

# 日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業 事後評価報告書

公開

## I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 新規モダリティワクチン製剤に対する有効性・安全性評価法開発に資する免疫学的研究

(英語) Immunological research contributing to the development of efficacy and safety assessment methods for new modality vaccine formulations.

研究開発実施期間: 令和4年4月1日～令和7年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 松村 隆之  
(英語) Takayuki Matsumura

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:  
(日本語) 国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所ワクチン開発研究センター第三室・室長  
(英語) Chief, Laboratory of Vaccine Platform, Research Center for Vaccine Development, National Institute of Infectious Diseases, Japan Institute for Health Security

## II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

和文: 近年、世界中で COVID-19 に対するワクチン開発が急速に進み、mRNA ワクチン、アデノウイルスベクターワクチン等の新規モダリティワクチン製剤が実用化されている。特に mRNA ワクチンは非常に有効性が高いものの、副反応の頻度や重症度も高い問題点があり、それらに関わると考えられるワクチン成分および産生物に対するヒト免疫細胞の応答性については不明な点が多い。ワクチンの有効性および副反応は、自然免疫、細胞性免疫、および液性免疫の誘導と活性化に依存するため、本研究グループでは、COVID-19 ワクチン接種前および接種後の様々なタイムポイントのヒト末梢血単核細胞を収集し、ワクチンの有効性および副反応に相関する自然免疫細胞、細胞性免疫細胞、および液性免疫細胞の探索を行っている。本研究ではさらに、各種免疫細胞のワクチン応答性を詳細に解析・評価し、ワクチン接種者コホート検体を用いたワクチンバイオマーカーのバリデーションを行いつつ、それに基づいた新規モダリティワクチン製剤の有効性・安全性評価法の開発および医薬品等規制ガイドライン案の作成に有用な免疫学的データの提供を目指した。今後、高い有効性を保ちつつ副反応を抑えたワクチン製剤の開発を加速化させるためには、本研究による有効性・安全性評価法の開発や医薬品等規制ガイドライン案の作成に有用なデータ提供が必要であると考えられた。

自然免疫評価法の開発

本研究では、コホート研究データ及びバイオマーカー等を活用したワクチン評価系を構築し、将来のワクチン被接種者における有効性・安全性を予測可能にすることを目指していた。令和4年度に、COVID-19 ワクチンコホート研究についての2つの免疫学的研究論文が受理・掲載され (Takano T, et al. *Cell Reports Medicine*. 3(5):100631. 2022; Takano T, et al. *Nature Communications*. 14:1451. 2023)、これらの研究データからワクチン副反応のバイオマーカー候補としていくつかの自然免疫細胞を同定し、それらを活用した評価系の構築を進めてきた。しかし、コホート研究データを in vitro 評価系に反映させるのは非常に困難であることが判明したため、マウスモデルも含めて、よりわかりやすい評価系について検討することにした。人のワクチン接種に伴う副反応の評価において、発熱以外のほとんどの項目（痛み、寒気、頭痛、倦怠感、筋肉痛、関節痛）は、活動に対する支障の度合いが指標となっている。そこで、RNA ワクチン接種マウスの発熱および自発活動量を調べたところ、接種量に依存して、体温の上昇と自発活動量の低下を測定できることが明らかとなった。また、本評価系は従来法であるマウス体重減少測定より感度が良く、副反応の時間的推移も人の場合と類似していることから、新規ワクチン副反応評価系として有望であると考えられた。副反応評価系の最適化のために、今後、市場に出てくる可能性のある既存および新規のイオン化脂質を含む RNA ワクチンを作製し、本評価系で測定したところ、現行の RNA ワクチンと同等の抗体応答を誘導しつつ副反応の低いワクチン候補品を見出した。本評価系の最適化を進めるために、マウスモデル等で副反応発生メカニズムについて解析したところ、炎症性サイトカインの一種 IL-1 がワクチン接種後の発熱に寄与しており、IL-1 の阻害はヒトおよびマウスにおいて抗体応答には影響しないことを示唆するデータが得られた (Takano T, et al. *SSRN [Preprint]*. 2025)。既存ワクチンより IL-1 産生のみを抑えたワクチンの開発により、免疫原性は維持されつつ副反応の低減化が図れると考えられる。ワクチン開発の初期研究において、副反応評価マウスモデルを用いた副反応評価（評価項目：発熱、自発運動量の低下）が推奨される。

