

◆特集：HPV ワクチン

HPV ワクチンの開発と応用

帝京平成看護短期大学

学長 川 名 尚

はじめに

この度、日本産科婦人科学会の機関誌特集に HPV ワクチンが取り上げられることになった。既に 100 カ国以上で子宮頸がんの予防ワクチンとして HPV ワクチンの接種が行われており、本邦でも近いうちに臨床応用が開始されることが考えられることからこの特集が取り上げられたのであろう。今回の特集で、HPV の基礎的な部分は笹川寿之氏に、HPV ワクチンの我が国の臨床応用については吉川裕之氏が担当することになっており、筆者は HPV ワクチンの開発とそのヒトへの応用について述べることを要請を受けた。ヒトに使用できる HPV ワクチンが開発されるまでには動物における乳頭腫とパピローマウイルスを用いた研究が大きな役割を果たしてきた。

本稿では、この間の経緯と HPV ワクチン開発について概説してみたい。

1. 動物におけるパピローマウイルス研究の歴史

1937 年 Shope はワタノオウサギに発生する乳頭腫から作った抽出液をあらかじめウサギに接種しておくで乳頭腫の原因ウイルスである CRPV(cottontail rabbit papilloma virus)に抵抗性となることを発見した¹⁾。

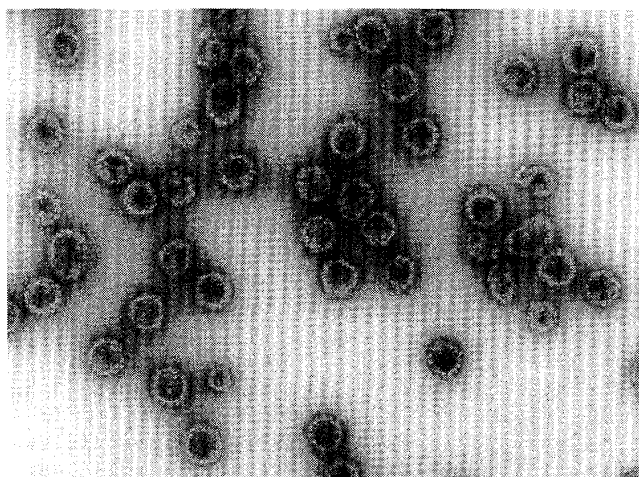
1990 年には Christensen はこれらの機序が中和抗体によることを見出した²⁾。

1960 年 Olson et al.はウシの乳頭腫の抽出物をワクチンとして用いて BPV(Bovine papilloma virus)に対する免疫の誘導について研究したが、その結果は必ずしも一定したものではなかった³⁾。後に Jarett et al.が、このことは BPV には 6 種類の型があり、しかも型特異的でこれらの間には交差がないことを見出した⁴⁾。1990 年にはこのグループは、それぞれの型の精製した BPV から作ったワクチンは型特異的な免疫であることを見出し、この免疫は BPV の構造蛋白のエピトープに対する中和抗体の産生によるものであることを明らかにした。しかも、BPV によってトランスフォームした細胞から作ったワクチンは無効であることも見出している⁵⁾。

ウサギやウシの乳頭腫とその原因である CRPV や BPV を用いたこれらの研究から、a) 乳頭腫の抽出物により免疫すると抵抗性が得られること、b) その機序は構造蛋白のエピトープに対する中和抗体の産生によること、c) BPV には 6 種類ありそれぞれ特異的であり交差はないこと、などが明らかにされた。これらの動物の乳頭腫を用いた研究が後に HPV ワクチンの開発のための基盤となったのである。

2. 組換え型ワクチンの開発

以上のような動物実験によりワクチンの有効性が示唆されたもののパピローマウイルスを増殖させる培養系がなく免疫原を如何にして得る



(国立感染研 神田忠仁氏提供)

写真1 ウイルス様粒子 (VLP)

