

BCGの歴史・結核免疫・ 新規結核ワクチン開発の状況

日本ビーシージー製造株式会社

中央研究所

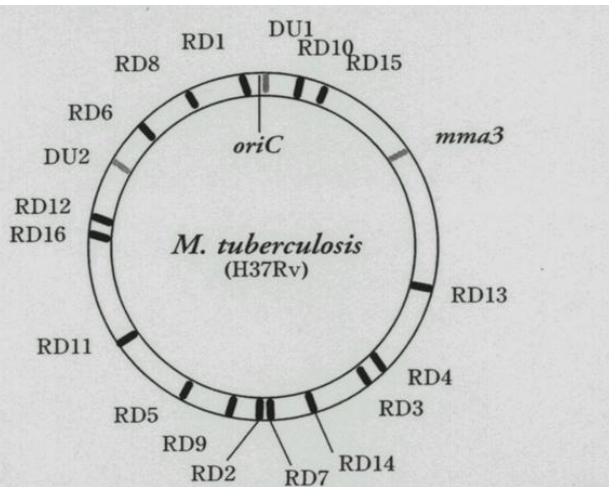
山本三郎

A scanning electron micrograph (SEM) showing numerous rod-shaped bacteria, likely Bacillus Calmette-Guérin (BCG), against a dark background. The bacteria are elongated and some show internal structure. A yellow rectangular box is superimposed in the center, containing the title text. At the bottom, technical SEM data is visible.