### 細胞性免疫評価法の開発

ワクチンの開発および市販後性能評価にあたっては、感染防御や重症化抑制といった臨床的要因と関連する免疫学的因子の同定が急務である。COVID-19 ワクチン被接種者の末梢血単核球を用い、T 細胞の頻度を測定する評価系として Intracellular cytokine staining (ICS) アッセイと Activation induced markers (AIM) アッセイについて比較し、AIM アッセイは ICS よりも3倍から10倍程度鋭敏に抗原特異的 T 細胞を検出することが明らかになった。また、この AIM アッセイの培養液中のサイトカイン濃度を測定することで、T 細胞の機能性を鋭敏かつ定量的に評価できることが明らかになった。さらに本研究では、8日間培養後に ICS アッセイ（8日培養/ICS アッセイ）を行うことで、単一エピトープ特異的ヘルパーT細胞といった極めて低頻度の細胞の検出ならびに機能評価が可能であることを明らかにした。以上の成果から、T 細胞の機能評価としてはワクチン開発研究から市販後調査の様々な段階を問わず、迅速・簡便性の観点からは AIM アッセイが推奨され、特定のエピトープ抗原に特異的な低頻度集団を対象とする場合は8日培養/ICS アッセイが推奨される。

### 液性免疫評価法の開発

液性免疫は mRNA ワクチンによって活性化し、産生された中和抗体価が免疫原性評価の1つの指標となる。ワクチン接種早期に抗体応答を予測できるバイオマーカーが見つければ革新的であることから、中和抗体応答関連因子の探索を行った。COVID-19 ワクチン被接種者の末梢血を用いて、18種類の免疫細胞に血中動態について検討したところ、mRNA ワクチンおよび組換え蛋白質ワクチンの2つのモダリティに共通して中和抗体価と関連する自然免疫細胞として NK 細胞サブセットを同定した (Takano T, et al. *Cell Reports Medicine*. 3(5):100631. 2022; Takano T, et al. *Nature Communications*. 14:1451. 2023)。また、新たな液性免疫評価系として、1変異 RBD パネルを用いた COVID-19 ワクチンにおける各 IgG サブ

クラス抗体価評価系を構築した。ヒト臨床検体において、mRNA ワクチン接種群の IgG1 と IgG3 は、組換え蛋白質ワクチン接種群のものと比べていくつかのエピトープに偏りがあり、RBD 変異への耐性が弱い箇所が複数存在することが示唆された。また、近年報告されていた mRNA ワクチン繰り返し接種による IgG4 割合の増加現象は、mRNA ワクチン接種群だけでなく、mRNA ワクチン接種からの組換え蛋白質ワクチンブースター接種群においても認められた。さらに、ワクチン接種時の血中 RBD IgG1 価と全身性副反応とに正の相関が認められた。ワクチン抗原-ヒト血漿抗体免疫複合体を用いた解析から、血中 IgG1 濃度が高いと単球系細胞における Fc 受容体を介したワクチン抗原-IgG1 複合体に対する応答性が增強されることが示唆され、本メカニズムが副反応発症に寄与している可能性が見出された。ワクチン開発研究の各段階において、免疫原性評価や副反応予測のために、目的に合わせた各種抗原パネルや抗体検出系を構築し、それらを組み合わせた multiplex assay 系を用いた液性免疫評価（評価項目：結合抗体価、抗体エピトープ、抗体サブクラス）が推奨される。

英文：In recent years, the development of vaccines against COVID-19 has progressed rapidly worldwide, leading to the practical application of novel modality vaccine formulations such as mRNA vaccines and adenoviral vector vaccines. Among these, mRNA vaccines have demonstrated remarkably high efficacy; however, they are also associated with relatively frequent and severe adverse reactions. The immunological responses of human immune cells to vaccine components and their byproducts, which are believed to be involved in such adverse events, remain poorly understood. Since vaccine efficacy and adverse reactions depend on the induction and activation of innate, cellular, and humoral immunity, our research group has collected peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from vaccinated individuals at various time points before and after COVID-19 vaccination to identify immune cells that correlate with vaccine efficacy and adverse events. In this study, we further aim to analyze and evaluate the vaccine responsiveness of each immune cell type in detail, validate vaccine biomarkers using cohort samples from vaccine recipients, and ultimately provide immunological data useful for the development of evaluation methods for the efficacy and safety of new vaccine modalities, as well as for drafting regulatory guidelines for pharmaceuticals. To accelerate the development of vaccines that maintain high efficacy while minimizing adverse reactions, it is essential to develop evaluation methods for vaccine efficacy and safety, and to provide data that contribute to the creation of regulatory guidelines.