かが最大の課題であった。しかし、この課題に対してウイルスの蛋白を合成する DNA を単離し、これを細菌や真核細胞を用いてこれらの蛋白を作らせる遺伝工学的手法によって解決されたのであった。既に中和抗体はウイルス粒子の表面にある構造蛋白が抗原となって作られることがわかっていたのでウイルス粒子の表面にある L1 と L2 蛋白質 (L1 が major で L2 が minor なウイルス粒子を構成する) が注目された。1991 年 Jarrett et al. は、BPV1 や BPV2 の L1 蛋白を fusion protein として作りその免疫原性を確認した⁹⁾。1992 年には CRPV の L1 遺伝子を単離しこれをワクチニアウイルスに入れた組換え生ワクチンを作ることに成功した⁷⁾。これらの実験ではいずれも免疫を賦与することに成功し、その結果 L1 と L2 が中和抗体を産生するエピトープであることが判明した。このような研究の進展を可能にしたのはそれまでに行われてきたパピローマウイルス DNA の基本的な構造とその機能の研究があったからであった⁸⁾。かくして遂に現在の HPV ワクチンの免疫原として用いられている Virus Like Particle (VLP) が作られることになる。

3. L1 VLP ワクチンの開発

ヒトのケラチノサイトを用いて HPV-11 や HPV-16 を感染させ培養し、これを免疫欠損マウスに異種移植する実験から HPV の感受性は L1 キャプシド蛋白にあることが明らかとなった。

1995 年 Jansen et al. は CRPV の L1 遺伝子を酵母を用いた組換え技術によって作成したところ、L1 は自己集合し VLP が作られることを見出し、これを用いてワタノオウサギを免疫すると乳頭腫の形成が予防できることを見出した⁹⁾。

1995 年 Suzich et al. は、犬の COPV (canine oral papillomavirus) の L1 蛋白を細胞で作らせたところ、これは自己集合して VLP が作られた。これを犬に免疫することにより乳頭腫の発症が防げることを見出した¹⁰⁾。これらの予防の効果は型特異的、立体的抗体 (conformational antibody) が誘導されることによりウイルスを中和することによることを明らかにした。この立体的抗体は VLP が本物のウイルスの表面の立体的な抗原構造と同じであることから作られたと考えられる。VLP を用いることの意義がここにある。さらにアジュバントを用いることによりその効果が持続することも見出した。

1997 年 Lowe は HPV-11 の VLP をサルに接種することにより血中並びに腔分泌液に中和抗体が出現することを見出した¹¹⁾。

これらのことから、型特異的 HPV-L1-VLP の接種による全身免疫によりもたらされた高い中和抗体が恐らく腔を含んだ性器に抗体が出現することでその型の HPV の感染と疾患を予防できることが明らかになった。HPV-L1-VLP は DNA を欠く中空のウイルス様粒子であり、前述の如く表面は本物の HPV 粒子様の抗原性を示すので立体的な中和抗体を産生するので効率的な中和活性が得られる (写真 1)。

4. ワクチンの作用機序

HPV ワクチンの作用機序は、従来のワクチンが目指す作用機序と異なっている。すなわち、これまでに成功した麻疹、天然痘、ポリオ等のワクチンは全身性感染症を対象にしているが、その機序はワクチンで免疫記憶を与えておく後にそのウイルスに感染した時に病原体が局所で増殖した時点で急速な免疫応答が誘導されるので血液を介して病原体が標的臓器に到達し二次増殖を起こす前に免疫系が病原体を排除することができる。つまり、ワクチンは感染を防ぐのではなく発症を防ぐ効果がある。

一方、HPV の場合は一度潜伏感染細胞が生じると排除が難しいので感染そのものを防ぐ必要がある。ワクチンが誘導する高濃度の血中中和抗体が細胞間液やリンパ液に移行し常時生殖器粘膜に滲みだすことで皮膚や粘膜の基底細胞への HPV 感染を防ぐのではないかと考えられている¹²⁾。

