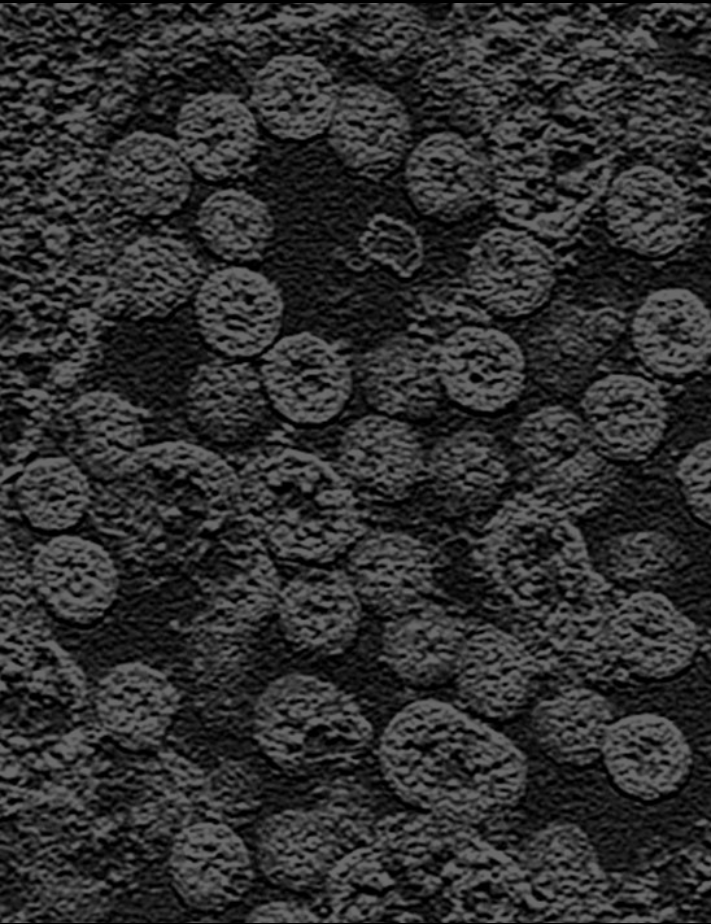


非増殖型「半生ウイルス」を基盤とした
新型コロナウイルスの研究開発
遺伝子欠損変異エボラウイルスを用いた
ワクチンの開発研究

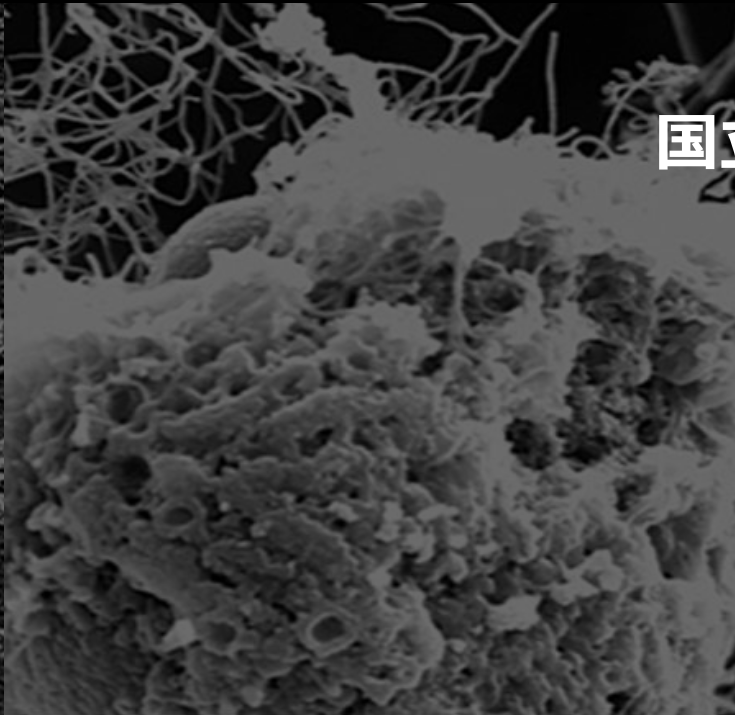
東京大学 UTOPIA
特任教授 河岡 義裕

新型コロナ, エボラウイルス病, 季節性インフルエンザワクチンの開発

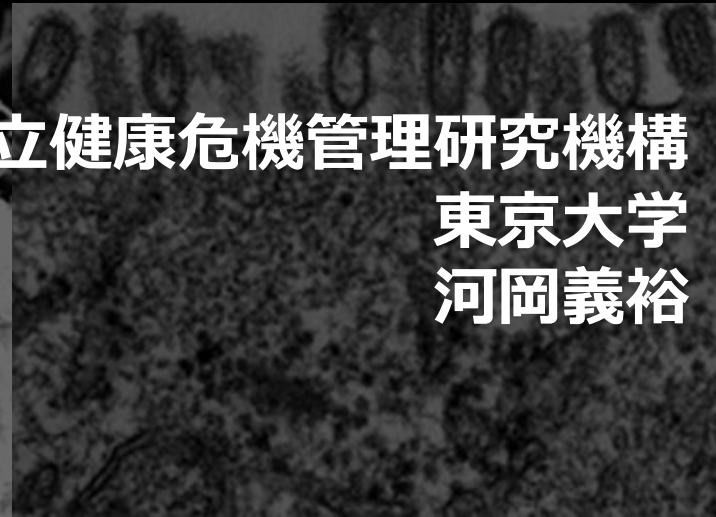
国立健康危機管理研究機構
東京大学
河岡義裕



SARS-CoV-2

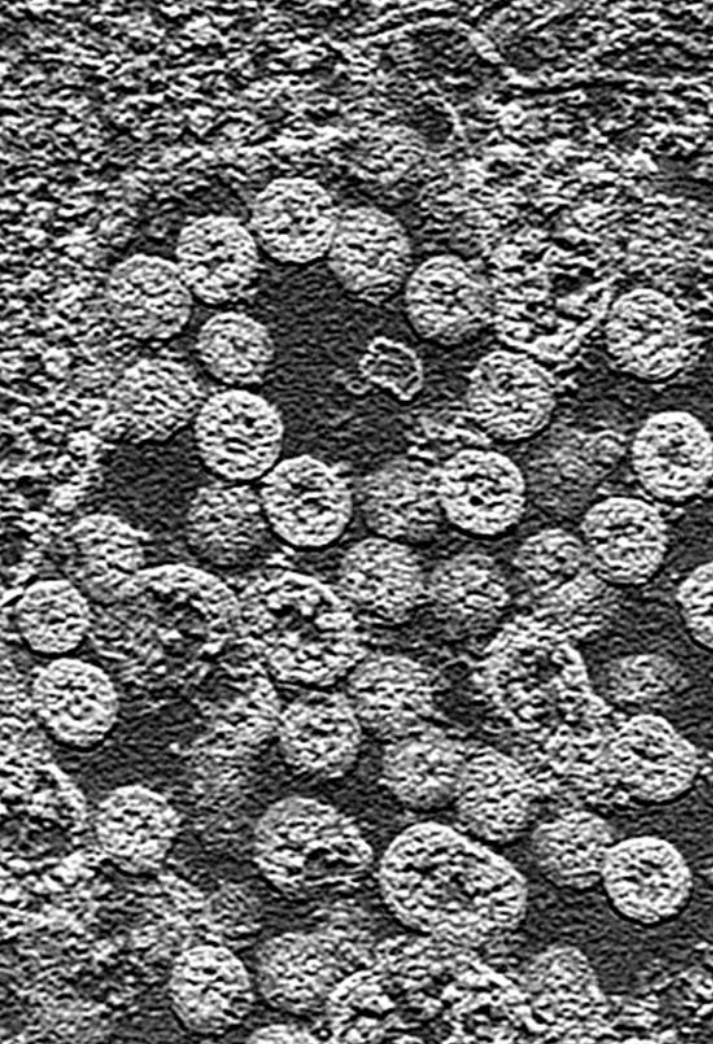


Ebolavirus

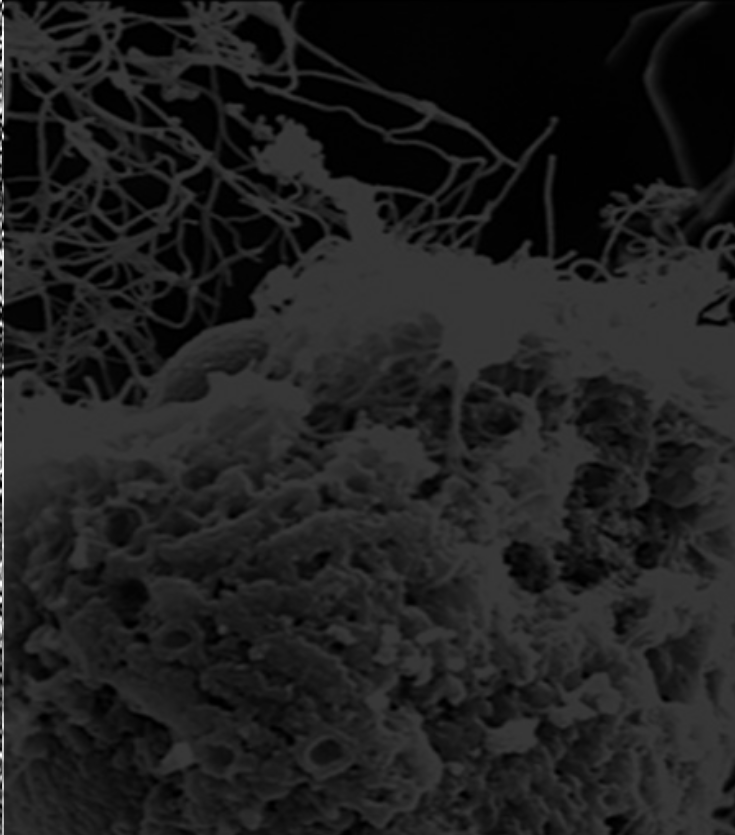


Influenzavirus





SARS-CoV-2



Ebolavirus



Influenzavirus



既存のCOVIDワクチン（mRNAやウイルスベクターワクチン等）

- 血中にスパイク蛋白質特異的抗体を誘導する
