

日本医療研究開発機構 ワクチン・新規モダリティ研究開発事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 計算科学を用いたユニバーサルワクチン設計技術の開発
(英語) Study of universal vaccine design equipped with computational science

研究開発実施期間: 令和 5 年 12 月 1 日～令和 7 年 1 月 31 日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 小野口 和英
(英語) Kazuhide Onoguchi

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 日本電気株式会社・AI 創薬統括部・プロフェッショナル
(英語) Professional, AI Drug Development Division, NEC Corporation

II 研究開発の概要

背景と目的:

これまでのウイルス感染症に対するワクチンは、ウイルスをベースにした弱毒株ワクチンや不活化ワクチンが主流であった。しかし、mRNA ワクチンの登場により、ワクチン設計の自由度が大幅に高まった。設計の自由度が高いという事は、ワクチンを設計する技術力が重要になるともいえ、他にもワクチンの開発期間の短縮や開発費用の削減など、計算科学を用いたワクチン設計は技術イノベーションになると期待されている。このような技術的背景もあり、近年になり BioNTech やアマゾン等、様々な新興企業・大企業が計算科学技術を用いた *in silico* ワクチン開発や創薬事業に着手している。

日本電気株式会社では AI 等を用いて、T 細胞および B 細胞 (抗体) エピトープ予測技術、およびワクチン設計技術を独自開発した。本ワクチン設計技術に期待できる点は 2 つある。一つ目は、ユニバーサルワクチンを設計する方法論の確立である。二つ目は、ワクチン開発期間とコストの削減である。

まずユニバーサルワクチンについては、まだ確立された設計手法は存在していない。しかし、次世代シーケンサーの登場により、病原体のゲノムデータは公共データベースに多数登録されており、利用が容易となった。多数の病原体を網羅的に解析する事がユニバーサルワクチンには必要であり、その点で計算科学によるアプローチが重要なのは言うまでもない。ユニバーサルワクチン設計に向けた知見を集め、技術を開発する事で新たなイノベーションが起これると期待される。

二つ目のワクチン開発期間とコスト削減は、ワクチン開発が事業として成立し、持続性を持たせる観点から重要となる。世界に先行してワクチンを設計できるスピード、さらに高品質のワクチン設計を *in*

silico 解析で行う事によるコスト削減など、計算科学を用いたワクチン設計技術は事業化要素に適していると考えている。また、次なるパンデミックに備えるために、世界的にまた日本政府としてもワクチンの早期開発が期待されており、本技術はそれに貢献するものである。

そこで本研究では1) インフルエンザウイルスのタンパク質配列データから、*in silico* 解析を行い T 細胞および B 細胞エピトープの解析を実施し、広範な株に共通して保存される領域、エピトープ領域を同定した。さらに選択したエピトープを用いて2) T 細胞ワクチン、B 細胞ワクチンとしての免疫反応を誘導できるか否かを検討した。

研究開発の成果：

in silico 解析

公開データベースから 100 万を超えるインフルエンザウイルスのタンパク質配列データを取得し入手した。これらデータには同一のタンパク質が異なる遺伝子名で登録されているケースや（例：Haemagglutinin、HA、HA1 等）タンパク質配列の一部だけが登録されているケースもある為、これらデータの整理・再構成を行い、その後の解析に使用した。

まずユニバーサルワクチン設計のアプローチを検討する為、再構成したデータ、エピトープ予測、および各ウイルスタンパク質の相同性や変異蓄積箇所などのバイオインフォマティクス解析等の初期解析を行った。その結果今回の開発では、T 細胞ワクチン抗原と B 細胞ワクチン抗原を組み合わせることで A 型および B 型インフルエンザウイルスの両方を標的にしたユニバーサルワクチン開発が可能であると判断した。この初期解析結果を踏まえ、その後より詳細な *in silico* 解析を行った。

T 細胞エピトープ解析

ユニバーサル T 細胞ワクチンをデザインするためには、1) 様々な HLA に対応した T 細胞エピトープを多数含めること、2) ウイルス変異株に対しても、これらエピトープが存在することを踏まえる必要がある。本研究開発では、この 2 つの要件を兼ね備えたウイルスタンパク質領域をホットスポットと定義し、複数の株に共通して保存されるホットスポットの同定を行った。次にそれぞれのホットスポットがどの程度のウイルス株をカバーできるかその網羅性を計算し、広汎な A 型インフルエンザウイルス株に共通するホットスポット、および B 型インフルエンザウイルスに共通するホットスポットを多数同定する事ができた。また A 型及び B 型インフルエンザウイルスに共通して保存されるエピトープも存在する事が確認できた。

