

2023年5月19日

VLP Therapeutics Japan 株式会社

**細胞膜表面に RBD を発現するレプリコン（次世代 mRNA）ワクチンで
新型コロナウイルス感染症（COVID-19）変異株に広範・持続的な免疫の誘導に成功：
他のパンデミック病原性ウイルスに対する基盤技術としての応用にも期待**

ポイント

- 新型コロナウイルス S タンパク受容体結合ドメイン（RBD）を細胞膜上に発現させるレプリコンワクチン¹をデザインし、開発を行った。
- RBD を細胞膜表面に発現させると、分泌型の RBD を発現させた場合と比較してより高い免疫がマウスで誘導された。また、ガンマ株の RBD を用いると、武漢株の RBD と比較してより広範かつ持続的な中和抗体価が誘導された。
- ハムスターおよび霊長類モデルを用いた攻撃接種実験²において、ワクチン防御効果が確認された。また、変異株に対する抗体が、霊長類モデルで少なくとも 12 ヶ月間維持された。

VLP Therapeutics Japan、医薬基盤・健康・栄養研究所、国立病院機構名古屋医療センター、北海道大学大学院医学研究院、大阪公立大学の研究グループは、細胞膜表面に新型コロナウイルス受容体結合ドメイン（RBD）を発現するレプリコン（次世代 mRNA）ワクチンを開発しました。

本研究で、このレプリコンワクチンの免疫は、霊長類モデルにおいて効率的に T 細胞および B 細胞応答を誘導することが分かりました。武漢株またはガンマ株 RBD で免疫したハムスターと霊長類では、新型コロナウイルス武漢株に対する防御効果を示しました。また、変異株に対する RBD 特異的な抗体が、霊長類モデルで少なくとも 12 ヶ月間維持されることが分かりました。これらの結果から、このレプリコンプラットフォームは、今後のコロナウイルス変異株に対して持続的な免疫を誘導する有用なワクチン候補となり得ると考えられます。本成果は、今後の変異株に対するワクチン開発戦略としてだけでなく、他のパンデミック病原性ウイルスに対する基盤技術としての応用可能性が期待されます。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）ワクチン開発推進事業「自己増殖 RNA テクノロジーを用いたわが国における新型コロナウイルス感染症（COVID-19）に対するワクチン開発」の一環として行われました。本研究成果は 5 月 19 日、英科学誌 *Nature Communications*（電子版）で公開されました。

研究背景・概要

新型コロナウイルス感染症は、新たな変異体の出現により拡大を続けており、全世界に配布可能かつ様々な変異株に対しても有効なワクチンの開発が急務となっています。現在、COVID-19

に対するワクチンは複数承認されており、パンデミックの影響を軽減することに貢献しています。しかし、これらのワクチンによって誘導される免疫応答の持続時間は比較的短く、また、新たな変異株が出現し続けているため、ワクチン設計のさらなる改良が求められています。

本研究では、レプリコンプラットフォーム技術を利用して、COVID-19 ワクチンを新規開発しました。この技術は、アルファウイルス（ウイルスの一種）のレプリコン発現ベクターを利用しています。このベクターは、レプリコンの複製・転写に必要な4種類のタンパク質（nsPs1-4）を発現し、目的の遺伝子を効率的に発現させます。この自己増幅プロセスにより、標的抗原の発現レベルおよび発現期間は、既存の mRNA ワクチンプラットフォームで観察されるよりも高く、長くなります。したがって、このレプリコンプラットフォームを用いることにより免疫系への RBD 抗原の長期的な提示が期待されています。レプリコンベクターを用いて全長の S タンパク質を発現する COVID-19 ワクチン候補を開発した前臨床試験がいくつか実施されており、これらの候補ワクチンは、COVID-19 攻撃接種試験において感染防御と同様に高い液性および細胞性免疫を誘導することが報告されています。

また、感染者の中和抗体の 90% 以上が新型コロナウイルススパイク RBD を標的とすることが報告されています。中和抗体が標的とするエピトープが最も多く存在する場所に免疫反応を集中させるため、本研究では RBD の配列のみをレプリコンベクターに挿入する遺伝子として設計しました。