BCGワクチンの歴史

T97129 5.0 kV X20.0K 1.50μm

Mycobacterium tuberculosis H37Rvのゲノム

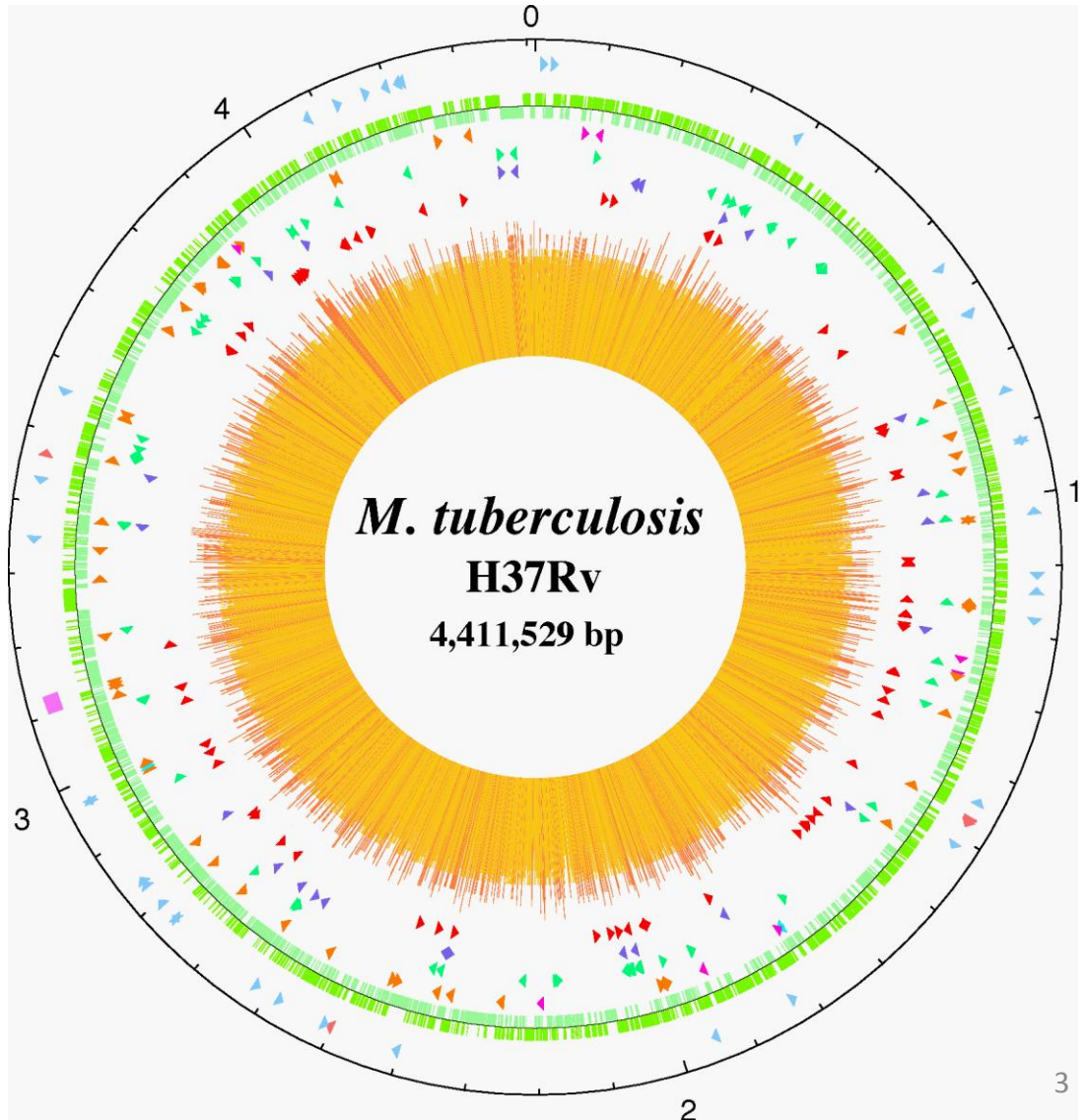


Genome size: 4,411,529 bp

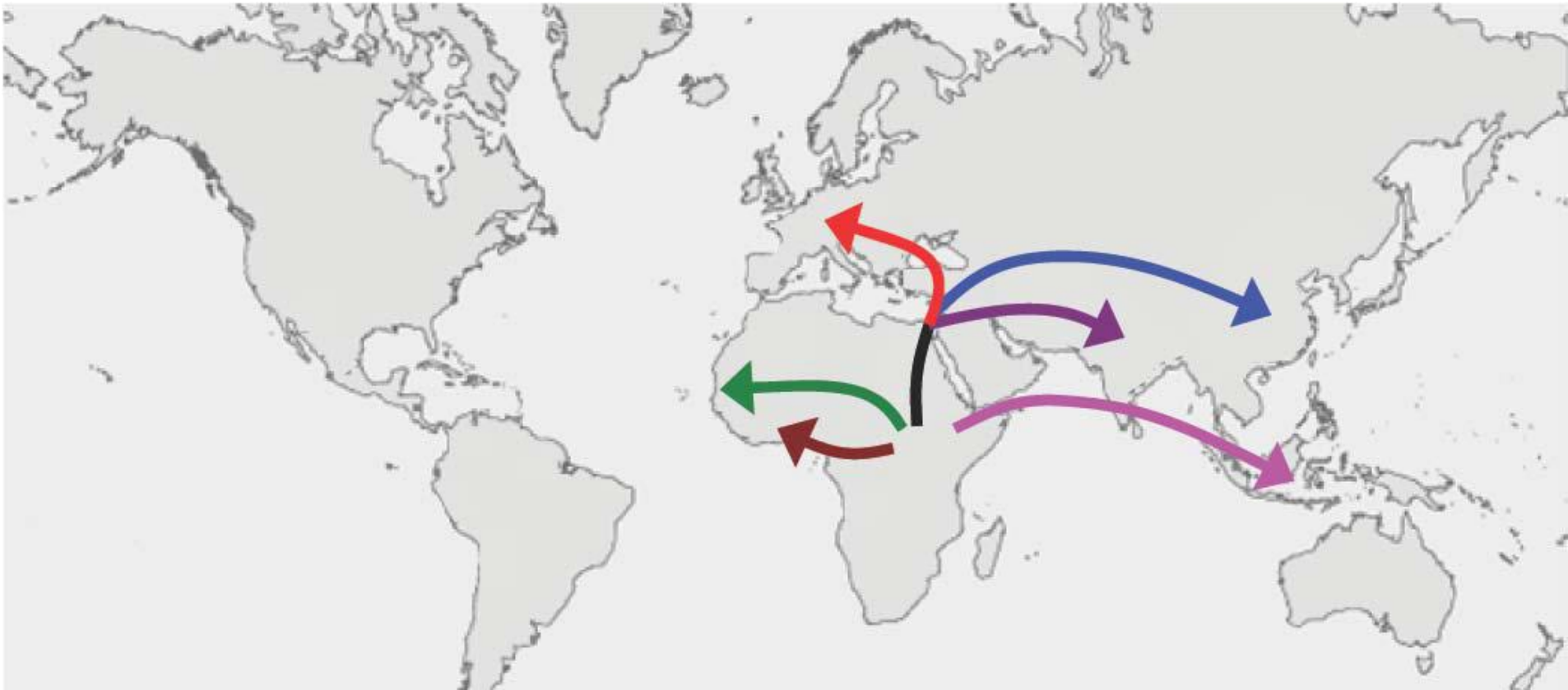
ORFs: 3,959

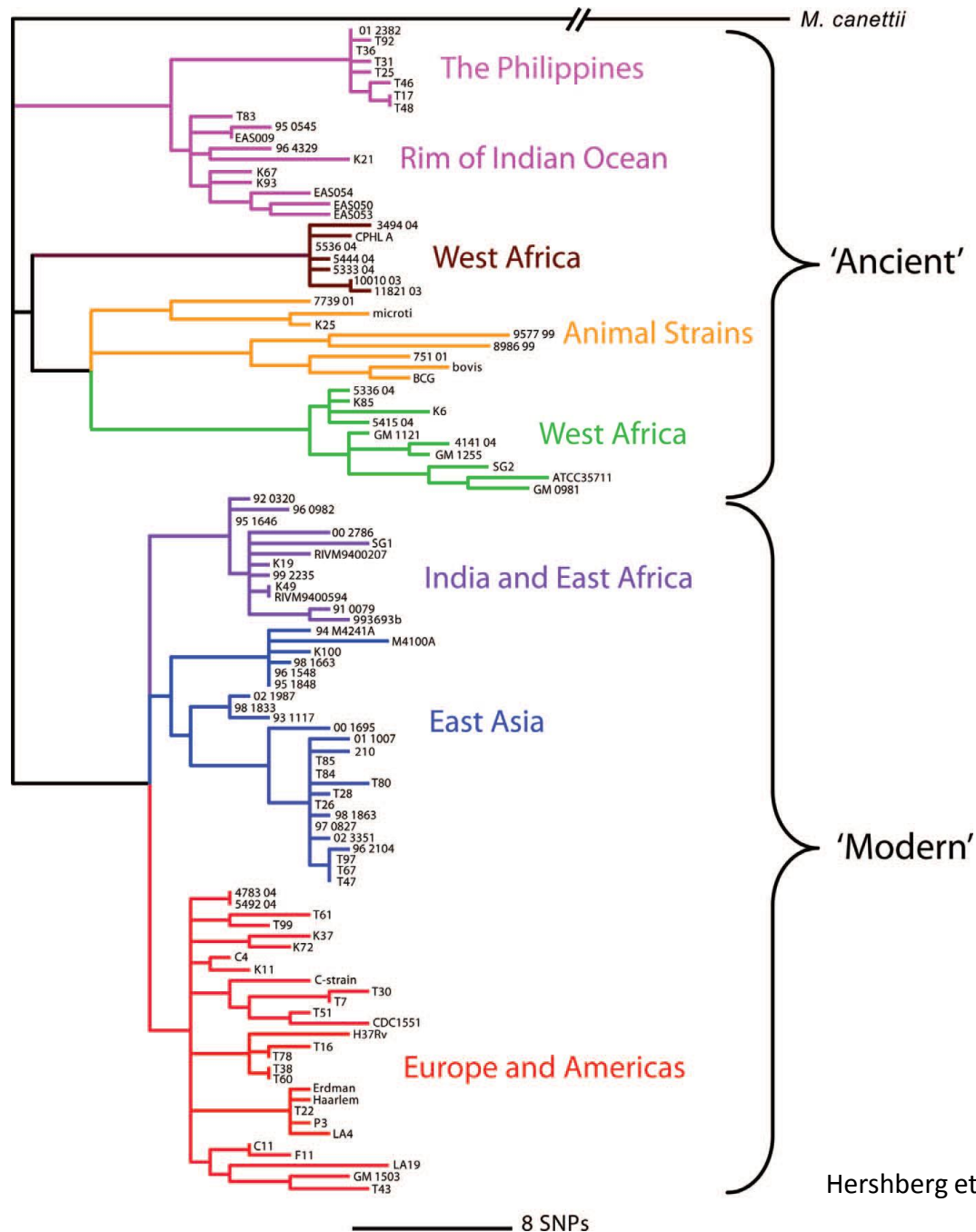
Attributed functions: 2,441

Unknown: 606



結核菌の世界への伝播(約5万年前)





