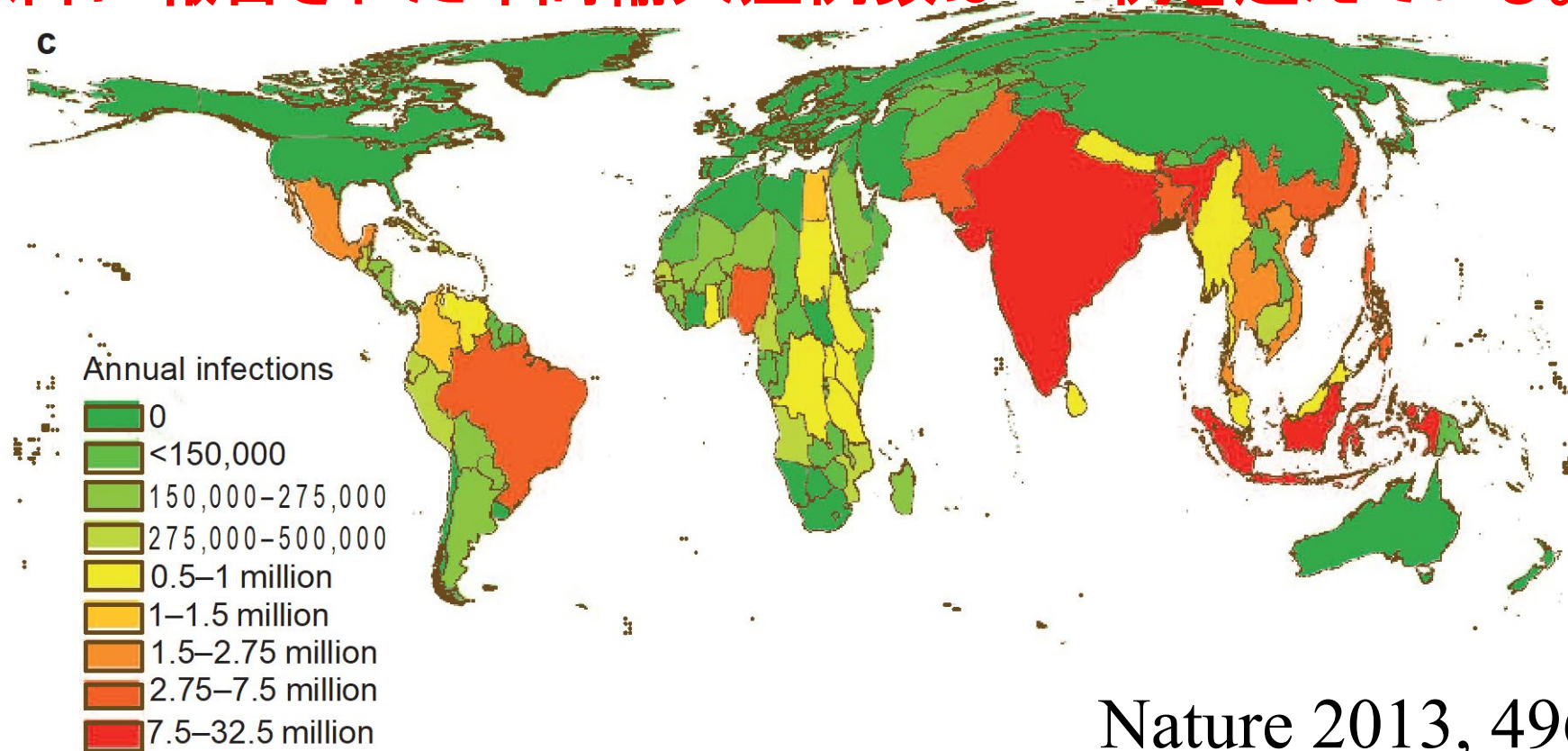
2022年12月6日

従来技術とその問題点

- **デングウイルスは熱帯地域を中心に常在し、世界では年間約4億人が感染し、約1億人がデング熱を発症していると言われている。発症地域は、拡大傾向にあり、中国(広東省)でも大規模な感染(1万人を超える感染者数)が報告されている。日本ではH26年の感染被害は終息したものの、毎年感染常在国から渡航者等を介してウイルスが持ち込まれていることから、国内での感染被害が慢性的に引き起こされる危険性に曝されている。2010年以降に報告された年間輸入症例数は200例を超えている。**
- **現在、臨床に使用可能な治療薬は開発に成功されておらず、対処療法がおこなわれている。一方で、臨床治験が進められているデングワクチンが数例報告されている。その中で最も進んでいるワクチンは、サノフィパスツール社が開発を進めている4価デング・黄熱キメラワクチン(CYD)であり、認可・使用まで進んでいる。しかし、2017年11月29日付けで、非感染者にワクチン接種すると発症リスクが高まるといった報告があった。**

