

## 事後評価結果概要

000-009\_金井 隆典（慶應義塾大学）：

新型コロナウイルス感染症の遺伝学的知見に基づいた分子ニードル COVID-19 粘膜免疫ワクチンの開発

### 【研究概要】

#### 1. 分子ニードル COVID-19 粘膜免疫ワクチンの開発

分子ニードルは、T4 バクテリオファージが宿主細胞である大腸菌に感染する際、T4 ファージのゲノムを大腸菌内に細胞膜を貫通させて挿入するためのドリルの役割を果たす約 130 アミノ酸残基からなる約 14kDa のポリプロテインの 3 量体の針状構造物である。分子ニードルの N 末端側に GS リンカーを介して標的ポリペプチド配列を付加し、融合タンパク質として大腸菌で発現させると、標的ポリペプチドが付加されたニードルとなり、能動的に粘膜層を通過して、宿主細胞内にポリペプチドごと侵入するため、標的ポリペプチドを細胞内に効率良く打ち込むことができる。

本分担研究では、この原理を利用して SARS-CoV-2 のポリペプチドを付加した分子ニードルを作製して動物実験により免疫賦活化効果の検証を行った。また、日本人に多い MHC 分子に適合したペプチドモチーフを利用した分子ニードルの検討も実施した。

#### 2. 新型コロナウイルス感染症の重症化に関わるアジア人集団に特有の遺伝子多型（バリエーション）の発見

新型コロナウイルス感染症に罹患して重篤化し、酸素が必要となったり、ICU に入室したり、また、不幸にして亡くなられてしまった患者さんにおける遺伝的背景の関与を調べるために、収集した検体のうち、約 2,400 名分の DNA を用いて、ゲノムワイド関連解析を行った。2,377 名の日本人集団コントロール DNA と比較した結果、日本人新型コロナウイルス感染症患者において、5 番染色体上の領域（5q35）のヒトゲノム配列の多型（バリエーション）が、65 歳未満の非高齢者において約 2 倍の重症化リスクを有することを発見した。この領域には、免疫機能に重要な役割を担う Dedicator of cytokinesis 2（DOCK2）という遺伝子が含まれていた。今回同定された DOCK2 遺伝子領域のバリエーションは、日本人を含む東アジア人集団では約 10%と高頻度に見られるバリエーションである一方、研究が先行する欧米人集団においてはほとんど認められない低頻度のバリエーションであることが判明し、欧米で先行して実施された解析では同定されていなかった一因であると考えられた。さらに症例数を増やした解析による追認検証が必要ではあるが、これらの知見は、DOCK2 遺伝子領域のバリエーションが日本人集団を含むアジア人特有の重症化因子の有力候補である可能性を示唆したものと考えられる。一方で、DOCK2 遺伝子領域のバリエーションだけでは重症化の集団間の違いを説明することはできず、今後も更なる COVID-19 ホストゲノム解析の継続が重要と考

えられる。

### 3.ABO 式血液型と新型コロナウイルス感染症の重症化

欧米人集団を中心としたこれまでの研究においては、ABO 式血液型と新型コロナウイルス感染症の重症化リスクに関わりがあることが報告されている。コロナ制圧タスクフォースでは、ゲノムワイド関連解析を通じて得られた ABO 遺伝子配列上のバリエーション情報に基づき、ABO 式血液型の詳細な推定と日本人における新型コロナウイルス感染症との関わりを調べました。その結果、欧米人集団で報告されていたように、O 型の人は新型コロナウイルス感染症における重症化リスクが約 0.8 倍と低い一方、AB 型の人は重症化リスクが約 1.4 倍と高くなる傾向が判明した。

### 4.メンデルランダム化解析による新型コロナウイルス感染症の重症化因子の解析

新型コロナウイルス感染症の制圧においては、どのような基礎疾患や体質を有する人が重症化しやすいのかを明らかにすることが重要である。ヒトゲノム解析の成果を活用して、二つの疾患・表現型における因果関係を推定する遺伝統計解析手法として、メンデルランダム化解析という手法が知られている。今回、日本人における幅広い疾患・表現型のゲノムワイド関連解析の結果と、コロナ制圧タスクフォースによる新型コロナウイルス感染症のゲノムワイド関連解析の結果に対してメンデルランダム化解析を実施した。その結果、日本人では、肥満や痛風・高尿酸血症の発症リスクが新型コロナウイルス感染の重症化のリスクになるという因果関係が示唆される結果となった。肥満は年齢・性別と並んで新型コロナウイルス感染の主要な重症化因子の一つであり、痛風・高尿酸血症は、疫学研究を通じて日本人の重症化・死亡危険因子であることが判明している。本解析結果は、これらの因子が直接的に新型コロナウイルス感染の重症化の原因となっていることを示唆する結果と考えられる。