Hershberg et al: Plos Biology 2008, 6 e311

M. canettii

M. tuberculosis complex

ヒト
(東アフリカ)

M. tuberculosis *M. africanum* *M. pinnipedii* *M. microti* *M. bovis*

ヒト

ヒト
(西アフリカ)

アザラシ
アシカ

ハタネズミ
トガリネズミ
小型ネズミ

ウシ
シカ
ヤギ
ヒト
ライオン
ラマ



M. bovis BCG

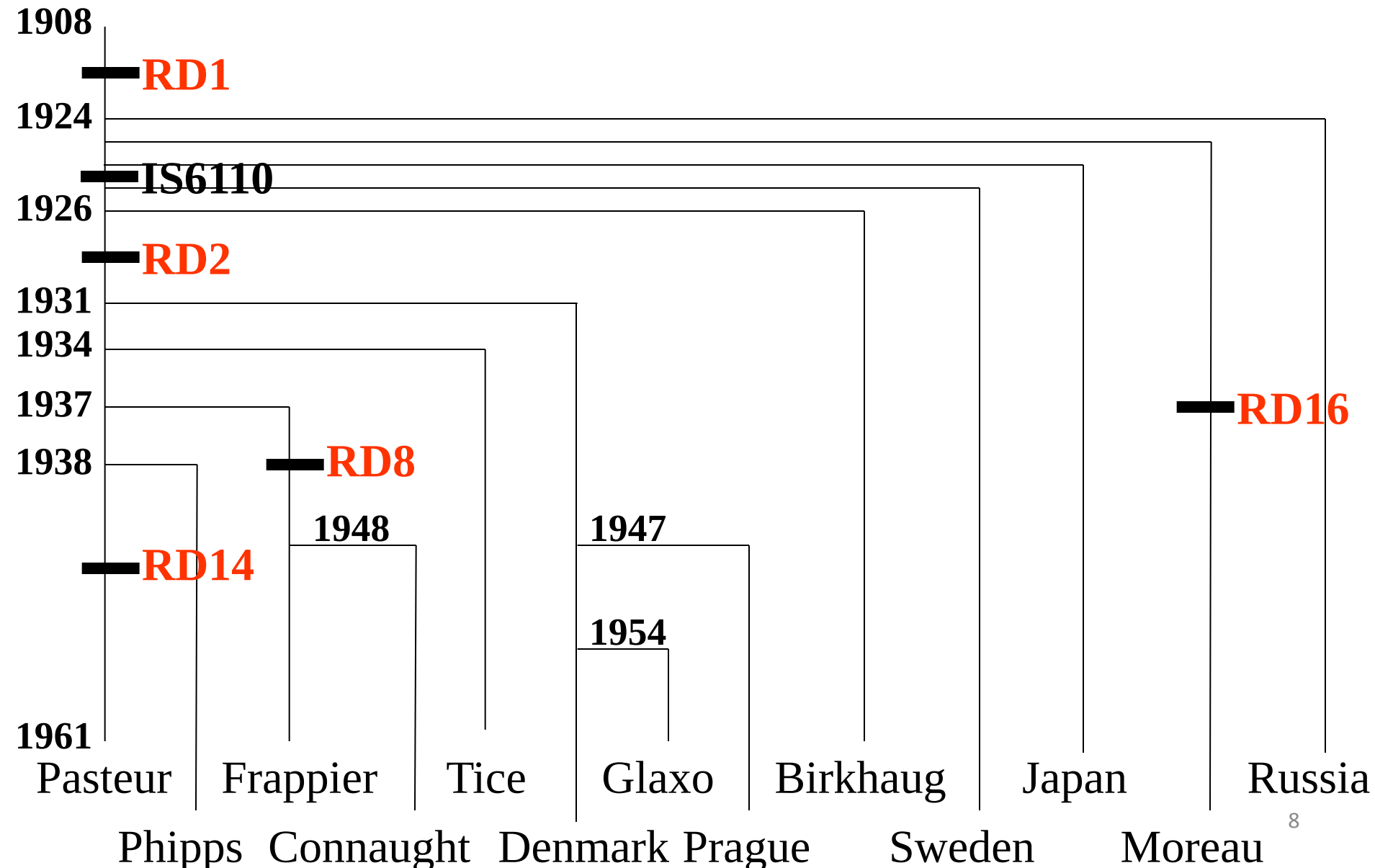
99.9 % DNA sequence similarity
identical 16S rRNA gene sequence