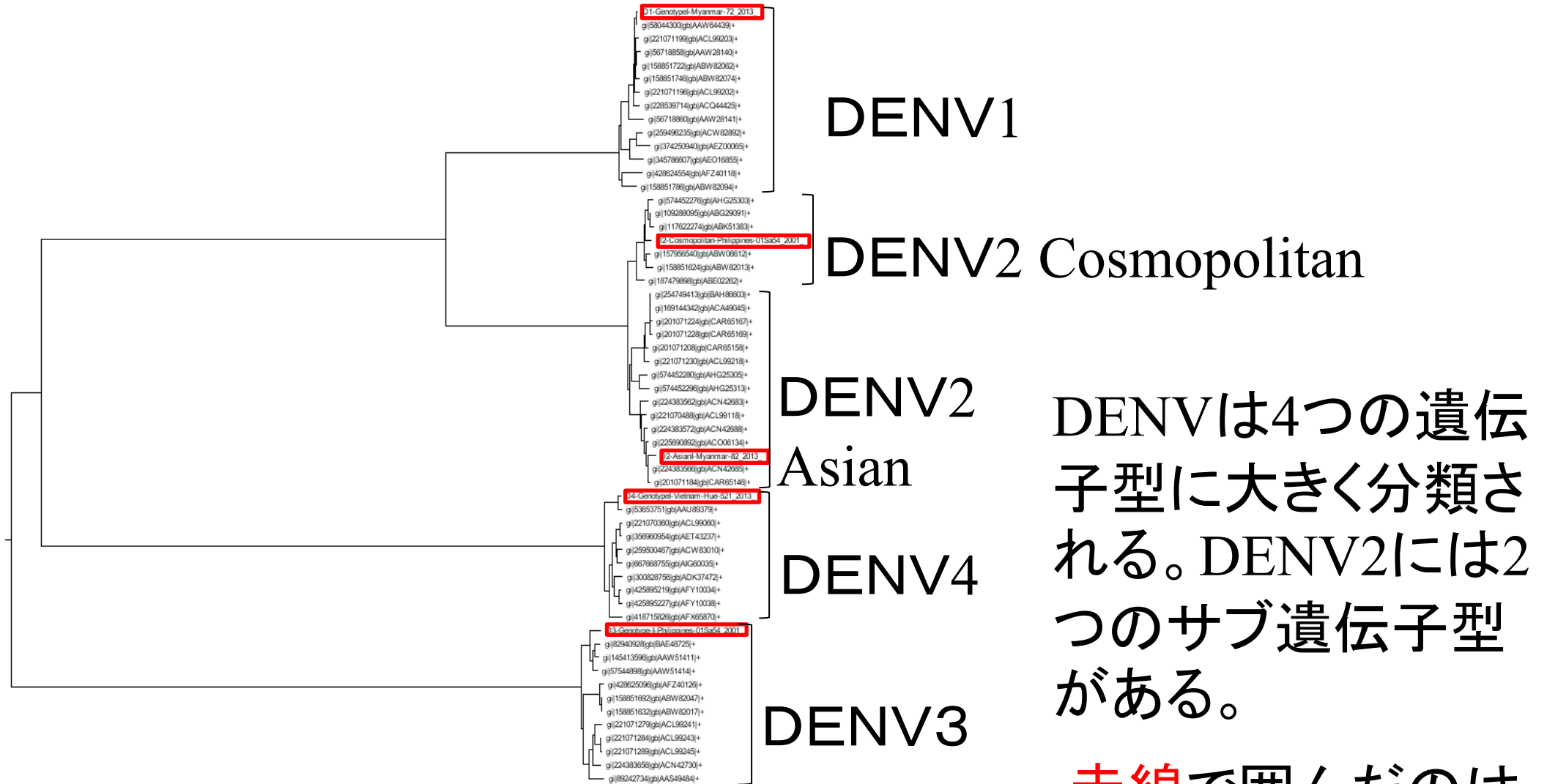
デングウイルス感染の現状

デングウイルスは熱帯地域を中心に常在し、世界では年間約4億人が感染し、約1億人がデング熱を発症していると言われている。発症地域は、拡大傾向にあり、中国(広東省)でも大規模な感染(1万人を超える感染者数)が報告されている。日本ではH26年の感染被害は終息したものの、毎年感染常在国から渡航者等を介してウイルスが持ち込まれていることから、国内での感染被害が慢性的に引き起こされる危険性に曝されている。2010年以降に報告された年間輸入症例数は200例を超えている。



Nature 2013, 496:504

デングウイルスの遺伝子型分類



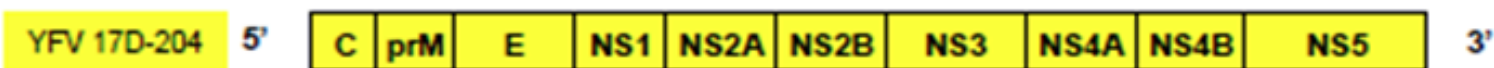
デングウイルス感染とワクチンの現状

現在、臨床に使用可能な治療薬は開発に成功されておらず、対処療法がおこなわれている。一方で、臨床治験が進められているデングワクチンが数例報告されている。その中で最も進んでいるワクチンは、サノフィパスツール社が開発を進めている4価デング・黄熱キメラワクチン(CYD)であり、認可・使用まで進んでいる。しかし、2017年11月29日付けで、非感染者にワクチン接種すると発症リスクが高まるといった報告があった。

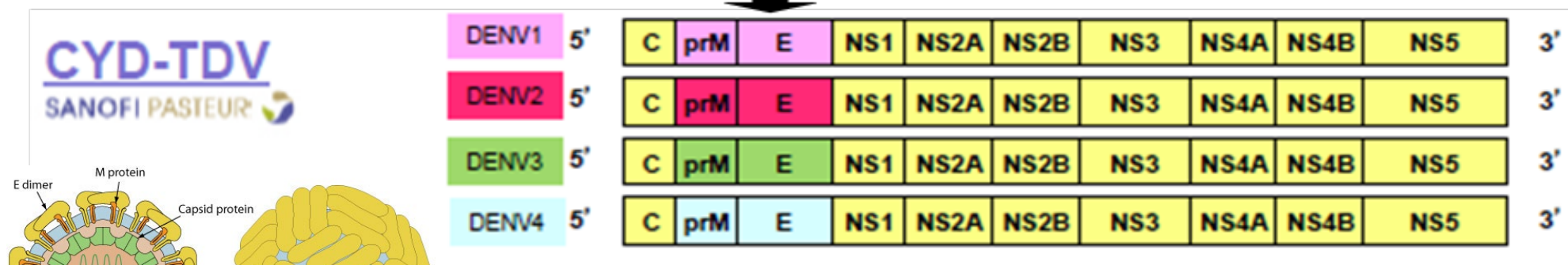
表1 現在臨床開発が進められているデングワクチン

名称	開発者	特徴	現状
CYD	Sanofi	黄熱ワクチンウイルスをバックボーンとしたキメラウイルスを用いた4価ワクチン	2015年メキシコ認可
DENVax	Takeda	弱毒2型デングウイルスをバックボーンとしたキメラウイルスを用いた4価ワクチン	インドネシア認可
TV003/TV005	Butantanなど	3'非翻訳領域欠損弱毒ウイルス及びこれをバックボーンとしたキメラウイルスを用いた4価ワクチン	Phase2 実施中
TDEN	WRAIRなど	細胞継代弱毒4価生ワクチン	Phase2 実施中
PIV	WRAIRなど	精製ホルマリン不活化アルミアジュバント添加ワクチン（現在は1型のみ評価中）	Phase1 実施中

サノフィパスツールで開発したデングワクチン



臨床応用されている黄熱病ワクチン(弱毒生ワクチン)の遺伝子の一部(prMとE蛋白質遺伝子)をデングウイルスの遺伝子と置き換える。



4つの血清亜型のデングウイルスに対してそれぞれ遺伝子組換え生ワクチンを作製し、4種ワクチンを混合接種する。(4価ワクチン)

※ デングウイルスと黄熱病ウイルスは、同じフラビウイルス科フラビウイルス属に属しており遺伝子構成が類似している。

最も治験が進んでいるワクチンは、サノフィパスツール社が開発を進めている4価デング・黄熱キメラワクチンであり、フェーズIIIまで進んでいる。しかし、今年報告された治験報告では、4つ存在する血清亜型のうち、3型に対しては78%、4型に対しては75%と良好な有効率を示したものの、1型に対しては50%、2型に対しては35%とその効果が顕著に減弱してしまっている。

The International Society for Vaccines Congress 5-7.10.2017

Biology of antibody-enhanced disease: evidence of increased risk after CYD-TDV vaccination

Dr. Scott B Halstead

Disease enhancement was recognized in 2-5 y.o.