- 鼻粘膜における免疫誘導は不十分

➡ 重症化は予防するが、感染防御は不十分



経鼻接種により鼻粘膜における免疫誘導が可能な
新規モダリティワクチンとして、「**半生ワクチン**」を開発

経鼻ワクチン開発の重要性が世界中で注目されている。

既存のワクチン：

肺でのウイルスの増殖は抑えるが、鼻での増殖抑制効果に限界

Science Immunology

EDITORIALS

Operation Nasal Vaccine—Lightning speed to counter COVID-19

Eric J. Topol^{1*} and Akiko Iwasaki^{2, 3*}

Intranasal COVID-19 vaccines: From bench to bed

Aqu Alu,¹ Li Chen,¹ Hong Lei Yuquan Wei Xiaohu Tian,* and Xiawei Wei*

eBioMedicine 2022;76:
103841

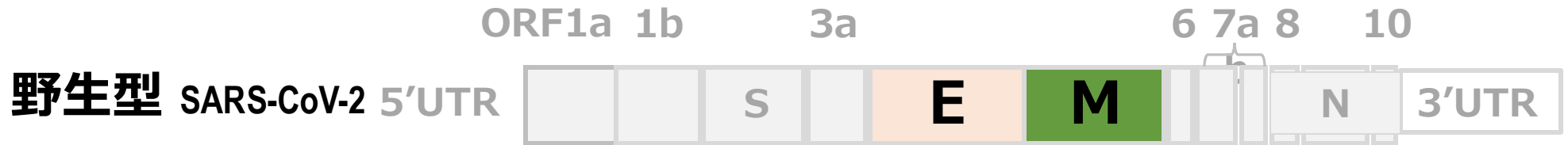