BCG ワクチンの歴史

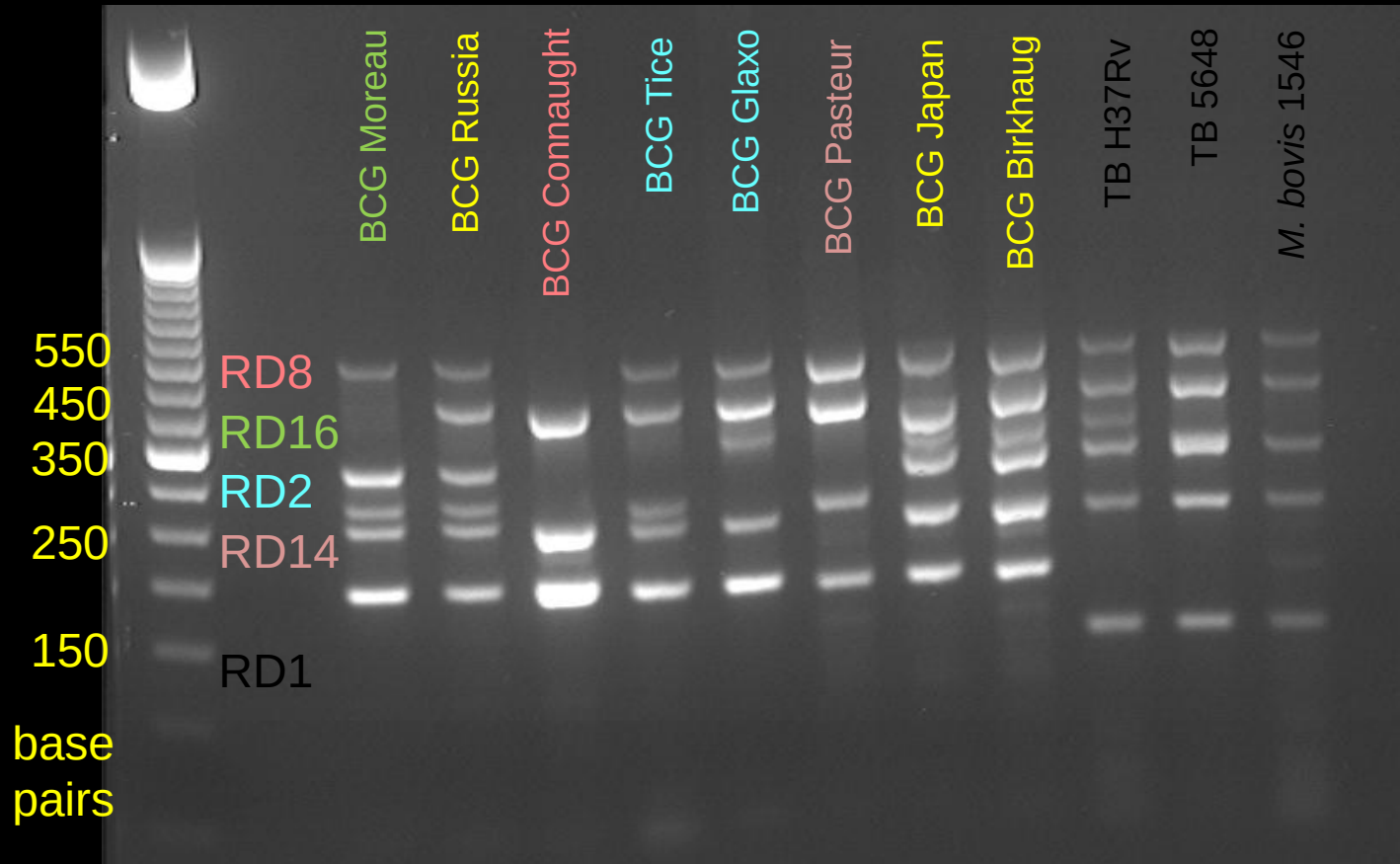
- 1894 カルメットがパスツール研支所をLilleに設立
- 1908 ウシ胆汁加グリセリン馬鈴薯培地で強毒ウシ結核菌の培養開始
- 1921 231代の継代で弱毒化した菌をカルメット・ゲラン菌(BCG)と命名
- 1921 BCGワクチンを新生児に経口投与 (Weill-Halle)
- 1924 志賀潔がカルメットからBCGを分与
- 1941 結核予防会がBCGワクチンの製造を開始
- 1943 学術振興会第8小委員会報告 (BCGの結核予防効果の確認)
- 1948 予防接種法制定 (BCG接種の義務化)
- 1949 凍結乾燥BCGワクチンの製造開始
- 1950 日本BCG研究協議会設立
- 1952 日本ビーシージー製造(株)設立 (BCGワクチン製造を結核予防会から継承)
- 1956 朝日賞受賞 (柳沢謙ら: 凍結乾燥BCGワクチン製造に関する研究)
- 1956 耐熱性ワクチンの開発
- 1960 継代代数172代目の種株 (172株) から最高力価のワクチン作成
- 1964 172株からシードロットTokyo 172の調製
- 1965 Tokyo 172がWHOの国際参照品に認定
- 1967 皮内接種法から経皮接種法に切り替え
- 2010 Tokyo172-1がWHOの国際参照試薬に認定