CYD	Age	Vacc	Hosp	Contr	Hosp
14	2 - 5	1636	15	813	1
57	4 - 5	393	5	192	1
		2029	20	1005	2

Relative Risk=5

Hadinegoro et. Al. NEJM 2015

Sanofi updates information on dengue vaccine

- New analysis of long-term Dengvaxia[®] data found differences in vaccine performance based on prior dengue infection -

- Company will ask regulators to update product label to reflect new information -

Paris, France - November 29, 2017 - Sanofi will ask health authorities to update information provided to physicians and patients on its dengue vaccine Dengvaxia[®] in countries where it is approved. The request is based on a new analysis of long-term clinical trial data, which found differences in vaccine performance based on prior dengue infection.

Based on up to six years of clinical data, the new analysis evaluated long-term safety and efficacy of Dengvaxia in people who had been infected with dengue prior to vaccination and those who had not. The analysis confirmed that Dengvaxia provides persistent protective benefit against dengue fever in those who had prior infection. **For those not previously infected by dengue virus, however, the analysis found that in the longer term, more cases of severe disease could occur following vaccination upon a subsequent dengue infection.**

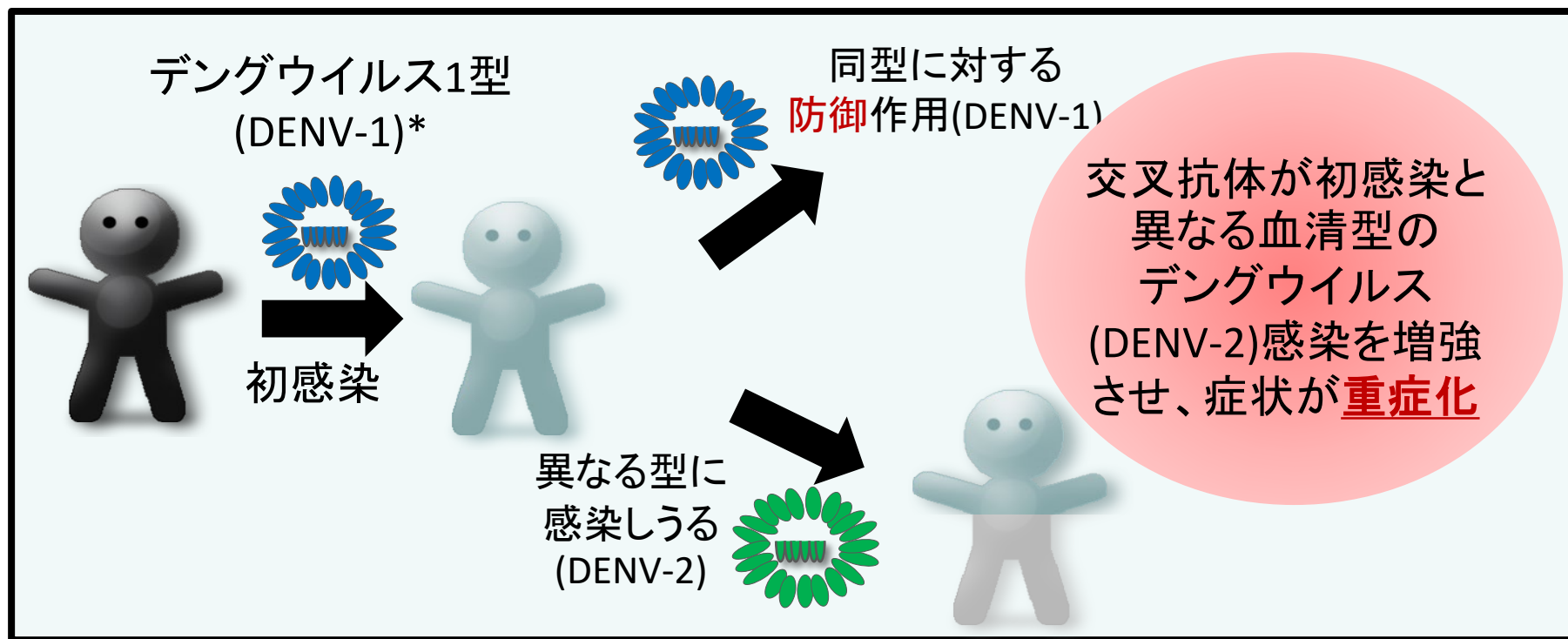


Essential medicines and health products

WHO advises Dengvaxia be used only in people previously infected with dengue.

13 DECEMBER 2017 - Following a consultation of the Global Advisory Committee on Vaccine Safety, the World Health Organization (WHO) finds that the dengue vaccine CYD-TDV, sold under the brand name Dengvaxia, prevents disease in the majority of vaccine recipients but it should not be administered to people who have not previously been infected with dengue virus.