When evaluating adverse reactions in humans, aside from fever, most symptoms (e.g., pain, chills, headache, fatigue, myalgia, arthralgia) are assessed by their impact on daily activities. Investigations into fever and spontaneous activity in mice after RNA vaccine administration revealed that both body temperature elevation and reduced activity were dose-dependent. This new evaluation method proved more sensitive than conventional body weight loss measurements and closely mirrored the time course of adverse reactions in humans, indicating its potential as a novel system for evaluating vaccine-related adverse reactions. To optimize this evaluation system, RNA vaccines containing existing or novel ionizable lipids were prepared and tested. Candidate vaccines that elicited antibody responses equivalent to current RNA vaccines but showed reduced adverse reactions were identified. Analysis of adverse reaction mechanisms using mouse models indicated that the inflammatory cytokine IL-1 contributes to post-vaccination fever. Data suggested that IL-1 inhibition does not affect antibody responses in either humans or mice (Takano T, et al. *SSRN [Preprint]*. 2025). Thus, vaccines that

selectively suppress IL-1 production may reduce adverse reactions while maintaining immunogenicity. Early-stage vaccine development is recommended to include evaluation of adverse reactions using mouse models, with fever and reduced spontaneous activity as key indicators.

To develop vaccines and evaluate their performance post-marketing, it is critical to identify immunological factors that correlate with clinical outcomes such as infection prevention and reduction in disease severity. Using PBMCs from vaccinated individuals, two assays were compared for measuring T cell frequencies: intracellular cytokine staining (ICS) and activation-induced marker (AIM) assays. The AIM assay was found to detect antigen-specific T cells with approximately 3- to 10-fold greater sensitivity than the ICS assay. Additionally, measuring cytokine concentrations in AIM assay culture supernatants enabled sensitive and quantitative assessment of T cell functionality. Furthermore, performing ICS assays after an 8-day culture period (8-day culture/ICS assay) allowed for detection and functional evaluation of extremely rare populations such as single-epitope-specific helper T cells. Based on these findings, AIM assays are recommended for evaluating T cell function due to their speed and simplicity across all stages of vaccine research and post-marketing surveillance, while 8-day culture/ICS assays are preferable for assessing low-frequency populations specific to particular epitope antigens.

Humoral immunity is activated by mRNA vaccines, with the levels of induced neutralizing antibodies serving as a key metric for immunogenicity. Identifying early biomarkers predictive of antibody responses would be a major advancement. A study examining the dynamics of 18 immune cell types in peripheral blood from vaccine recipients identified NK cell subsets that correlated with neutralizing antibody titers for both mRNA and recombinant protein vaccines (Takano T, et al. *Cell Reports Medicine* 3(5):100631, 2022; Takano T, et al. *Nature Communications* 14:1451, 2023). A novel humoral immunity evaluation system was also developed to assess IgG subclass antibody titers against a panel of single-mutation RBD antigens. Clinical specimen analysis revealed epitope bias in IgG1 and IgG3 subclasses in mRNA vaccine recipients compared to those who received recombinant protein vaccines, suggesting reduced resistance to RBD mutations in certain epitopes. Additionally, recent reports of increased IgG4 levels following repeated mRNA vaccinations were confirmed not only in mRNA-only recipients but also in those boosted with recombinant protein vaccines after prior mRNA vaccination. A positive correlation was observed between serum RBD IgG1 titers and systemic adverse reactions at the time of vaccination. Analyses using antigen–antibody immune complexes suggested that high IgG1 levels enhance Fc receptor-mediated responses of monocyte-lineage cells to vaccine antigen–IgG1 complexes, potentially contributing to adverse reaction mechanisms. For immunogenicity evaluation and adverse reaction prediction throughout various stages of vaccine development, it is recommended to use multiplex assay systems combining antigen panels and antibody detection methods tailored to the specific purpose (e.g., binding antibody titers, antibody epitopes, antibody subclasses).