BCG 系統樹

M. bovis



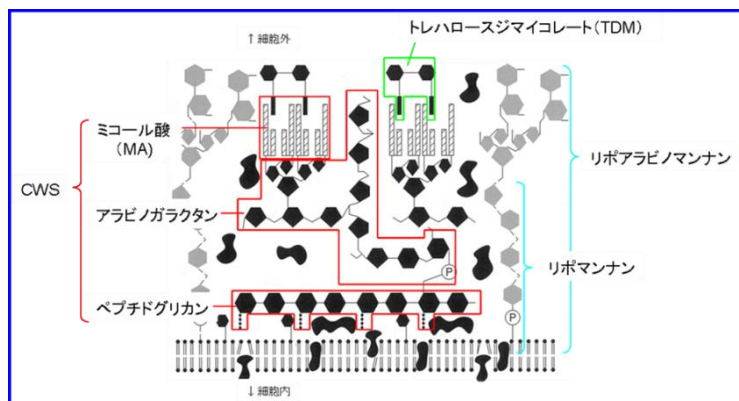
BCG及び結核菌 DNAの マルチプレックスPCR



Bedwell, J. et al.: Vaccine 19, 2146-2151, 2001

結核菌群の細胞壁とミコール酸サブセット

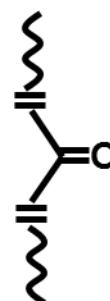
抗酸菌の細胞壁の構造と構成成分



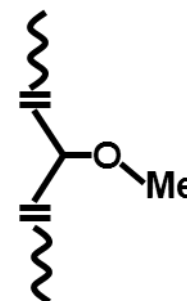
A. alpha-



B. keto-

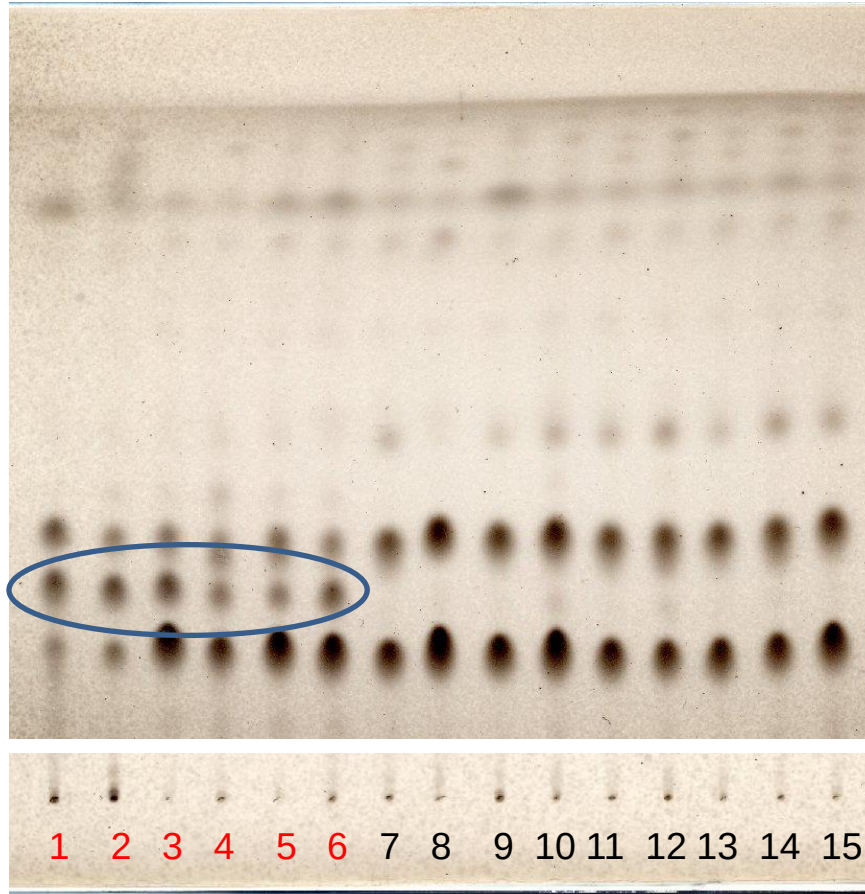


C. methoxy-



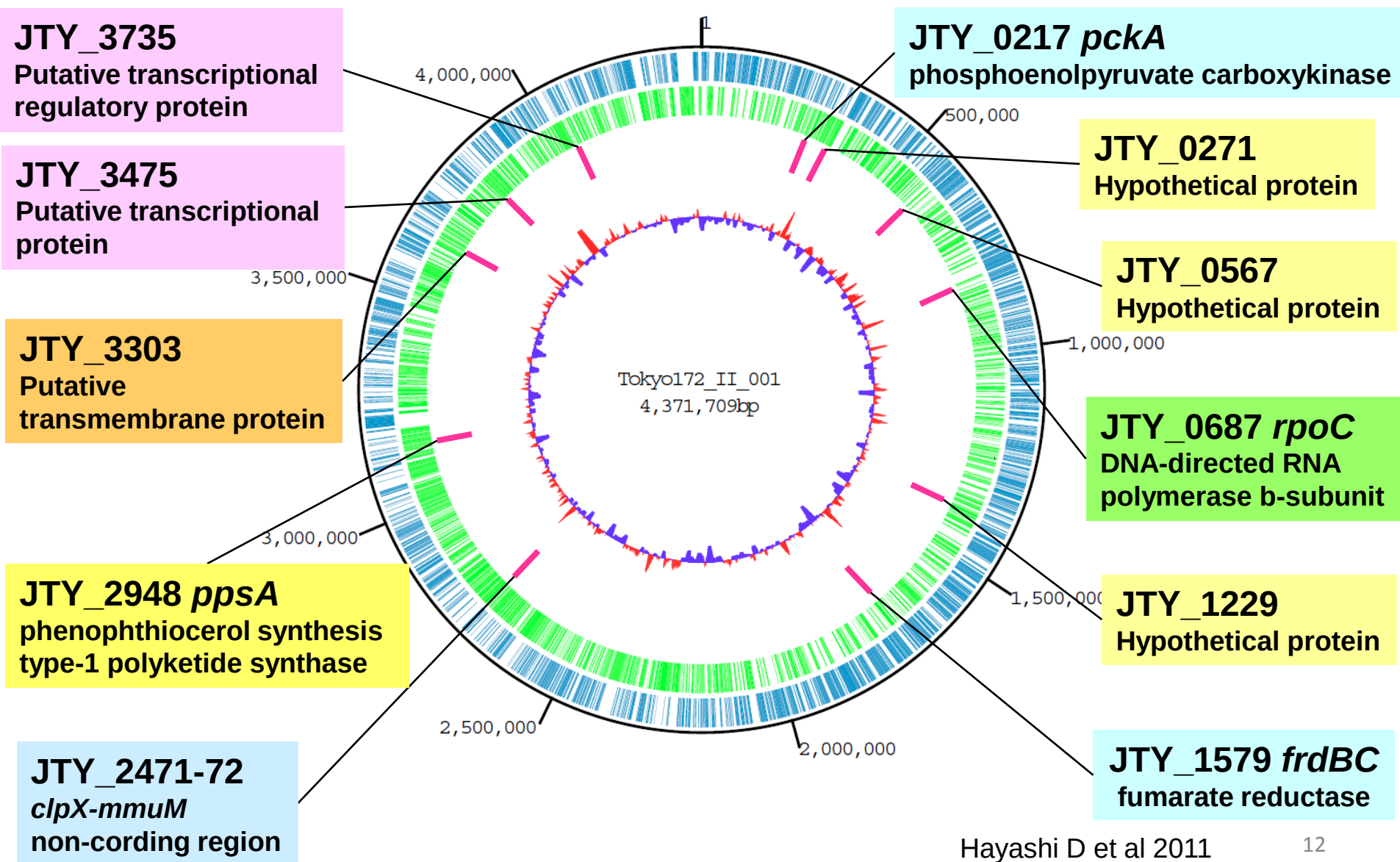
BCG ミコール酸サブセットの 薄層クロマト展開図

α -MA
methoxy-MA
keto-MA



1. *M. tuberculosis* H37Rv
2. *M. bovis* B10
3. *M. bovis* BCG Russia
4. *M. bovis* BCG Moreau
5. *M. bovis* BCG Tokyo
6. *M. bovis* BCG Swedish
7. *M. bovis* BCG Mexican
8. *M. bovis* BCG Glaxo
9. *M. bovis* BCG Danish
10. *M. bovis* BCG Tice
11. *M. bovis* BCG Montreal
12. *M. bovis* BCG Connaught
13. *M. bovis* BCG Phipps
14. *M. bovis* BCG Australian
15. *M. bovis* BCG Pasteur