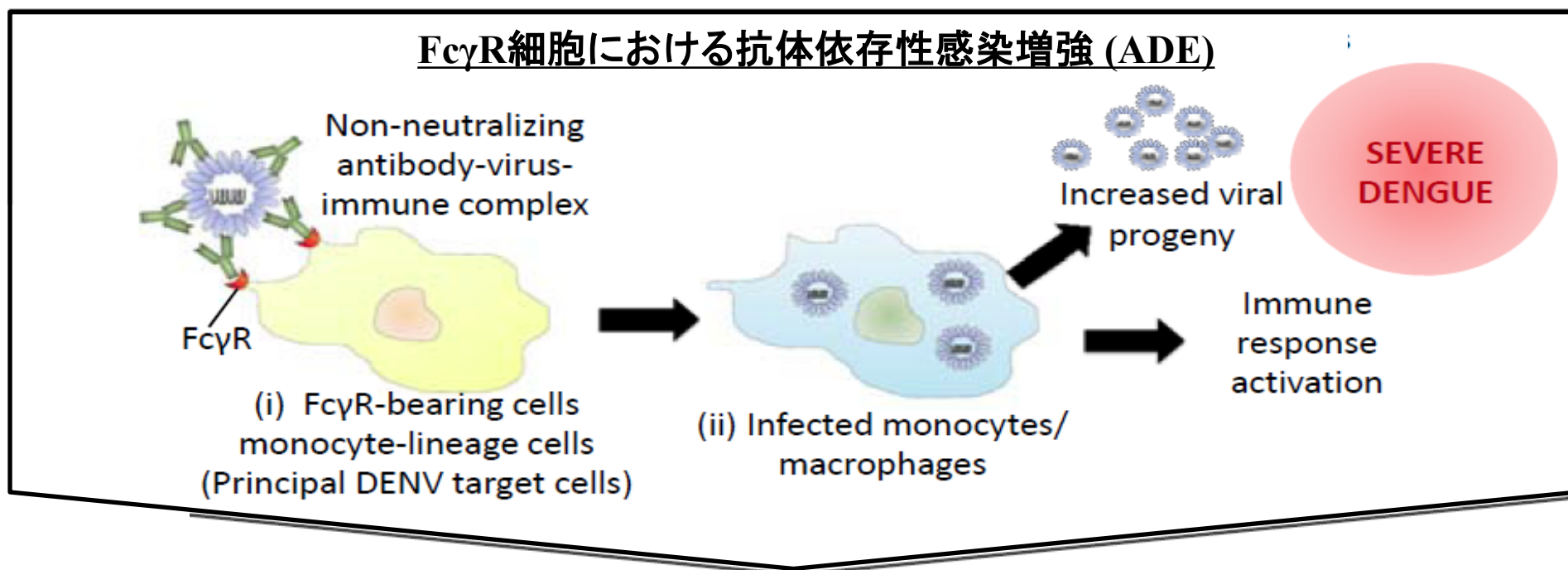
重症化発症メカニズム



1. 病因となるDENVは血清学的に4つの血清型が存在し、いずれもがデング熱・出血熱を引き起こす。防御免疫は中和抗体が主体であると考えられている。
2. デングウイルス感染時に誘導された抗体は、初感染と同血清型の感染に対しては防御的に作用するが、異なる血清型に対しては感染増強活性を有し症状を悪化させる。

抗体依存性感染増強

(Antibody Dependent Enhancement, ADE)



デングウイルスの病態発症機序からの留意点

デングウイルスに感染し、異なる血清型に属するデングウイルスで2回目に感染した場合に、最初のウイルスに対する抗体が、2回目のウイルスの感染を助ける、**antibody-dependent enhancement (ADE)**という現象で異常なウイルス産生が引き起こされ、これが原因となってデング熱・デング出血熱につながる。



これらの病態を誘発しないワクチンが必要



これまで、我々は高病原性鳥インフルエンザ組換えワクシニアワクチン及びデングウイルスと同じフラビウイルス科であるC型肝炎ウイルスに対する治療ワクチンの開発を進めてきた。その研究から、**細胞性免疫**を誘導する**非構造蛋白質発現組換えワクチン**の有効性を示す実験結果を得ている。また、C型肝炎ウイルス予防ワクチンとして持続感染化を防御できる唯一のワクチンとしてHCV組換えワクシニアワクチンが報告されており(Youn et.al. 2008, J.Virol. 82, 10896-), デングワクチンでの防御効果が期待される。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった、ワクチンによる感染増強(ADE)の回避を改良することに成功した。
- 従来はウイルス構造蛋白質を用いたワクチン開発を行っていたが、これを非構造蛋白質に変える事によりADEの回避が可能となった。
- ワクシニアウイルスベクターを用いることにより、細胞性免疫の誘導や持続等が期待される。

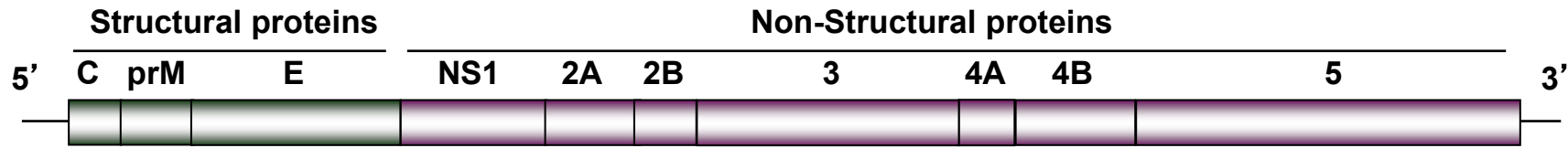
ワクシニアウイルス株母体の組換えワクチンの特徴

作製ワクチン	特徴	留意点
<p>LC16m8株を用いた組換えインフルエンザワクチン</p> <p>rLC16m8/Flu ワクチン</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・日本において開発され、1975年天然痘ワクチンとして厚生省により認可を受け、乳幼児に接種された実績を持つ。現在バイオテロに対する備蓄ワクチンとなっている。 ・個体の接種局所での複製増殖が可能のため、免疫誘導能が高い。 	<ul style="list-style-type: none"> ・接種局所に小さな接種痕が残る。 ・接種箇所でウイルスが増殖するため、免疫不全・免疫抑制患者への投与は注意を要する。
<p>DIs株を用いた組換えインフルエンザワクチン</p> <p>rDIs/Fluワクチン</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・天然痘のワクチンであった大連株(DIE)から1日卵継代法により樹立された宿主域遺伝子欠損体で高度に弱毒化されている。国立予防衛生研究所多賀谷勇博士により開発報告された。(Tagaya et al. Nature 1961, 192, 381-) ・Chick Embryo Fibroblast (CEF) cells でのみ増殖可能。 ・大規模な遺伝子欠失によりマウス、モルモット、ウサギ、ヒトなどほとんどの哺乳動物細胞で増殖ができない。免疫不全・免疫抑制患者に万が一接種されても、安全性が担保される。 	<ul style="list-style-type: none"> ・種痘の副作用軽減の目的で開発されたが弱毒化されすぎて天然痘のワクチンとしては使えなかった。 ・接種痕は残らない。 ・複数回の接種が必要となる可能性がある。