5. HPV16 VLP を用いたヒトへ大規模研究

このようにして HPV-16 の VLP が作られその安全性が確かめられたので¹³⁾¹⁴⁾Koutsky LA et al.は大規模なヒトを用いた研究を行った¹⁵⁾。この研究では HPV-16 VLP ワクチンを用い、その目標は HPV-16 持続感染を予防することであった。HPV-16 の持続感染が CIN(異形成)発生の重要な条件として認められていたからであった¹⁶⁾。ワクチンは HPV-16 の L1 キャプシドの VLP で酵母を用いた系で作られたものであった(メルク社)。これを従来から用いられてきた Alum を用いたアジュバントと共に筋注により投与するもので 0.5ml の中に 40 μ g の HPV-16 VLP と 2.25 μ g のアジュバントを含有する。これを 3 回(0, 2, 6 カ月)接種するのである。16~23 歳の女性 2,392 例が最初に登録されたが、研究開始時に性器の HPV-16

感染がウイルス学的・血清学的に否定された 1,533 症例についてその評価を行っている。既に 2001 年に米国の FDA の中の The Center for Biologies Evaluation and Research (CBER)がメーカーの第Ⅲ相試験に際して HPV ワクチンの効果を HPV 感染、HPV 持続感染、CIN1、CIN2/3、子宮頸がん発症の予防効果で行うようにガイドラインを示していたので¹⁷⁾、この研究ではその効果をワクチン接種後 1 カ月、6 カ月、その後 6 カ月ごとに平均 17.4 カ月間にわたり性器の HPV-16 感染の有無、持続感染の有無、細胞診、コルポ診、組織診により CIN や子宮頸がん発生の有無について検討している。同時に血中抗体価をみることによりワクチンの免疫原性もみている。その結果を表 1 に示す。

持続感染の頻度はプラセボ群では 3.8/100 女性 1 年であったものがワクチン群では 0 となり 100% の予防効果があったとしている。一過性感染例はプラセボ群が 27 例あったのに対しワクチン群は 6 例と有意に減少している。両者を合わせるとワクチン群は 6 例、プラセボ群は 68 例で 91.2% の減少ということになった。このワクチンは感染防御に有効であり、しかも持続感染を予防することが判明した。中でも興味深いのはプラセボ群の HPV-16 持続感染 41 例の中には CIN1 が 5 例、CIN2 が 4 例あり、ワクチン群では CIN 例が全くないことでこの HPV-16 VLP ワクチンには HPV-16 による CIN を完全に防げた点である。しかし、この研究では HPV-16 以外の 44 例の CIN が発生しているが、これらは HPV-16 VLP ワクチンでは全く防げず、このワクチンは HPV-16 の感染のみを型特異的に防いでいることを報告している。つまり、L1-VLP は型特異的であるので高リスク群に属する HPV-18, 52, 58 などの感染予防にはそれぞれの VLP を用いなければならないことになる。このワクチンの免疫原性については接種者の 99.7% が抗体が陽転し、そ

表 1 HPV-16 L1 VLP ワクチンの効果

	HPV-16 ワクチン群			プラセボ群			効果
	例数	感染例	/100 女性1年 (%)	例数	感染例	/100 女性1年 (%)	
持続 HPV-16 感染	768	0	0	765	41	3.8	100% (90—100)
一過性 HPV-16 感染	768	6		765	27		
一過性+持続 HPV-16 感染		6	0.6		68	6.3	91.2%