日本株BCG の全ゲノム配列と機能

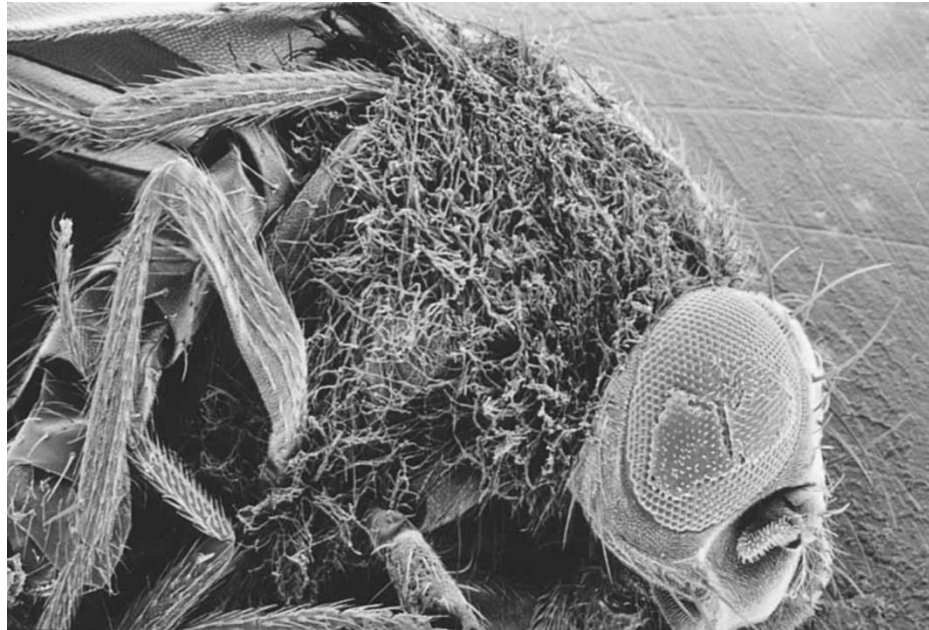




結核の免疫

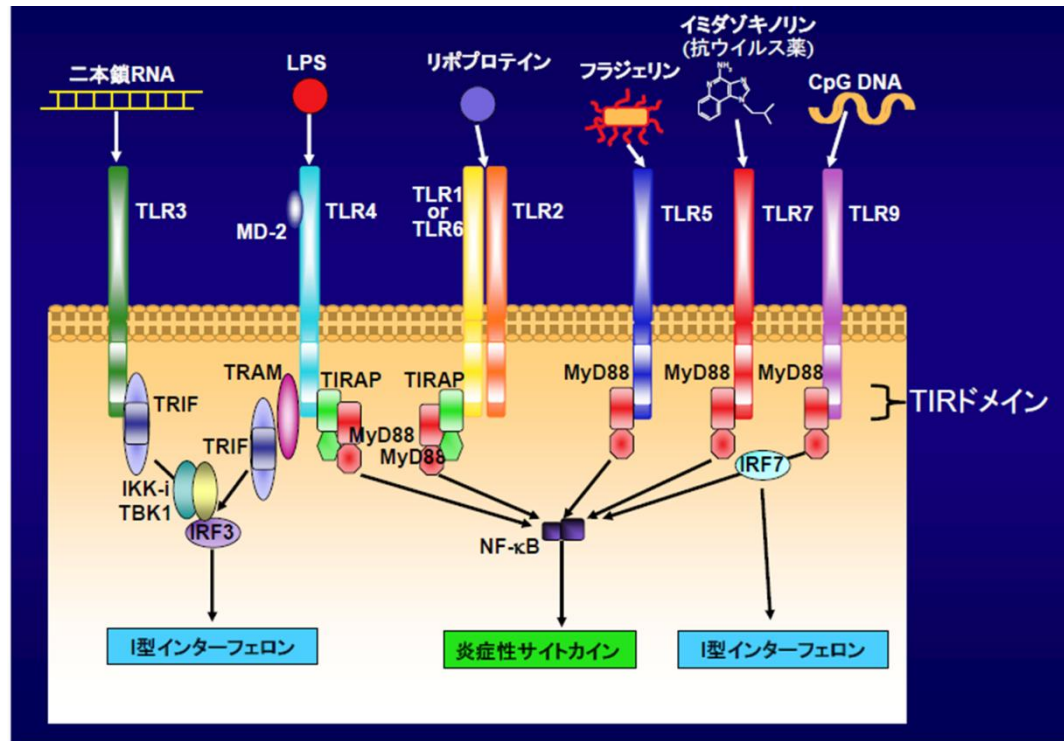
T97129 5.0 kV X20.0K 1.50μm

ノーベル医学生理学賞2011 (1)



ホフマン博士(フランス) ショウジョウバエにおいてToll遺伝子が壊れると、カビに対する防御力が下がることを発見した。

ノーベル医学生理学賞2011 (2)



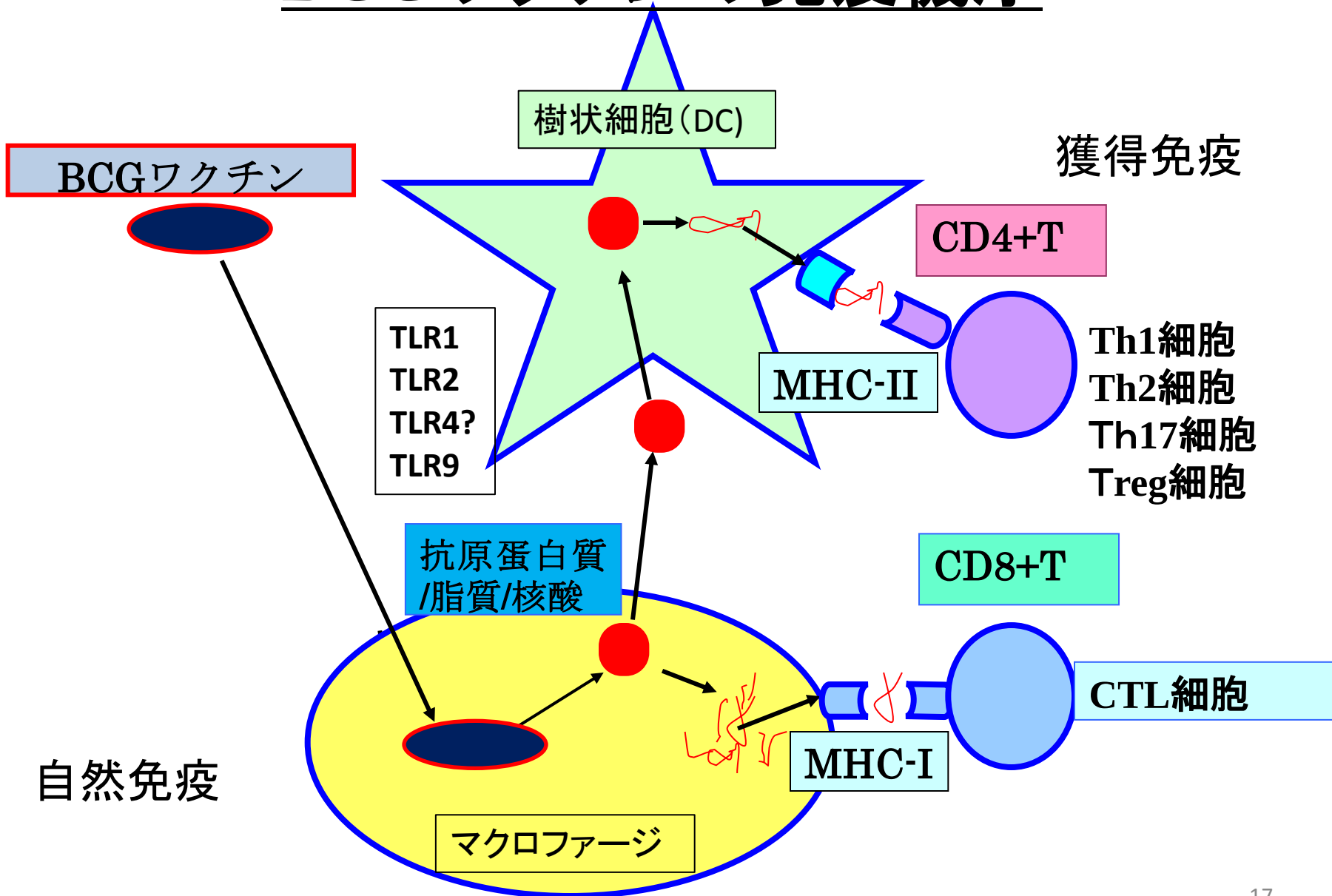
ボイトラー博士(米国) LPS非感受性マウスでは、ショウジョウバエのToll遺伝子に良く似た遺伝子・Toll様受容体4(TLR4)に変異が起きていることを発見し、哺乳動物における自然免疫の解明のさきがけとなった。