安全性: rDIs/Flu > rLC16m8/Flu

ワクチン効果: rLC16m8/Flu > rDIs/Flu

デングウイルス遺伝子組換えワクシニアウイルスの遺伝子構成



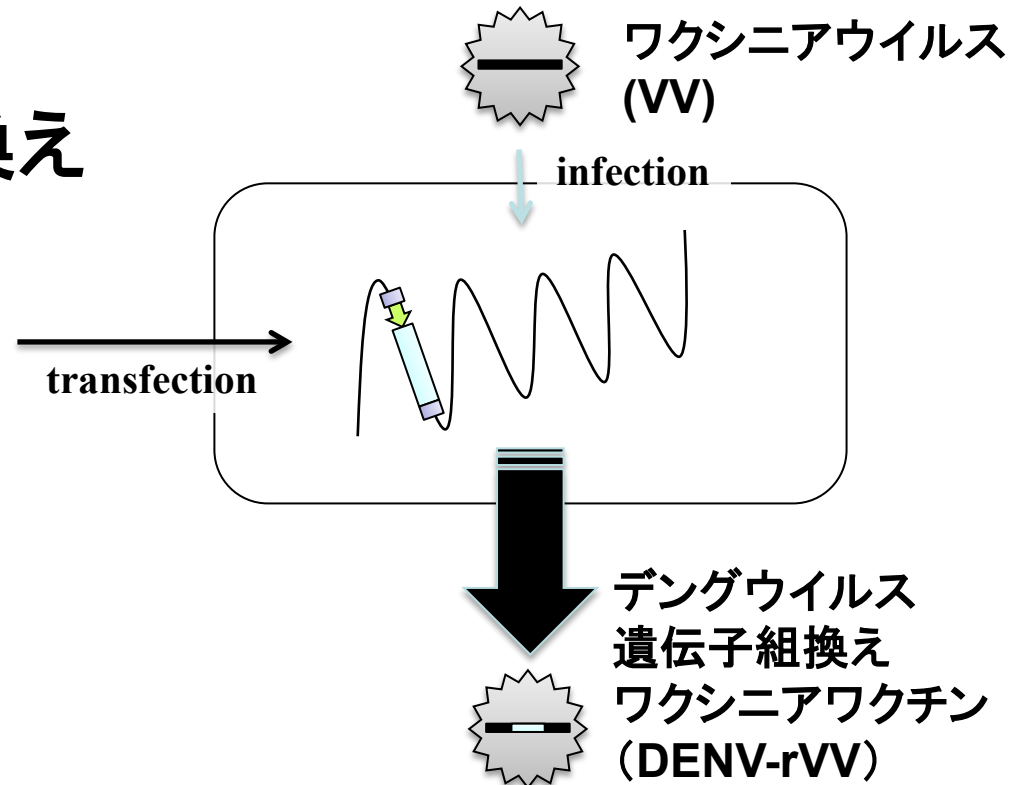
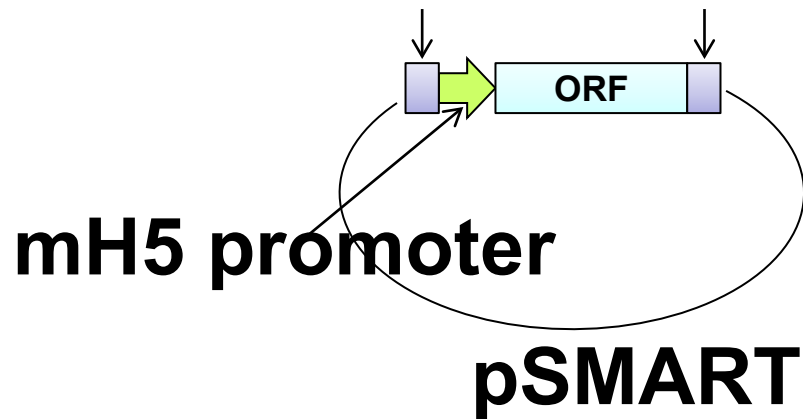
1) NS1 (DENV2C)



2) NS2-5 (DENV2C)

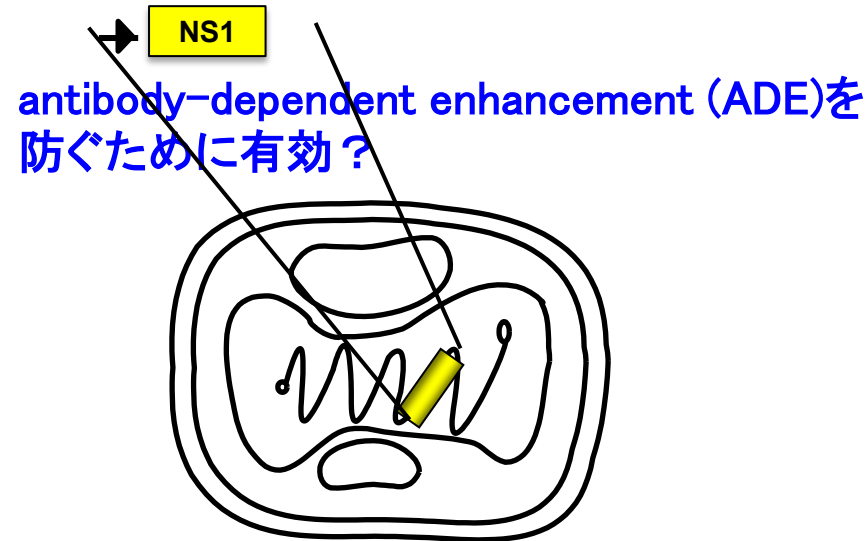


遺伝子相同組み換え

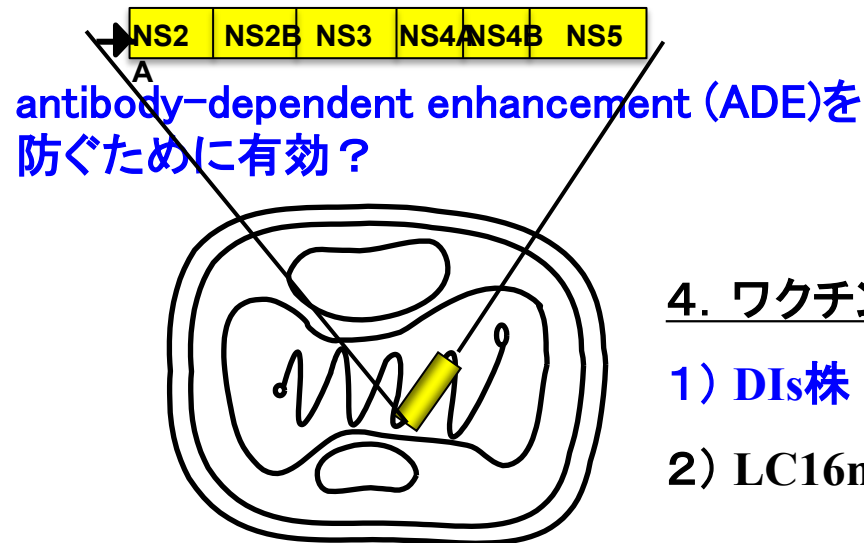


本研究で開発するワクチンの種類

1. 細胞性免疫誘導型組換えワクチン



2. 細胞性免疫誘導型組換えワクチン(rDIs-N25)