### 5.コロナ制圧タスクフォースの国際コンソーシアムへの参加

コロナ制圧タスクフォースの活動は、国際的にも広く認知され、国際共同研究グループと共に研究を進めている。世界で最大の新型コロナウイルス感染のホストゲノム研究である COVID-19 Host Genetics Initiative (<https://www.covid19hg.org/>) に、アジアで最大の研究グループとして参加し、新型コロナウイルス感染の重症化に関わる 15 箇所の遺伝子多型（バリエーション）の発見に貢献した。日本人における新型コロナウイルス感染のゲノム研究を今後も継続的に発展させていくことで、国際共同研究を通じた新型コロナウイルス感染の重症化に関わるバリエーションの新たな発見と、世界の新型コロナウイルス感染パンデミック制圧に向けた国際貢献が期待できるものと考えられる。この研究成果は、本研究成果は、2021 年 7 月 8 日に『Nature』のオンライン版に掲載された。

## 6. 肺胞オルガノイドを用いた新型コロナウイルス感染

患者肺組織に対して物理的破砕、酵素処理を行った後、蛍光活性化セルソーティング (FACS) を用いて II 型肺胞上皮を選択的に採取した。これらを、オルガノイド培養技術を応用した特定の培養液で培養したところ、肺胞細胞の 3 次元培養を行うことに成功し、肺胞スフェロイドと命名した。肺胞細胞に対して新型コロナウイルスを直接感染させ、ウイルスが肺胞細胞 (肺胞スフェロイド) に持続的に感染すること、ヒト体内での感染応答と同じインターフェロン反応がシャーレ上でも起こることを実証した。この感染モデルを用いて、新型コロナウイルスに感染した肺胞細胞に対して治療薬を投与し、経時的にウイルス量を測定することで、治療効果を判定する方法を確立した。この方法では、以前は効果が期待されながらも大規模臨床試験の結果効果が認められないという結論に至ったロピナビルではウイルスの増殖を抑えられなかった一方、現在では臨床現場でも用いられているレムデシビルが肺胞において抗ウイルス効果を発揮することを確認でき、実際のヒトの臨床を反映していることが明らかとなった。

## 7. コロナ制圧タスクフォースによる多施設共同研究のネットワーク

本 AMED の支援により、慶應義塾大学が代表となって形成された、COVID-19 のホストゲノム研究を行うコロナ制圧タスクフォース (<https://www.covid19-taskforce.jp/>) を設立し、患者末梢血 DNA、RNA、血漿試料とそれに紐づけられた詳細な臨床情報の集積を進めてきた。発足当初、参加した医療機関は 40 施設であったが、研究チームの草の根の努力により、医療現場の最前線に立つ医療従事者から大きな賛同を得て、また、COVID-19 に罹患した患者さんからも多大な協力を得て、現在、全国 100 以上の医療機関が参加する多施設共同研究ネットワークが形成された。その結果、2021 年 3 月末の時点で、3,400 人以上の被験者から協力を得られ、アジアで最大の生体試料を併せ持つコホートとなった。

### 【配分額】

336 (百万) 円

### 【総合評価】

分子ニードルを利用した粘膜ワクチンという新規なコンセプトである。日本人 MHC に適合した抗原ペプチドと分子ニードル融合蛋白をデザイン、発現させ、動物での感染防御効果を確認して POC in animal を達成している。また重症化に関わるバリエーションを発見し、コロナ制圧タスクフォース国際コンソーシアムへ参加し国際貢献をした。加えて、COVID-19 の重症化に係る因子解析、コロナ制圧タスクフォースの研究では期待以上の成果が得られている (新たに DOCK2 に関連する研究は期待できる可能性はある)。

一方、独自の分子ニードル技術であるが、COVID-19 のワクチンとしてすでに上市ワクチンがあり、また、他の多くの先行開発品もあることから、現在の進捗状況で実用化にいたる

には障壁が大きいと思われる。また、分子ニードルワクチンに関しては主に有効性の検討が行われたのみであり、薬事承認に必要とされる検討は現時点では実施されておらず、臨床検体の収集とホストゲノムの解析結果についても、どのように分子ニードルワクチンのデザインや評価に有機的につながっているのか、報告書からは読み取れない。

「分子ニードル粘膜ワクチン開発」テーマは「パンデミック対策ネットワーク構築」と「ワクチン開発のための基盤科学」とは切り離しての評価が適切ではないかと思われる。

分子ニードル粘膜ワクチンの持つ特徴を明確にした上で、早期実用化のため、優先順位を明確化し、実用化にむけた技術開発を行っていただきたい。