ノーベル医学生理学賞2011 (3)



ラルフ・スタインマン博士(カナダ)は、獲得免疫における樹状細胞(dendritic cell:DC)の役割の解明により受賞した。

BCGワクチンの免疫機序



BCGワクチンの作用機序

- 結核菌感染後の初期変化のリンパ血行性進展阻止・・・主として一次結核の発病抑制
- マクロファージ、CD4陽性T細胞、CD8陽性T細胞、 γ/δ T細胞が感染免疫で重要な役割
- 結核菌はマクロファージに取り込まれるが細胞内で生存し続ける
- キラー細胞が感染マクロファージを攻撃し結核菌を殺菌する

BCG免疫モルモットの結核菌感染実験

結核菌噴霧感染: *M. tuberculosis* H37Rv

各種BCG



8 weeks



5 weeks

解剖～脾臓・肺
乳剤培養



3 weeks

残存菌数算定



PPD Skin Reaction of Guinea pigs Immunized with BCG

BCG 10^3 CFU



PPD: 0.2 ug, 0.1 ug, 0.05 ug

lung and tracheal
lymph nodes

nonimmunize



6.6 g (lung)

BCG-Tokyo



4.2 g



新規結核ワクチン開発の状況

T97129 5.0 kV X20 0K 11.50 μm

結核 Tuberculosis

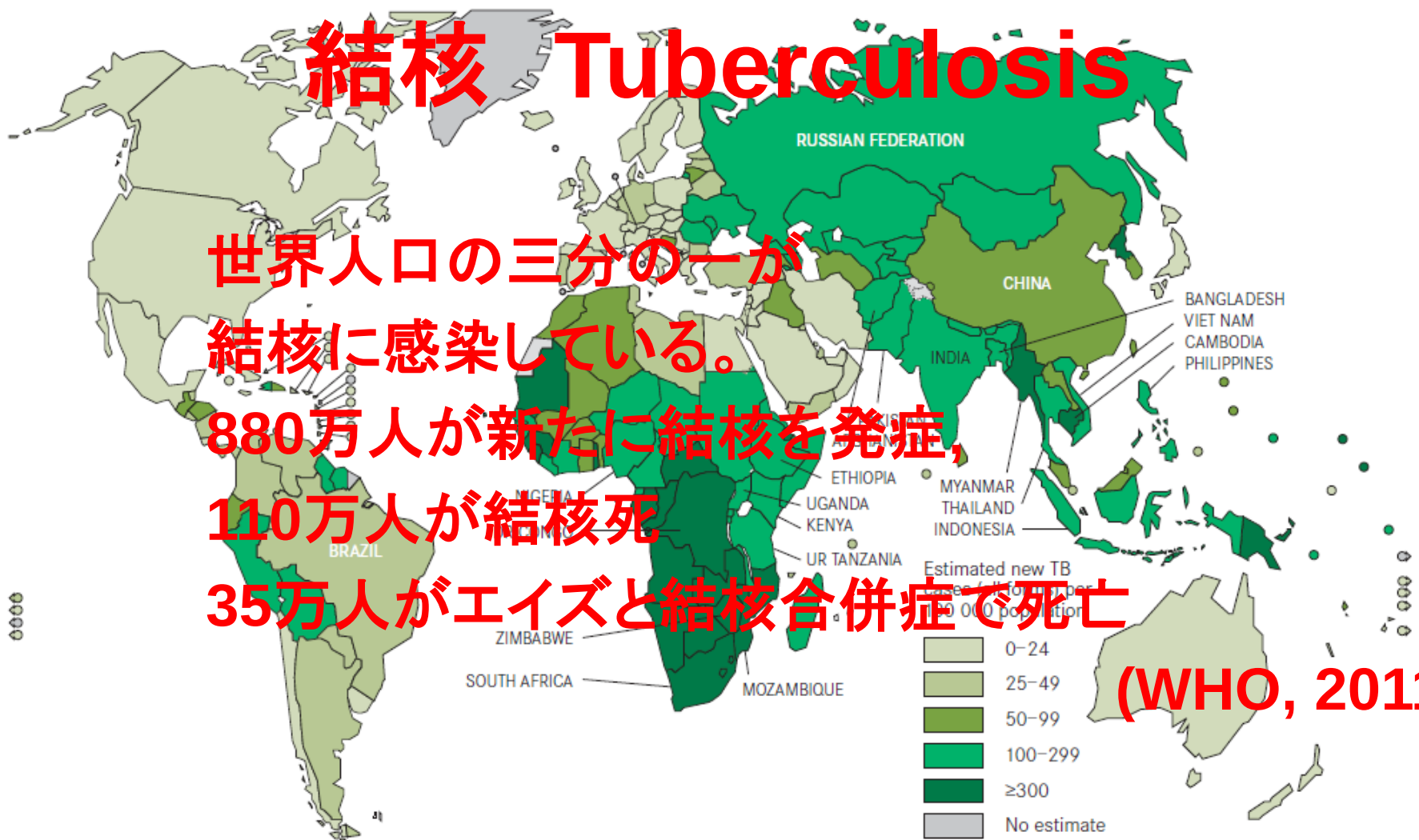
世界人口の三分の一が
結核に感染している。

880万人が新たに結核を発症,

110万人が結核死

35万人がエイズと結核合併症で死亡

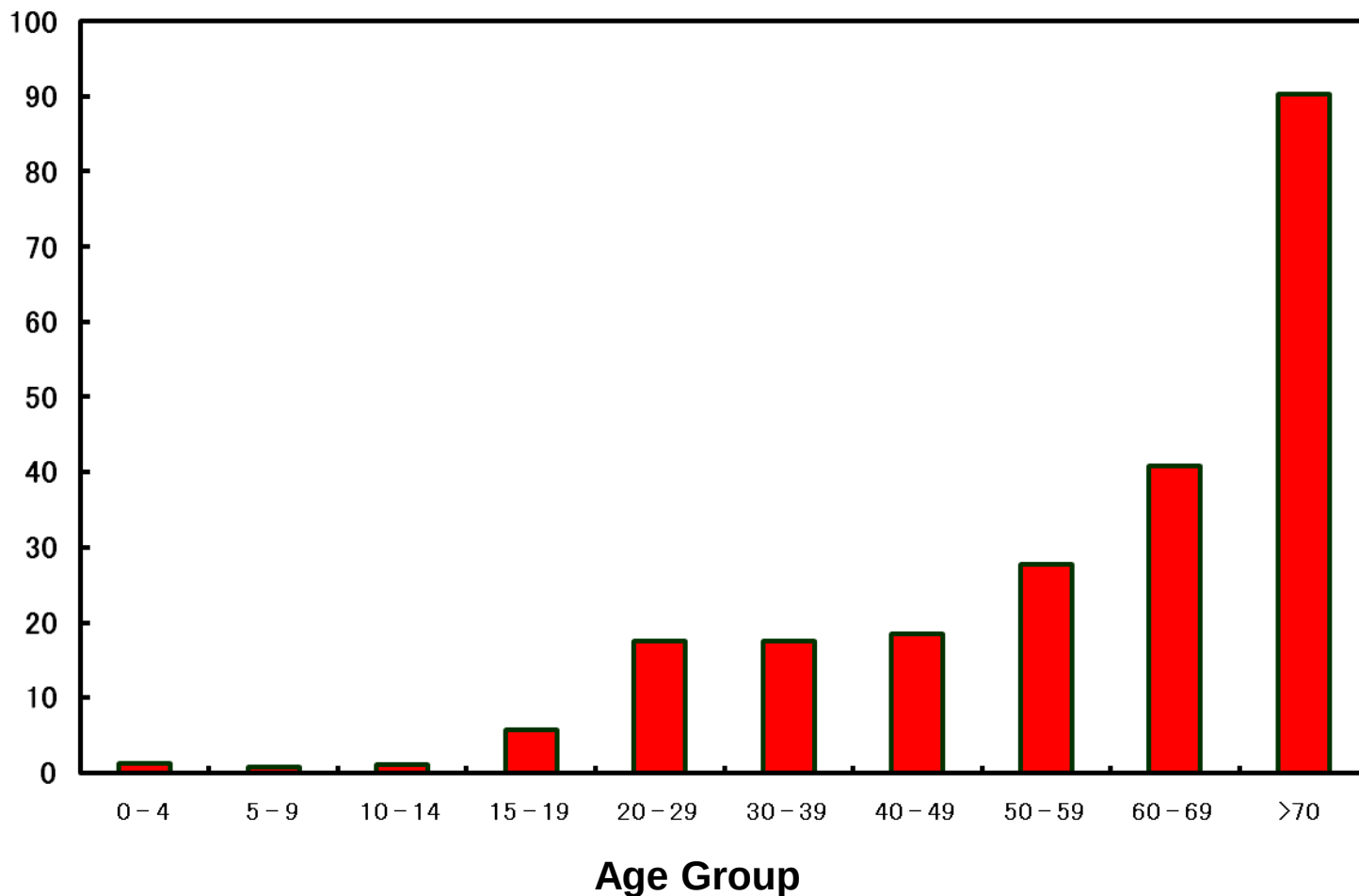
(WHO, 2011)



BCGは

- 小児の重症結核を予防
 - 結核死を抑制
 - 結核感染を抑制
 - 小児の全死亡を抑制
- EPIワクチンの免疫応答を増強
 - ハンセン病を抑制
 - 膀胱がん治療
- (アレルギー性疾患を予防)

年齡階級別結核罹患率(1/10万)



新規結核ワクチンの開発計画

- 1921 BCGワクチンが初めてヒトに投与
- 1993 WHOの結核非常事態宣言
- 1995 WHO 新規結核ワクチン開発会議
- 1998 結核ワクチン国際シンポジウム
- 2005～ ワクチン候補 前臨床試験～臨床試験
- 2015 (新ワクチン上市？)
- 2050 世界の結核発症率 < 10 /100,000 へ

新規結核ワクチン候補

- 組換え BCGワクチン
- 弱毒化結核菌ワクチン
- タンパク質ワクチン
 - DNAワクチン

2 リコンビナントBCG (rBCG)

- BCGに抗原遺伝子を導入＝抗原過剰発現
rBCG30 , rBCG23.5 (Horwitz), BA51など
- 欠損した遺伝子の導入＝ESAT-6など
rBCG::RD1
- サイトカイン遺伝子の導入＝免疫増強
IL-2, IFN- γ , GM-CSF, IL-12, IFN- α 等
- 細胞毒性遺伝子の導入
rBCG Δ Ure:Hly

リコンビナントBCG/弱毒結核菌ワクチン

Type	Products	Description	Sponsor	Status
Rec BCG	VPM 1002	Prague BCG/ $\Delta ure:CHly$	Kaufmann	Phase I
	rBCG30	Tice BCG/Mtb <i>Ag85B</i>	Horwitz	Phase I
	rBCG (403)	Danish BCG/ <i>Ag85A, 85B, TB10.4</i>	AERAS	Phase I
	BCG:: <i>RD1</i>	Pasteur BCG/ $\Delta RD1$	Cole	
	rBCG BA51	Japan BCG/ <i>Ag85 A, 85B, MPB51</i>	Yamamoto	
Liv MTB	MTBVAC01	Mtb 103/ $\Delta phoP, \Delta fad D26$	U Zaragoza	Phase I
	<i>mc</i> ² 6020	Mtb H37Rv/ $\Delta lysA, \Delta panCD, \Delta secA2$	Jacob	Phase I
	<i>mc</i> ² 6030	Mtb H37Rv/ $\Delta panC, \Delta panD, \Delta RD1$	Jacob	Phase I

サブユニットワクチン候補

Type	Products	Description	Sponsor	Status
Subunit	Hybrid-I/IC-31	Fusion of Ag 85B & ESAT-6	SSI, TBVI	Phase IIa
Vaccines	H-I/CAF01	Fusion of Ag 85B & ESAT-6	SSI	Phase I
	Mtb72F	Fusion of Ag Rv1196 & 0125	GSK , AERAS	Phase II
	HyVac 4/IC-31	Fusion of Mtb 85B & TB10.4	SSI, AERAS	Phase I
	Ac2SGL	Diacylated sulfoglycolipid Antigen	Inst Pharmacol	
	HspC TB	Heat shock HspC protein complexes	ImmunoBiology	
	ID83 & ID93	Fusion protein ID83/ID93/GLA-SE	Infec Dis Res Int	
	r30	Ag85B protein from <i>M. smegmatis</i>	UCLA, NIAID	
	R32KDa	rec 85A protein from BCG	Bhagawa Res Ctr	

DNA /ウイルスベクターワクチン

- DNA ワクチンは危険な病原体を扱わず、培養ができない病原体であっても調製が容易
- タンパク精製過程が不要
- 1種類のワクチンに多種類の抗原遺伝子を組み込んだ多剤対応ワクチンが開発可能
- CpGモチーフやサイトカイン遺伝子等のバイオリジカルアジュバントを挿入することが可能