表 2 HPV VLP ワクチンの開発

研究者	Koutsky et al. 2002	Mao et al. 2006	Villa et al. 2005	Harper et al. 2004
HPV の型	16	16	6, 11, 16, 18	16, 18
アジュバント	Alum	Alum	Alum	ASO4
年齢	16～23 歳	16～23 歳	16～23 歳	15～25 歳
例数	1533	1505	468	721
接種スケジュール	0, 2, 6	0, 2, 6	0, 2, 6	0, 1, 6
追跡期間 (年)	1.5	3.5	2.5	1.5
持続効果				
コントロール/ワクチン	42/0	111/7	36/4	7/0
効果 (%)	100	94	90	100
CIN1 以上				
コントロール/ワクチン	9/0	24/0	3/0	6/0
効果 (%)	100	100	100	100

(Schiller JT, 2006¹⁷⁾)

の3回投与後1カ月目の抗体価は自然感染によるものの58.7倍と非常に高くこの抗体が感染予防に働いていたと考えられる。副作用は注射部位の疼痛であり、その頻度は他のコンポーネントワクチンやサブユニットワクチンのそれと同じであった。この研究の見事な結果はVLPワクチンによるHPV感染予防とHPV持続感染の予防、そしてCINの予防としてのワクチン戦略へ大きく前進させることになった。

6. HPV VLP ワクチンの発展

Koutsky et al.の画期的な成功はHPV-VLPを用いたワクチンの臨床応用を拓めることになった¹⁷⁾。現在までメルク社とグラクソ・スミスクライン社の2社がワクチン開発をすすめている(表2)。

メルク社のHPV-16ワクチンはMa O et al.によりさらに検討がすすめられたが¹⁸⁾、その後ワクチンは高危険群HPVの16型、18型に尖圭コンジローマの原因となる低危険群HPVの6型、11型も加えた4価のワクチンを開発し

ている¹⁹⁾。このワクチンは酵母を用いて作られアジュバントとして従来から用いられている Alum が用いられている。

これに対しグラクソ・スミスクライン社は、バキュロウイルス系を用い高危険群 HPV の 16 型、18 型の VLP を作らせ免疫原として用いている。このワクチンの大きな特徴がこの会社の開発した新しい強力なアジュバントが用いられている点である²⁰⁾。

これらの二社の HPV ワクチンは共に 2~3 年以内の追跡では 100% 近い効果を示している。

7. 今後の課題

VLP を用いた HPV ワクチンは、その強い抗原性により高い中和抗体を産生することにより HPV の感染とその持続感染を防ぐことができ、その結果として子宮頸がんの発症を予防できることが期待できるという輝かしい成果をもたらした。しかしながら、L1 を用いた VLP ワクチンは型特異的であるので子宮頸がんの予防には 10 種以上もある高リスク群に対してそれぞれ VLP を作る必要があるが、これらをすべて含有したワクチンはまだ作られていない。

したがって、HPV-16、18 型を用いた現行のワクチンは子宮頸がん全体の 6~7 割しか予防できないことになる。このワクチンの効果は、5 年程度は続くことはわかったがいつまで続くかはわかっていない。HPV の持続感染の予防はできるが、本当に子宮頸がんが予防できるかは更に長期の追跡が必要である。もう一つ大切な問題点は、16~25 歳の集団におけるキャッチアップ接種のワクチン効果である。前述のワクチン効果は HPV に未感染者についてはほぼ 100% であるが、HPV16/18 の既感染者はワクチンによってその排除はできないし、これら以外の高危険群 HPV による CIN の発症もあるのでワクチン効果は 50% 前後まで下がってしまう²¹⁾²²⁾。臨床応用の際にはこれらの点を十分に