さらに、抗原を細胞表面に高頻度で発現させ、B 細胞受容体に効率よく抗原を提示することで、より強い反応が誘導されることが報告されています。より強力な B 細胞応答を誘導するために、本研究グループは RBD の N 末端に S タンパク質のシグナル配列を、C 末端にインフルエンザウイルスのヘマグルチニンタンパク質（HA）の膜アンカーを融合させました。このアプローチにより、RBD が細胞の表面に固定化され、高頻度で発現されるようになりました。本論文は、この RBD ベースのレプリコン候補ワクチンの開発、および脂質ナノ粒子デリバリーシステム³を用いたマウス、ハムスター、および霊長類モデルでの前臨床評価について報告するものです。

研究内容・考察

本研究で開発された新規 COVID-19 ワクチンの基本設計は、最適化された RBD 配列と N 末端のシグナル配列、C 末端の膜アンカーを融合した抗原をレプリコンベクターで発現させるものです。この設計により、中和エピトープの大部分を含む RBD に免疫反応を集中させ、非中和抗体の誘導を抑える事で、単球やマクロファージなどによる抗体を介した新型コロナウイルスの取り込みを抑制し、全身性炎症を引き起こすリスクを最小化することができます。シグナル配列と膜アンカーの追加により、RBD は細胞膜表面に効率良く発現され、マウス、ハムスター、霊長類モデルで高い免疫原性を示し、ハムスターと霊長類モデルの攻撃接種実験で防御効果があることを示しました。現在広く使用されている mRNA ワクチンの懸念は、誘導される免疫応答の期間が比較的短いことであり、さらに新たな変異株の出現によって状況は更に複雑になっています。mRNA ベクターによる抗原発現が2週間以内に減少するのに対し、レプリコンベクターによるレポーター遺伝子の発現は動物モデルで最長 86 日目まで確認できる事が本研究グループや他の研究グループの報告で明らかになりました。このような発現の延長は、免疫応答の持続時間の延長に寄与す

ると考えられますので、この特性を活用出来れば、ワクチン接種の間隔を延長することが可能になると考えられます。

霊長類モデルを用いた実験では、レプリコン RBD(ガンマ株)-TM が高い中和抗体価を誘導するだけでなく、抗原特異的 B 細胞および抗原特異的 T 細胞の応答も誘導する事が示唆されました。観察期間中、霊長類モデルにおいて抗原特異的 B 細胞と血漿中和活性は維持され、レプリコン RBD(ガンマ株)-TM によって誘導された抗体は、ワクチン接種後 3 ヶ月から 6 ヶ月の間にほとんど減少しませんでした。レプリコンワクチンは、ワクチン接種後の胚中心反応を促進・延長することにより、ヒトにおいて高い中和抗体と Th1 バイアス免疫応答を誘導する可能性があると考えられます。

また、このレプリコン RBD ワクチンのデザインは、新型コロナウイルスの他の株との RBD 配列の交換を容易に行える事を示しました。ガンマ株 RBD を発現するレプリコンワクチンは、武漢株 RBD を発現するレプリコンと比較して、オミクロン株の亜系統などの変異株に対して大きな交差反応性を示しました。ガンマ株 RBD に存在する aa484 の変異は免疫逃避のために獲得されたことが知られており、最近の変異株の多くはこの位置に変異を有しており、この違いが RBD(ガンマ株)-TM のより強い交差反応性に寄与している可能性が考えられます。

研究展望

このレプリコンワクチンのさらなる開発には臨床試験での評価が必要であり、プライムワクチンとしての評価とブースターワクチンとしての評価の両方が現在進行中です。他の研究グループからも、いくつかレプリコン技術を用いた COVID-19 ワクチン臨床試験が報告されています。このレプリコンのアプローチは、今後の新型コロナウイルス変異株に対するワクチン開発戦略としてだけでなく、他のパンデミック病原性ウイルスに対するプラットフォームとしても有用となることが期待されます。