ウイルスベクター・DNAワクチン候補

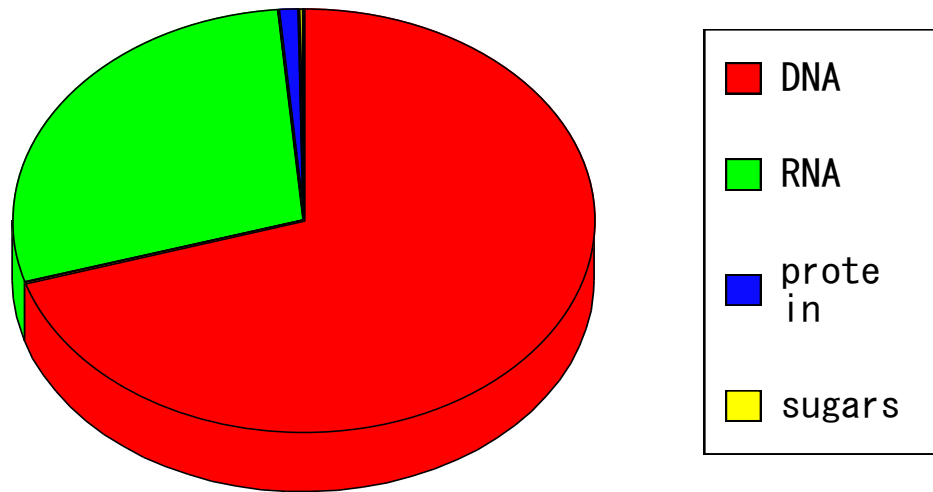
Type	Products	Description	Sponsor	Status
DNA	MVA85A	Modified vaccinia Ankara/ <i>Ag85A</i>	Oxford Univ	Phase IIb
Vaccines	AERAS402	Adenovirus 35/ <i>Ag85A</i> , <i>85B</i> , <i>TB10.4</i>	AERAS	Phase II
	AdAg85A	Adenovirus 5/ <i>Ag85A</i>	McMaster Univ	Phase I
	HVJ/HSP65/IL-12	HVJ /(HSP65 & IL-12)	Okada	
	HSP65/MPB64	CMV/ <i>HSP65/MPB64</i>	Yamamoto	
	AERAS-Capsid	Shigella-rec ds RNA nucleocapsid	AERAS	
	HG856A	ESAT-6/ <i>Ag85A</i> ; <i>Ag85A/Ag85B</i>	Shanghai H&G	
	HG856-Sev	Rec Sendai /ESAT-6/ <i>Ag85A</i> protein	Shanghai H&G	
	Hsp DNA	Heat shock protein from <i>M. leprae</i>	Cardif Univ	
				32

その他の抗結核ワクチン

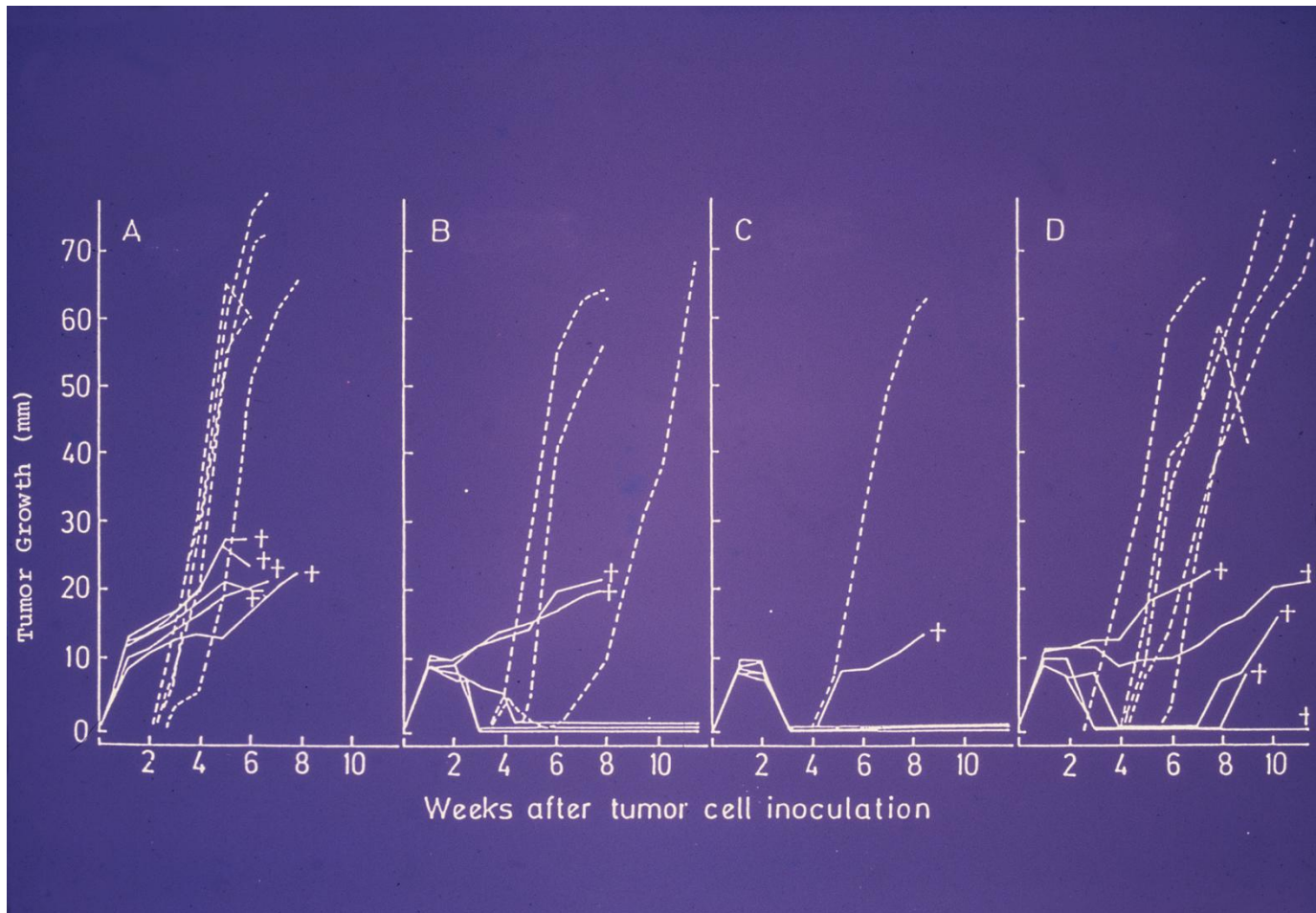
Type	Products	Description	Sponsor	Status
Other	RUTI	Fragmented Mtb cells	Archivel	Phase I
Vaccines	<i>M. vaccae</i>	Inactivated whole non-TB bacilli	NIH	Phase III
	<i>M. smegmatis</i>	Whole cell extract	Wuhan Inst	Phase I
	Liporale-BCG	Danish BCG / lipid adjuvant / oral	Immune Sol	
	NasL3/HtkBCG	Hk Danish BCG/Eurocine L3	Karolinska	
	NasL3/AM85B	Arabinomannan/Ag85B/Eurocine L3	Karolinska	
	TBVax	T cell epitope/DNA prime/peptide boost	EpiVax	
	PS-conjugate	Subunit Mtb polysaccharide/protein	AECM	
	Mycobacterial liposome and proteosome	Lisosomes from <i>M. smegmatis</i> & proteo-liposomes from BCG and <i>M. smegmatis</i>	Finlay Inst Univ Sains Malaysia	

免疫增強性CpG-DNA

Chemical Composition of Nucleic Acid Fraction BCG-DNA (MY-1)



Effect of MY-1 on Line-10 Hepatoma



Therapeutic Effect of BCG-DNA on Malignant Lymphoma



By Dr. Matsunaka, N.

Efficacy of intralesional administration of BCG-DNA against skin cancer

Diseases	Degree of efficacy					Total cases (Response rate %)
	CR	PR	MR	NC	PD	
Malignant melanoma		2	2	1	1	6(33)
Squamous cell carcinoma	2	2	3	1	3	11(36)
Basal cell carcinoma			2	1		3(0)
Mycosis fungoides		1	2	1	1	5(20)
ATL	2	1	1	1	2	7(43)
Other malignant cutaneous lymphomas		2	2		2	6(33)
Paget's disease			1	5		6(0)
Bowen's disease	2	1	1	1		5(60)
Senile keratoma	10	1	2	2	1	16(69)
Other malignant cutaneous tumor		1		1	1	3(33)
Total	16	11	16	14	11	68(38)

共同研究者

日本BCG研究所

関 昌明

林 大介

山本十糸子

矢野郁也

大阪市立大学

松本壮吉

藤原永年

名古屋市立大学

瀧井猛将

国立感染症研究所

芳賀伸治

山崎利雄

山崎 剛

前山順一

岡山大学

大原直也

テキサスA&M大学

David McMurray

Toshiko Yamamoto

Chrisitine McFarland

Susan

ご静聴ありがとうございました

