

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 新興・再興感染症に対する画期的な新規ワクチン開発および実用化に関する研究
2. 研究開発代表者： 阿戸 学
3. 研究開発の成果

我が国で社会的要請が高いが、ワクチンが実用化されていないウイルス感染症に関して、感染研のもつウイルス様粒子 (VLP) を中心としたワクチンシーズと基盤研のもつ核酸アジュバントライブラリーを組み合わせ、実用化に向けてプロジェクトを推進する。各研究で蓄積される科学的知見および技術を共有し、アジュバントを含めた各感染症の特性に最適なワクチンデザインを選択する。橋渡し研究をスムーズに行うために、ワクチンメーカー、感染研、基盤研で開発プラットフォームの構築を目指す。

ノロウイルスは、毎年異なる遺伝子型が流行する。培養で効率よく増殖させることができず、モデル動物も存在しない。ヒトノロウイルス GI.1<sup>9</sup>, GII.1<sup>22</sup> の VLP の作製が完成し、それぞれを特異的に認識するモノクローナル抗体の作製を順次行った。また、リバーシジェネティックスの手法を利用した弱毒化生ワクチンの開発に関して、ヒトノロウイルス、近縁のネズミノロウイルスの増殖を細胞内で確認可能なコンストラクトを開発。また、力価試験法の候補となるヒト抗体 VLP 結合阻害試験を確立した。

免疫原性の弱い H7N9 ワクチン実用化のため、バイオインフォマティクスの手法によりヒト免疫原性を改善するために最適な H7 アミノ酸一次配列をデザインした。この配列をもとに、変異型 H7 ヘマグルチニンタンパクでヒト免疫応答を再現するヒト化マウスモデルに免疫すると、免疫原性の改善に成功した。本ワクチンにより惹起する抗体の一部は、ヘマグルチニンシステム部分という典型的な中和抗体とは異なる抗原領域を認識しており、H7 未暴露のヒトでは、この部位に結合する抗体の誘導により、感染防御効果が期待された。

世界中で最も開発が進展しているキメラ弱毒 Dengue ウイルスワクチンは、遺伝子組み換え生物であり、先進国では認可が難しい。この欠点を克服した Dengue ウイルス VLP を哺乳動物由来細胞を用いて大量合成/精製することに成功し、さらに、VLP ワクチンがマウス動物実験でウイルス中和抗体を誘導することを示した。また、妊娠マウスにワクチンを接種し、母体移行抗体を通じた実験系の構築にも成功した。今後、予防効果の実証予定である。

インフルエンザワクチンのカバー範囲が狭く、毎年接種が必要という問題を解決するため、ウイルスの保存性の高い部分を組み込んだ VLP の作製条件の検討と免疫学的特性の解析を実施した。植物細胞発現系を用いて、12 種のバキュロウイルスベクターを構築、大量生成可能な VLP 作製条件を特定し、VLP ワクチンはマウスモデルで高い有効性を示した。今後、アジュバントによる効果増強を検討する。

不活化 RSV ワクチン接種後 RSV に感染すると、過剰な Th2 免疫応答を誘導し喘息様細気管支炎が重症化するため、実用化ワクチンはない。不活化 RSV ワクチン後 RSV 感染させ、RSV ワクチン後アレルギー反応モデルマウスを確立し、Th2 応答を強力に誘導する Gas6/Ax1 シグナルを遮断することによって、ワクチン接種に伴うアレルギー反応を回避することに成功した。今後、これらのシグナルを回避することにより、RSV に対する安全で有効な新規ワクチンの開発を目指す。

免疫応答の修飾因子である粒子の大きさや形状を自由に变化させる事ができる金ナノ粒子にアジュバントとインフルエンザ HA 抗原を結合させたワクチンを作製することに成功し、その効果についてマウスを用いた免疫原性試験により明らかにした。今後、さらに効率の良いナノ粒子ワクチンの作成を試みる。

自然免疫系の遺伝子を欠損し、効率良く生ワクチンが増殖する製造用培養細胞を作出する。ヒト iPS 細胞に対して効率よく CRISPR/Cas9 システムを作用させる方法を整備し、Tic 細胞をベースにした MAVS ノックアウトクローンを取得した。I 型インターフェロン遺伝子群、STING 遺伝子については PCR により改変効率を確認済みであり、これらの遺伝子を欠損した改変細胞のクローニングを行っている。