Human Vaccines & Immun

Laboratory of Aging Research and Cancer Drug Target, State Key Laboratory of Biotherapy and Cancer Center, National Clinical Research Center for Geriatrics, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

COVID-19 intranasal vaccines: current progress, advantages, prospects, and challenges

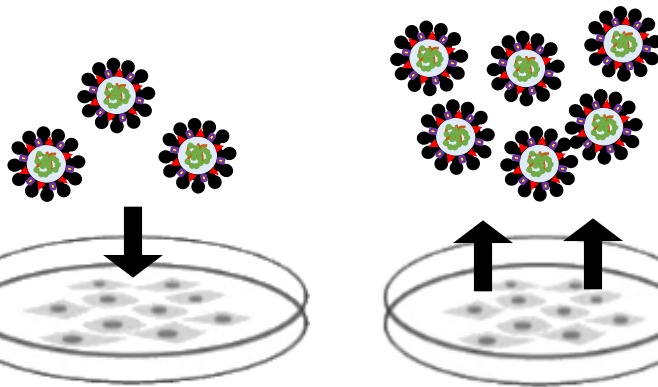
Kuldeep Dhama, Manish Dhawan, Ruchi Tiwari, Talha Bin Emran, Saikat Mitra, Ali A. Rabaan, Saad Alhumaid, Zainab Al Alawi & Abbas Al Mutair