T 細胞ワクチンにおいては、異なるウイルス株を標的にするホットスポットを組み合わせる事で汎用性を高める事が可能である。また各ホットスポットが対象とする HLA の種類および HLA の頻度に基づいて、ワクチンの人口カバー率の計算も可能である。上記解析でリストアップしたホットスポットの中から、ウイルスのカバー率および人口のカバー率の高いホットスポットの組み合わせ候補を選択し、次の検証実験に取り組んだ。

T 細胞エピトープの検証実験

in silico 解析より選択した複数のホットスポットから T 細胞エピトープのペプチドを合成、ホットスポットごとにペプチドプールを用意し、ELISPOT 解析を用いて免疫原性を検証した。この検証ではインフルエンザウイルスの感染歴をもつヒト PBMC を用いて、準備したペプチドプールに対する反応性を評価した。その結果、今回予測したホットスポットには、人種や HLA 型の異なる複数の PBMC サンプルにおいても T 細胞を活性化するエピトープが複数存在していることを確認した。以上の検証結果より、これらのホットスポットの組み合わせを最適化することでユニバーサル T 細胞ワクチン設計が可能であることを実証した。

B 細胞エピトープ解析

当社は、タンパク質のアミノ酸配列から 3 次元構造を予測し、抗体のエピトープとなる構造を高精度で予測できる技術を開発した。ユニバーサル B 細胞ワクチンの開発においては、複数のウイルス株に対して有効なエピトープ領域を同定し、抗原をデザインすることが重要である。そこで、当社のエピトープ予測技術を活用して複数の HA タンパク質を解析し、エピトープ領域の *in silico* スクリーニングを行った。次に、これらエピトープ領域の相同性や変異頻度、さらに抗原としての妥当性を検討し、ユニバーサルワクチン抗原として有効な領域を選定した。その後、選定したエピトープ領域を組み合わせ、独自の HA 抗原を、構造シミュレーション技術等を用いて設計した。設計した HA 抗原は、続く検証実験にてその免疫原性を評価した。

B 細胞エピトープの検証実験

デザインした抗原候補の中から 3 つを選定し、これらの抗原をコードする mRNA-LNP を作製した。まず、これらの mRNA-LNP を HEK293 細胞に導入し、ワクチン抗原のタンパク質発現を検討した。その結果、発現量にばらつきはあったものの、設計した HA 抗原が発現していることを確認した。

次に、これらのワクチンをマウスに 2 回投与し、最終投与の 2 週間後に血清を回収した。回収した血清を用いて、異なる複数の HA タンパク質に対する抗体価の測定と、インフルエンザウイルス種に対する中和抗体測定実験を行い、ユニバーサルワクチンとしての抗原性の検証を実施した。抗体価については一部のワクチン抗原において、異なる種類の HA に対して抗体産生を誘導できることが確認された。一方で、中和抗体価については作製したワクチン抗原では十分な活性を誘導するに至らなかった。本検証によってワクチン投与方法、抗原の局在、発現などが改善点として考察された。その中の一つである抗原の発現を改善するために、再度構造シミュレーションを行い、免疫原性には影響を与えずにタンパク質構造を安定化させるアミノ酸配列の置換を行い、改良型の HA 抗原を再設計した。

考察

今回の研究結果より、T 細胞ワクチンについてはユニバーサルワクチンが設計可能であると判断できた。また計算により T 細胞ワクチンのホットスポット領域を精度よく同定できた事は、パンデミック時に 100 日以内にワクチンを届ける「100 days mission」のような緊急対応において、極めて重要であると考えている。一方で、感染症に対する T 細胞ワクチンは現在のところ承認されたものが存在しないため、有効性を評価するための非臨床及び臨床開発プロセスの定義が、今後の重要な課題として挙げられる。