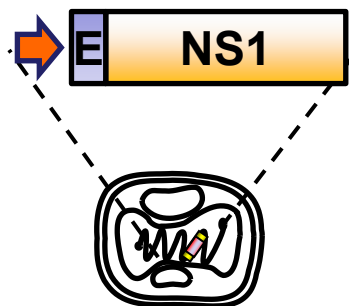


4. ワクチン母体

1) DIs株

2) LC16m8株

rDIs-DENV2C-NS1による抗体産生誘導



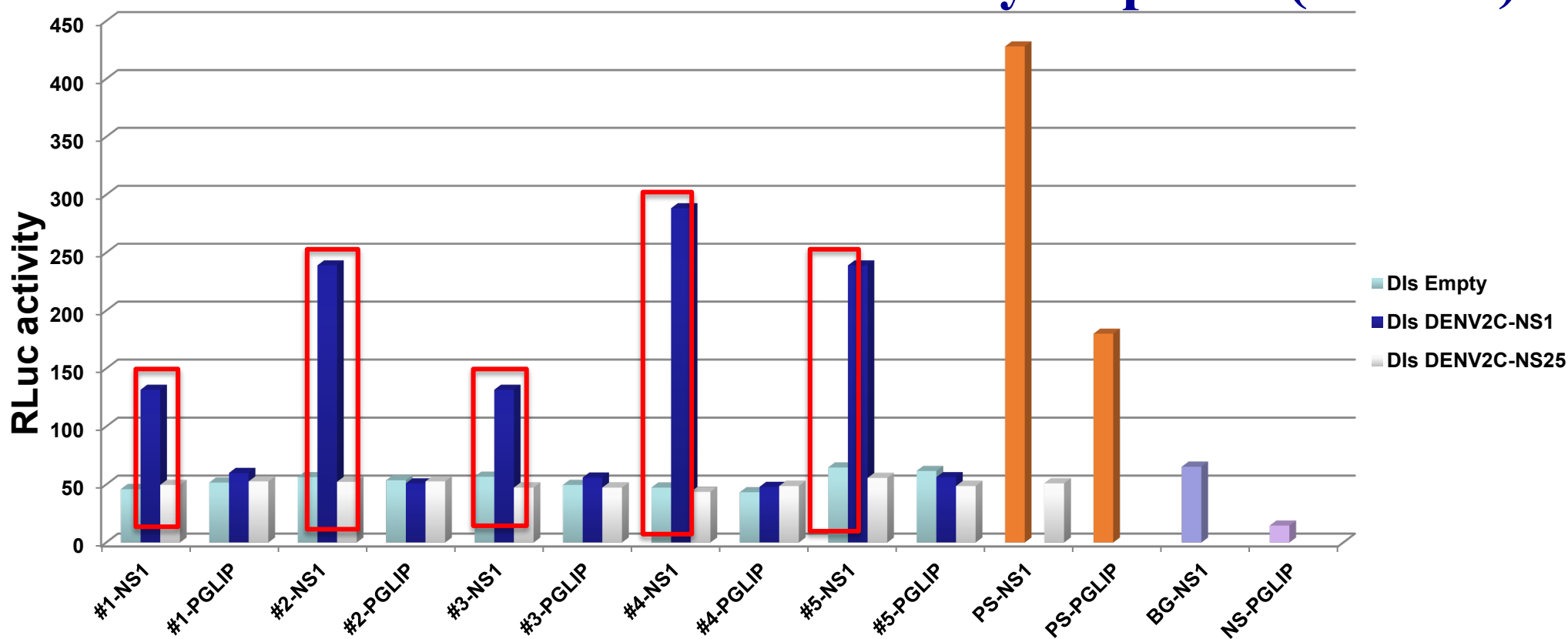
BALB/c mice #1~5



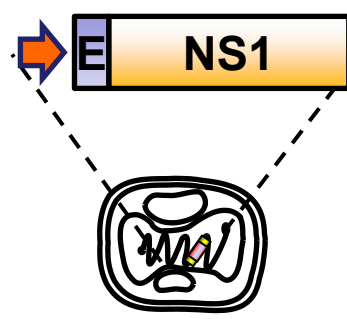
4w boost
5w blood collection

[rDIs-DENV2C-NS1]

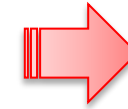
Anti-NS1-GLIP antibody response (Week 5)