半生ウイルス: 増殖に必要なウイルス蛋白質を欠損しているウイルス



野生型ウイルス

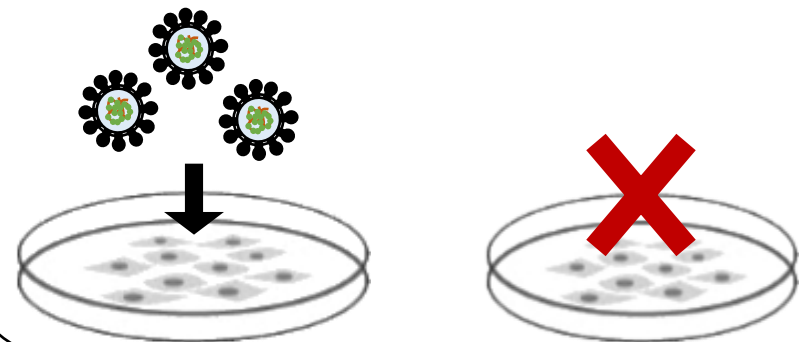
侵入 感染性子孫ウイルスを産生



半生ウイルス

侵入は可能

感染性子孫ウイルスは
産生されない



半生ワクチンの特徴・利点

	mRNA	ウイルスベクター	サブユニット	不活化	弱毒生	半生
細胞性免疫	○	○	△	△	○	○
粘膜免疫	△	△	×	×	○	○
複数回投与	○	×	○	○	○	○
標的蛋白質	スパイク（S）蛋白質			S蛋白質+その他構造蛋白質		
アジュバント	不要	不要	必要	必要	不要	不要
安全性	高い	高い	高い	高い	病原性復帰のリスクあり	高い

- 粘膜免疫を誘導できる
- Sタンパク質以外のウイルス蛋白質に対する免疫も誘導
- 上記2点を可能とする生ワクチンよりも安全性が高い

他のモダリティとの比較

免疫応答

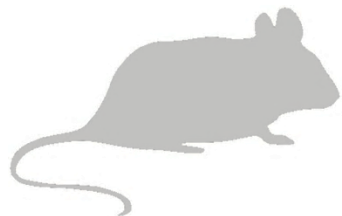
Mock (経鼻投与; メディウム)

mRNAワクチン (起源型) (筋肉内投与; **3 μ g**, **0.3 μ g**)

全粒子不活化ワクチン (起源型) (筋肉内投与; **3 μ g**+アラム, **0.3 μ g**+アラム)

Δ EM ウイルス (起源型) (経鼻投与; **10⁴PFU**)