考慮する必要がある。その他にもいくつかの課題があるが、この点については吉川裕之氏の論文を参照されたい。

文 献

1. Shope RE. Immunization of rabbits to infectious papillomatosis. J Exp Med 1937; 65: 219—231
2. Christensen ND, Kreider JW. Antibody-mediated neutralization in vivo of infectious papillomaviruses. J Virol 1990; 64: 3151—3156
3. Olson C, Segre D, Skidmore LV. Further observations on immunity to bovine cutaneous papillomatosis. Am J Vet Res 1960; 21: 233—242
4. Jarrett WFH, O'Neil BW, Gaukroger JM, Smith KT, Laird HM, Campo MS. Studies on vaccination against papillomaviruses: the immunity after infection and vaccination with bovine papillomaviruses of different types. Vet Rec 1990; 126: 483—484
5. Jarrett WFH, O'Neil BW, Gaukroger JM, Laird HM, Smith KT, Campo MS. Studies on vaccination against papillomaviruses: A comparison of purified virus, tumour extract and transformed cells in prophylactic vaccination. Vet Rec 1990; 126: 449—452
6. Jarrett WF, Smith KT, O'Neil BW, et al. Studies on vaccination against papillomaviruses: prophylactic and therapeutic vaccination with recombinant structural proteins. Virology 1991; 184: 33—42
7. Lin YL, Borenstein LA, Selvakumar R, et al. Effective vaccination against papilloma development by immunization with L1 or L2 structural protein of cottontail rabbit papillomavirus. Virology 1992; 187: 612—619
8. Crum CP, Nuovo GJ. Biology of papillomavirus. In: Crum CP, Nuovo GJ, eds. Genital papillomavirus and Related Neoplasms. New York: Raven Press, 1991; 11—35
9. Jansen KU, Rosolowsky M, Schultz LD, et al. Vaccination with yeast-expressed cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) virus-like particles protects rabbits from CRPV-induced papilloma formation. Vaccine

- 1995; 13: 1509—1514
10. *Suzich JA, Ghim SJ, Palmer-Hill FJ, et al.* Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 11553—11557
 11. *Lowe RS, Brown DR, Bryan JT, et al.* Human papillomavirus type 11 (HPV-11) neutralizing antibodies in the serum and genital mucosal secretions of African green monkeys immunized with HPV-11 virus-like particles expressed in yeast. *J Infect Dis* 1997; 176: 1141—1145
 12. 神田忠仁. ヒトパピローマウイルス(HPV)の生活環と感染予防ワクチン戦略. 日本性感染症学会誌 2007; 18: 20—27
 13. *Harro CD, Pang YY, Roden RB, et al.* Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J Natl Cancer Inst* 2001; 21; 93: 284—292
 14. *Koutsky LA, Miller LR, Poland GA, et al.* Persistence of HPV16 antibodies after immunization with HPV16 L1 virus like particle (VLP) vaccines. Presented at the 19th International Papillomavirus Conference, Florianopolis, Brazil, September. 2001; 1—7
 15. *Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, et al.* A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med* 2002; 347: 1645—1651
 16. *Ho GY, Burk RD, Klein S, et al.* Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1365—1371
 17. *Schiller JT, Lowy DR.* Perspectives on HPV Virus-Like Particle Vaccine Efficacy. In: Monson J, eds. *Emerging Issues on HPV Infections From Science to Practice*. Basel: Karger, 2006; 217—226
 18. *Mao C, Koutsky LA, Ault KA, et al.* Efficacy of human papillomavirus-16 vaccine to prevent cervical intraepithelial neoplasia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2006; 107: 18—27
 19. *Villa LL, Costa RL, Petta CA, et al.* Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol* 2005; 6: 271—278
 20. *Harper DM, Franco EL, Wheeler C, et al.* Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 1757—1765
 21. *Garland SM, et al.* Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. *N Engl J Med* 2007; 356: 1928—1943
 22. *Barr E, et al.* Impact of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (type 6, 11, 16, 18) L1 virus-like particle vaccine in a sexually active population of North American women. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 261.e1—e11

Development of HPV Vaccine and Its Clinical Trials

Takashi KAWANA

Teikyo Heisei Nursing Junior College, Chiba

Key words : Papillomaviruses · Vaccine development · Animal studies · Human trial

索引語 : HPV ワクチン, 動物実験, CRPV, BPV, VLP, ワクチン開発