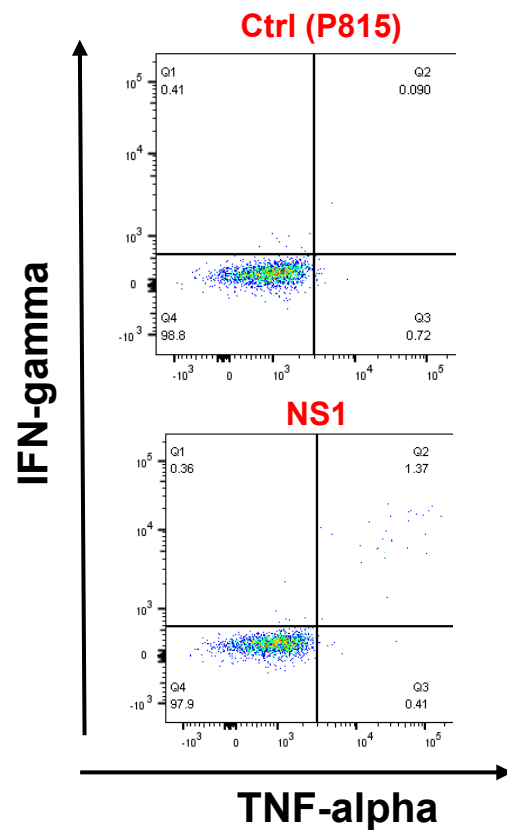
rDIs-DENV2C-NS1-免疫マウスにおける細胞性免疫の誘導



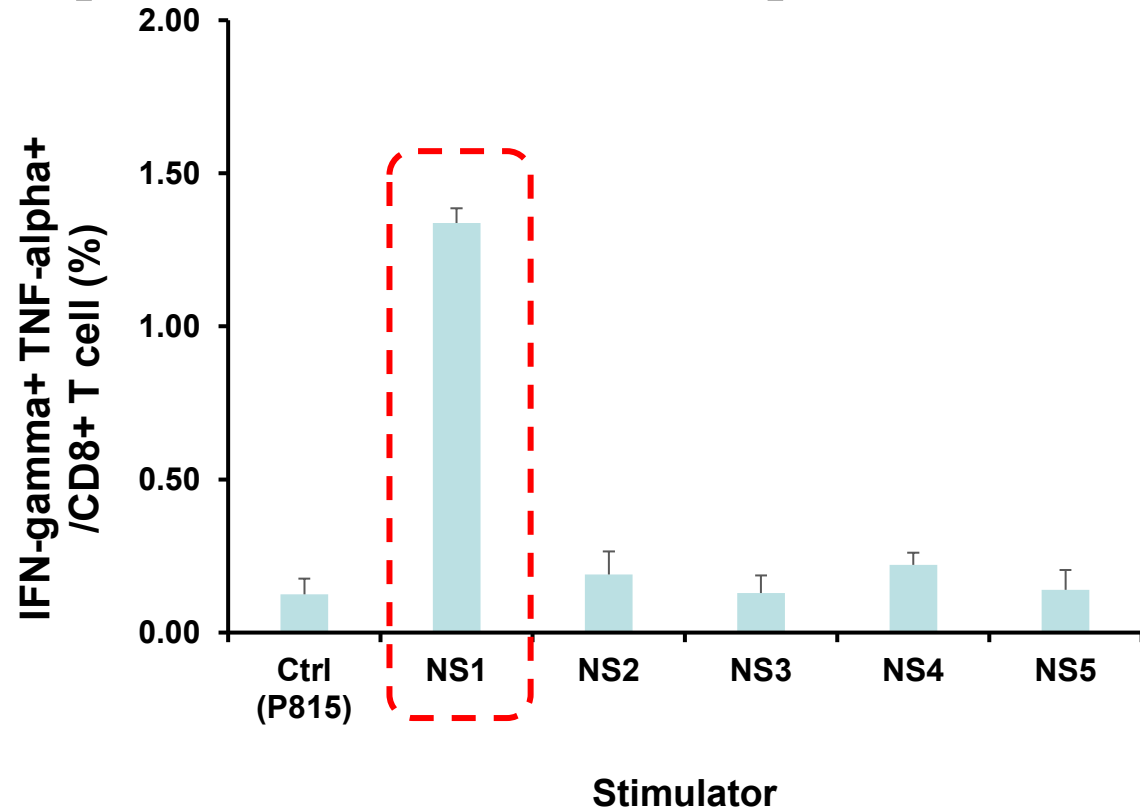
BALB/c mice #1~5



4w boost
5w autopsy



[rDIs-DENV2C-NS1]



Ag 129 マウスを用いたrDIs-N25ワクチン効果の評価

マウス- AG-129 (IFN- α , β , γ receptor knock out mice)

感染ウイルス- DENV-2 (Cosmopolitan)

ウイルス量- 10E4 FFU/mouse (subcutaneous)

ワクチン – rDIs-DENV-2C-N25-GND -10E8 PFU/ mouse (skin scarification)

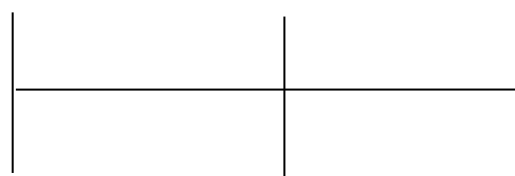
Vaccination (or) MEM
skin scarification



Challenging DENV-2 on vaccinated
and control group



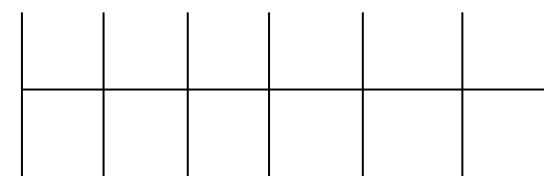
AG-129 mice
(male or
female) 3
weeks old