用語説明

1. レプリコン（次世代mRNA）ワクチン：少量の接種で十分な抗体が作られる、自己増殖型の mRNA (saRNA) ワクチン。現行の mRNA ワクチンと比べて10~100分の1程度の接種量となることから、短期間で日本全人口分の製造が可能となることと、副反応が低減されることが期待される。新型コロナウイルス表面にある突起状のSタンパク質全体を抗原とする現行のワクチンと異なり、レプリコンワクチンはSタンパク質のうちウイルスが人の細胞に結合して感染するRBD（受容体結合部位）と呼ばれる部分のみを抗原にしている。そのため、不要な抗体を作らないことによる高い安全性と、多様なRBDへの抗体を作ることによる変異株への効果も期待される。
2. 攻撃接種試験：動物にワクチンを接種したのちにウイルスに暴露することでワクチンの予防効果を調べる試験のこと
3. 脂質ナノ粒子デリバリーシステム：mRNAワクチン製剤を分解させることなく効率よく標的細胞に導入するための製剤化技術のこと

論文情報

- 論文名：saRNA Vaccine Expressing Membrane-Anchored RBD Elicits Broad and Durable Immunity Against SARS-CoV-2 Variants of Concern.
- 雑誌名： *Nature Communications*
- 著者： Mai Komori⁺, Takuto Nogimori⁺, Amber Morey, Takashi Sekida, Keiko Ishimoto, Matthew Hassett, Yuji Masuta, Hirotaka Ode, Tomokazu Tamura, Rigel Suzuki, Jeff Alexander, Yasutoshi Kido, Kenta Matsuda, Takasuke Fukuhara, Yasumasa Iwatani, Takuya Yamamoto*, Jonathan F Smith*, Wataru Akahata* (+ 筆頭著者 | * 責任著者)
- DOI： 10.1038/s41467-023-38457-x
- URL： <https://www.nature.com/articles/s41467-023-38457-x>