B 細胞ワクチンにおいては、更に計算と実験による検証のサイクルを回し相互の結果をフィードバックする事が、ユニバーサルワクチン設計の鍵となると考えられた。

現在、ユニバーサルワクチンの開発は主に B 細胞ワクチンを中心に世界中で進められているが、ユニバーサルワクチン設計の手法およびその評価系はまだ確立されていない。本研究開発において、計算技術を活用することで広汎なウイルス株に有効なワクチン抗原デザインが可能であることの一端を証明することができた。特に、ビックデータの解析や有効な配列の迅速な同定、組み合わせ最適化などの点で計算科学を活用するメリットは大きい。一方で、免疫応答は非常に複雑な過程であり、様々な細胞が時空間的に相互作用して形成される。その為、計算技術によっていまだ予測できない事象も存在する。今後は計算技術と免疫学的実験を効率的に組み合わせ、ユニバーサルワクチン研究開発に取り組むことが不可欠である。

Research Objective

mRNA vaccines have opened the door to the development of universal vaccines, offering possibilities that traditional virus-based vaccine approaches may not achieve. However, identifying immunogenic epitopes from viral proteins through conventional laboratory studies is often prohibitively time-consuming and expensive. Consequently, AI has emerged as a valuable tool to predict these candidates in a significantly accelerated manner. Additionally, computational analysis can encompass both human-infectious and non-human-infectious viruses, making this approach highly effective for preparation against future pandemics.

NEC Corporation (NEC) has developed proprietary technology for predicting T-cell and B-cell (antibody) epitopes and designing vaccines using AI and other computational science technologies. This vaccine design technology aims to achieve two main objectives: the establishment of a methodology for designing universal vaccines and the reduction of vaccine development time and costs.

In this study, we conducted *in silico* analysis of influenza virus protein sequence data to assess T-cell and B-cell epitopes, identifying epitope regions conserved across a wide range of strains. We then evaluated whether the selected epitopes for T-cell vaccines or the designed B-cell vaccine antigens containing multiple conserved epitopes could induce an immune response.

Major Achievements in This Project

To design universal T-cell vaccine antigens, we searched for highly conserved immunogenic regions effective against multiple HLA haplotypes, defining these viral protein regions as “hotspots”. As a result, we identified hotspots that are conserved across multiple strains. Some of those hotspots were found in a wide range of influenza A virus (IAV) strains, while others were conserved well in influenza B (IBV) strains. Although no hotspot covered both IAV and IBV, we found minimal epitopes conserved in them. To validate the immunogenicity of these hotspots, we designed peptide pools derived from multiple hotspots for ELISPOT assays. Using human PBMCs previously infected with influenza virus, we confirmed that the predicted hotspots effectively stimulated PBMC samples from multiple populations and HLA haplotypes. From these findings, we concluded that it is feasible to design universal T-cell vaccines by optimizing the combination of these hotspots.

For universal B cell vaccine antigens, it is crucial to design antigens by identifying immunogenic sequences effective against multiple virus strains. Utilizing conformational B-cell epitope prediction technology developed by NEC group, we predicted conserved conformational epitopes among HA variants. We then analyzed the homology and mutation frequency of these regions to identify immunogenic regions for universal vaccine antigens. Based on these analysis results, we designed vaccine antigens intended to be effective against multiple mutant strains and types of HA proteins. The final candidate antigens were selected after evaluating their stability and other properties using *in silico* analysis techniques such as structural simulation. These vaccine candidates were then evaluated through animal immunization experiments, confirming that some antigens could induce antibody production against different types of HAs. However, these vaccines were insufficient to

induce neutralizing activity against the target viruses. These results suggest that to create more effective B-cell vaccine antigens, it is necessary to explore antigen design and administration methods that enhance the immunogenicity of the epitopes and the vaccine antigen itself.

Discussion

Currently, the development of universal vaccines is being pursued worldwide, primarily focusing on B-cell vaccines, but universal vaccine design methods and the evaluation systems have not yet been fully established. In this research, we demonstrated that it is possible to design effective vaccine antigens for a wide range of virus strains by utilizing AI and computational science technology. These technologies offer significant advantages in big data analysis, identification of immunogenic sequences, and combinatorial optimization. Since the immune response arises from the spatiotemporal interactions of various cells, there are still events that computational technology cannot completely predict. In the future, we aim to advance universal vaccine research and development by efficiently integrating computational science and immunological experiments.

[ここまでを総括報告として AMED のホームページに掲載](#)