0 wk 1 wk 2wks
After vaccination



5 week old

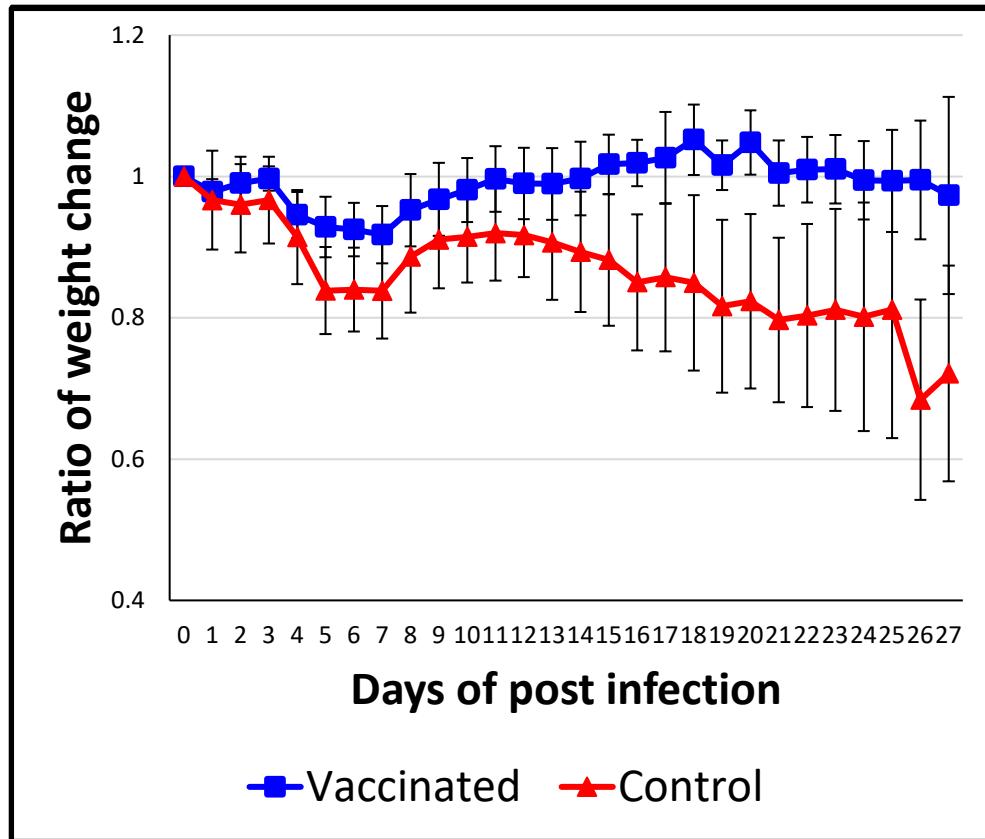


0d 2d 4d 7d 11d 14d 21d
pi, blood extracted

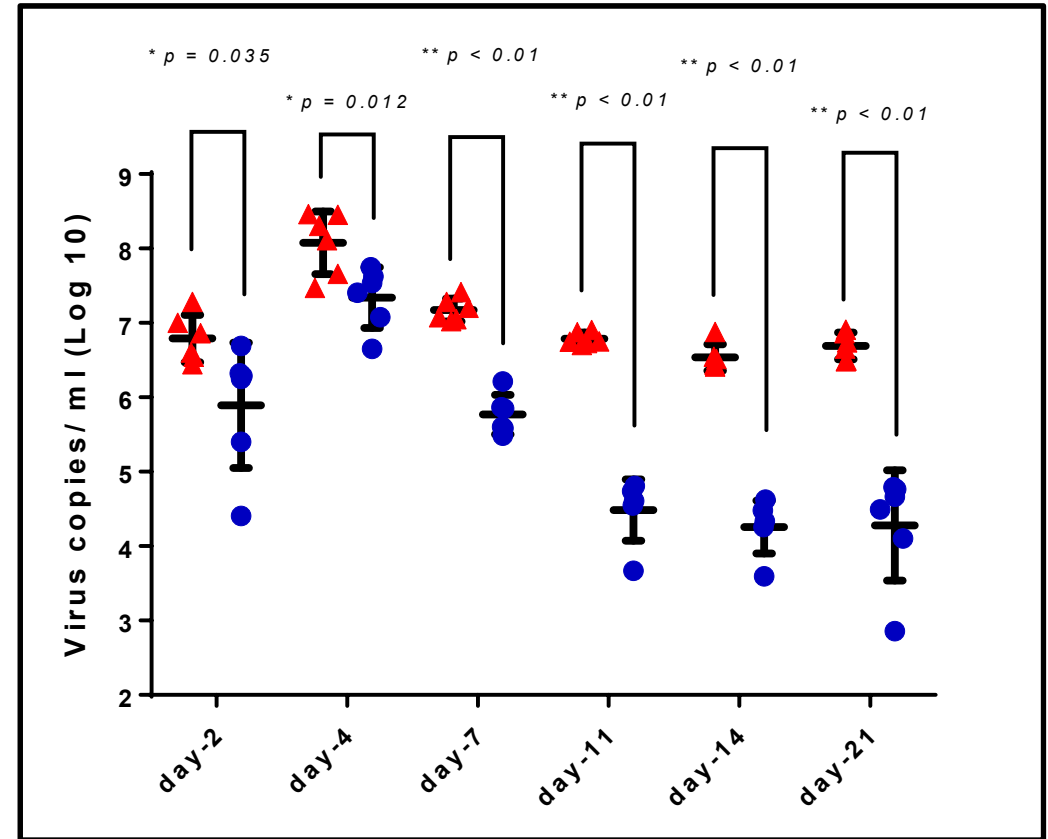
Virus titer was measured by real time RT-PCR.

AG 129 マウスを用いたrDIs-N25の感染防御効果評価

体重変化(DENV感染後)



血中ウイルス量(DENV感染後)



想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、医療分野に適用することで本組換えワクチンのメリットが大きいと考えられる。
- デングウイルスの発症予防効果が得られるのみならず、他のウイルス(サル痘)への予防効果も期待される。

実用化に向けた課題

- 現在、非臨床試験を実施している。しかし、治験を進めるためのパートナー企業が必要である。
- 今後、動物実験での有効性や安全性について実験データを取得し、治験の条件設定を行っていく。
- 実用化に向けて、GMPグレードでの大量生産体制について、CMOとの相談を開始した。

企業への期待

- 治験には、パートナー企業の製剤技術や投与技術が必要と考えている。
- Phase I, IIの治験体制もしくはは経験を持つ企業との共同研究を希望している。
- また、デングワクチンを開発中又は開発に関心のある企業には、本技術の導入を検討いただきたい。

本技術に関する知的財産権

【特許出願情報】

発明の名称: デングウイルスワクチン

出願日: 2020年3月13日 (優先日: 2019年3月14日)

(日本) 出願番号: 特願2020-044530

出願人: 公益財団法人東京都医学総合研究所、国立大学法人鹿児島大学、
国立大学法人長崎大学、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所、
国立感染症研究所長

(外国) 国際出願番号: PCT/JP2020/012569

出願人: 公益財団法人東京都医学総合研究所、国立大学法人鹿児島大学、
国立大学法人長崎大学

※ 米国 (17/438,178)、欧州 (20770940.3)、韓国 (10-2021-7032209)
インドネシア (P00202108571) に移行中

産学連携の経歴

- 2019年- AMED創薬支援推進事業・創薬総合支援事業(創薬ブースター)に採択(事業実施中)
- 共同研究先: 東京都医学総合研究所
国立大学法人 長崎大学
医薬基盤・健康・栄養研究所
国立感染症研究所

お問い合わせ先

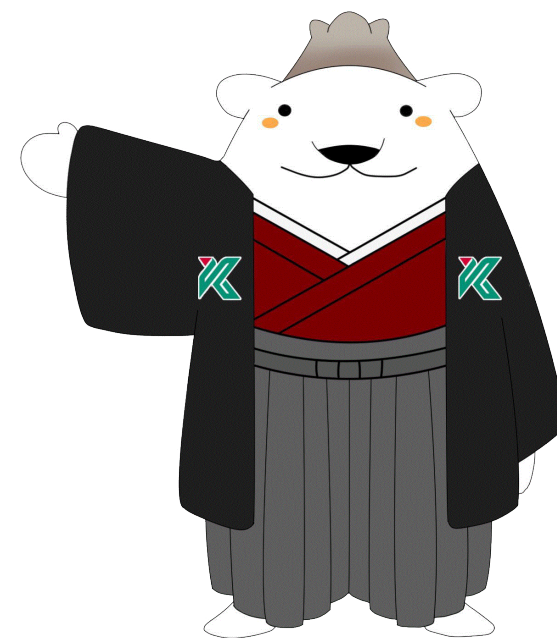
国立大学法人 鹿児島大学
南九州・南西諸島域イノベーションセンター
知的財産・リスクマネジメントユニット

〒890-0065 鹿児島市郡元1-21-40

TEL: 099-285-7043

FAX: 099-285-3886

E-Mail: tizai@kuas.kagoshima-u.ac.jp



鹿児島大学公式マスコットキャラクター

さっし