図 1

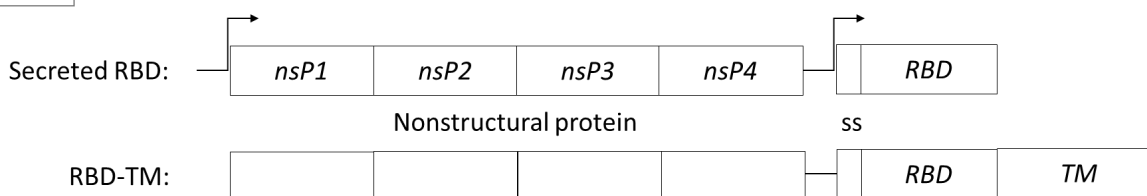


図 2

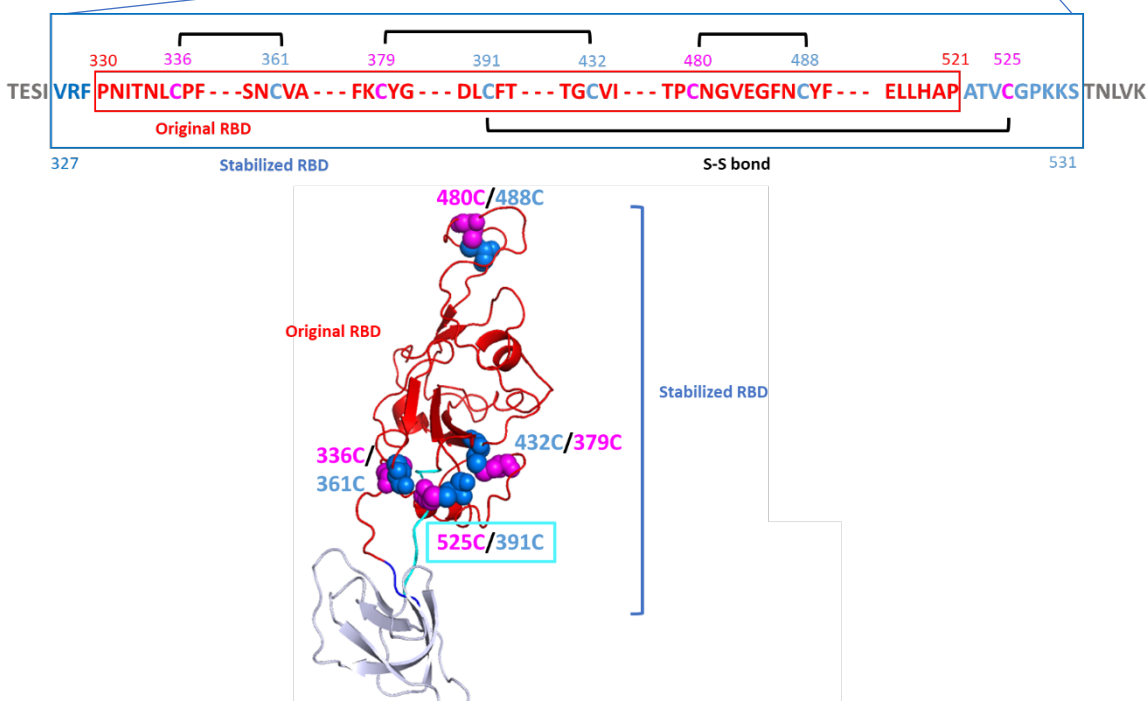


図 1. RBD 抗原の発現に用いるレプリコンベクターの模式図。上が分泌型 RBD を発現するレプリコン、下が細胞膜上に固定された RBD を発現するレプリコン

図 2. RBD 抗原のアミノ酸配列と構造モデルの模式図。赤線で囲われた配列がオリジナルの RBD、青線で囲われた配列が安定化された RBD、そして黒線がジスフィルド結合を示す

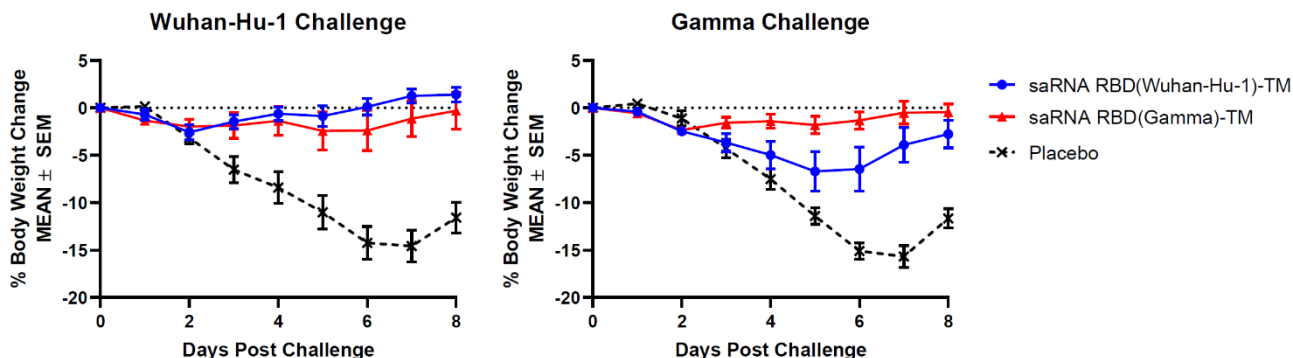


図 3. レプリコン RBD(ガンマ株)-TM を 2 回接種したハムスターでは、新型コロナウイルス武漢株およびガンマ株での攻撃接種後に大きな体重変化は確認されなかった

◆ VLPセラピューティクス・ジャパン (VLPTジャパン) について [\[https://vlptherapeutics.co.jp\]](https://vlptherapeutics.co.jp)

VLP Therapeutics Japan株式会社（本社：東京都港区、代表取締役：赤畑渉）は2020年、米国 VLP Therapeutics, Inc. の100%子会社として設立されました。2023年現在、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）及び厚生労働省の支援により、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）等に対するワクチンを国内数機関と共同研究開発中です。

◆ VLPセラピューティクス (VLPT) について [\[https://vlptherapeutics.com\]](https://vlptherapeutics.com)

VLP Therapeutics, Inc.（本社：米国メリーランド州ゲイサースバーグ、CEO：赤畑渉）は2013年、世界の「満たされていないメディカル・ニーズ」に応え、従来のワクチン療法を一変する革新的な治療法を開発するため、赤畑渉が上野隆司博士、久能祐子博士らと設立しました。2023年現在、がんに対する治療ワクチンと、マラリア、デング、新型コロナウイルス感染症に対する予防ワクチンの研究開発を進めています。

【問合せ先】

VLP セラピューティクス・ジャパン 国際広報・IR 部長
飯島 由多加 | Email: info@vlptherapeutics.co.jp