↓ **2回投与**



hACE2-Tgマウス

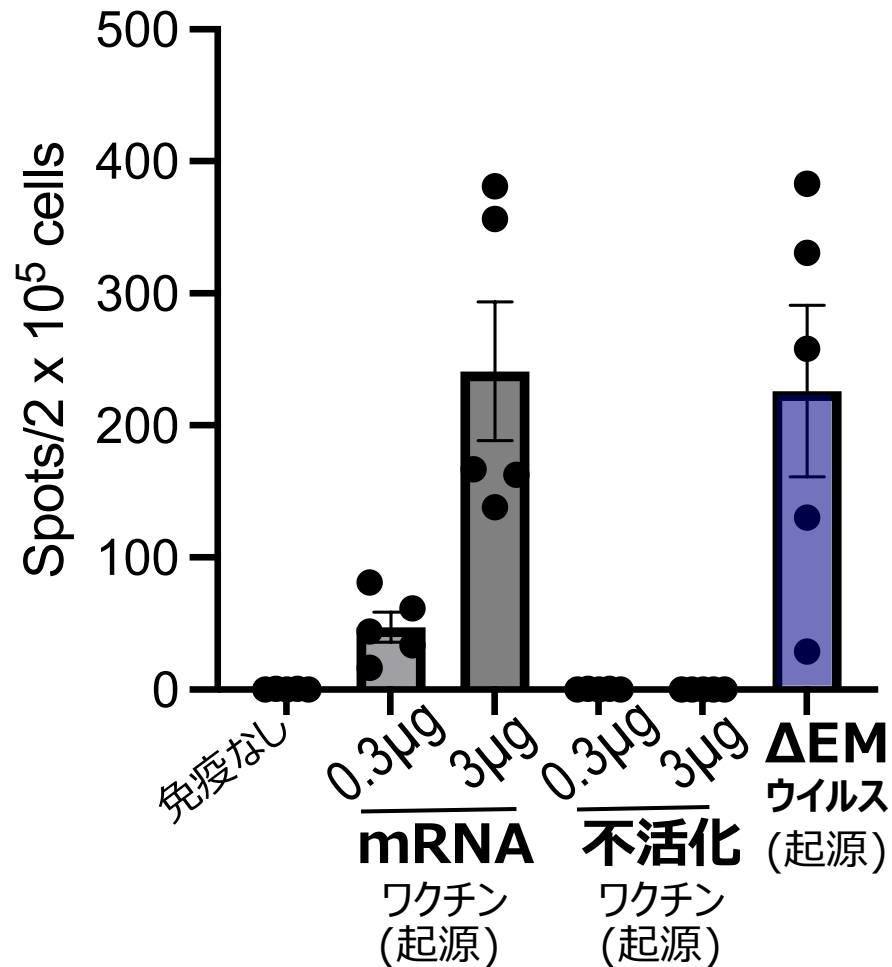
2週間



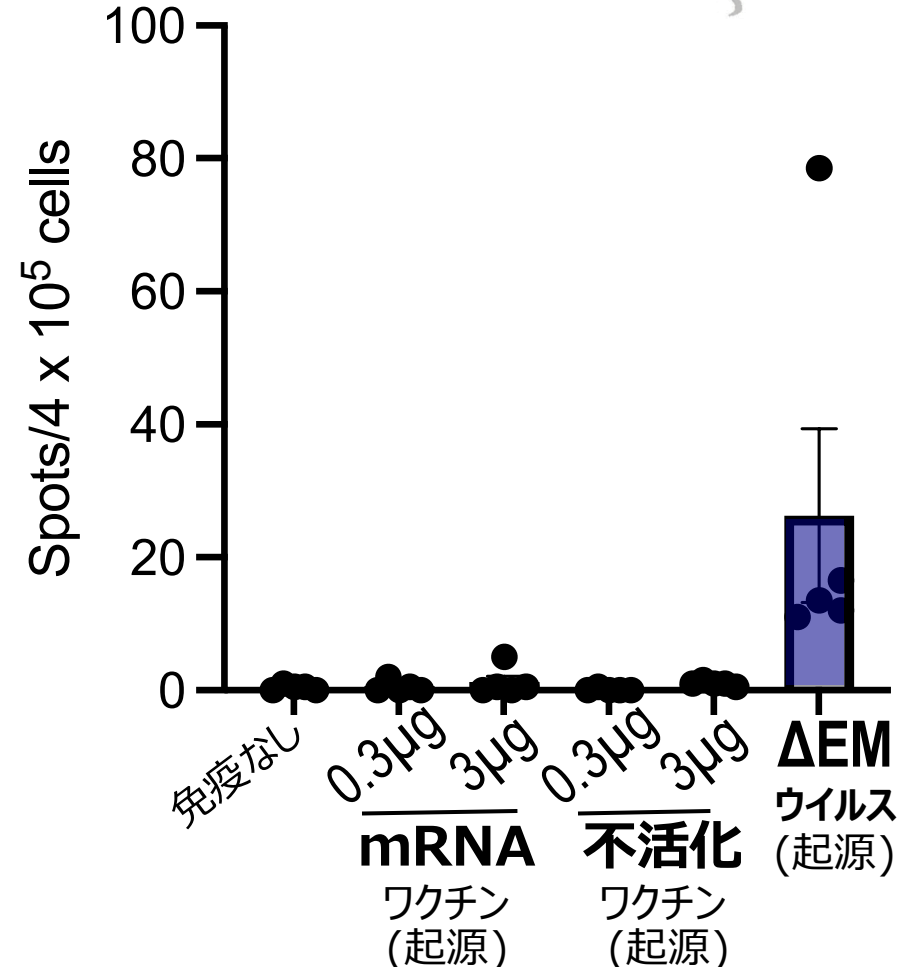
細胞性免疫測定
抗体価測定

他のモダリティとの比較

S 蛋白質に反応する T 細胞



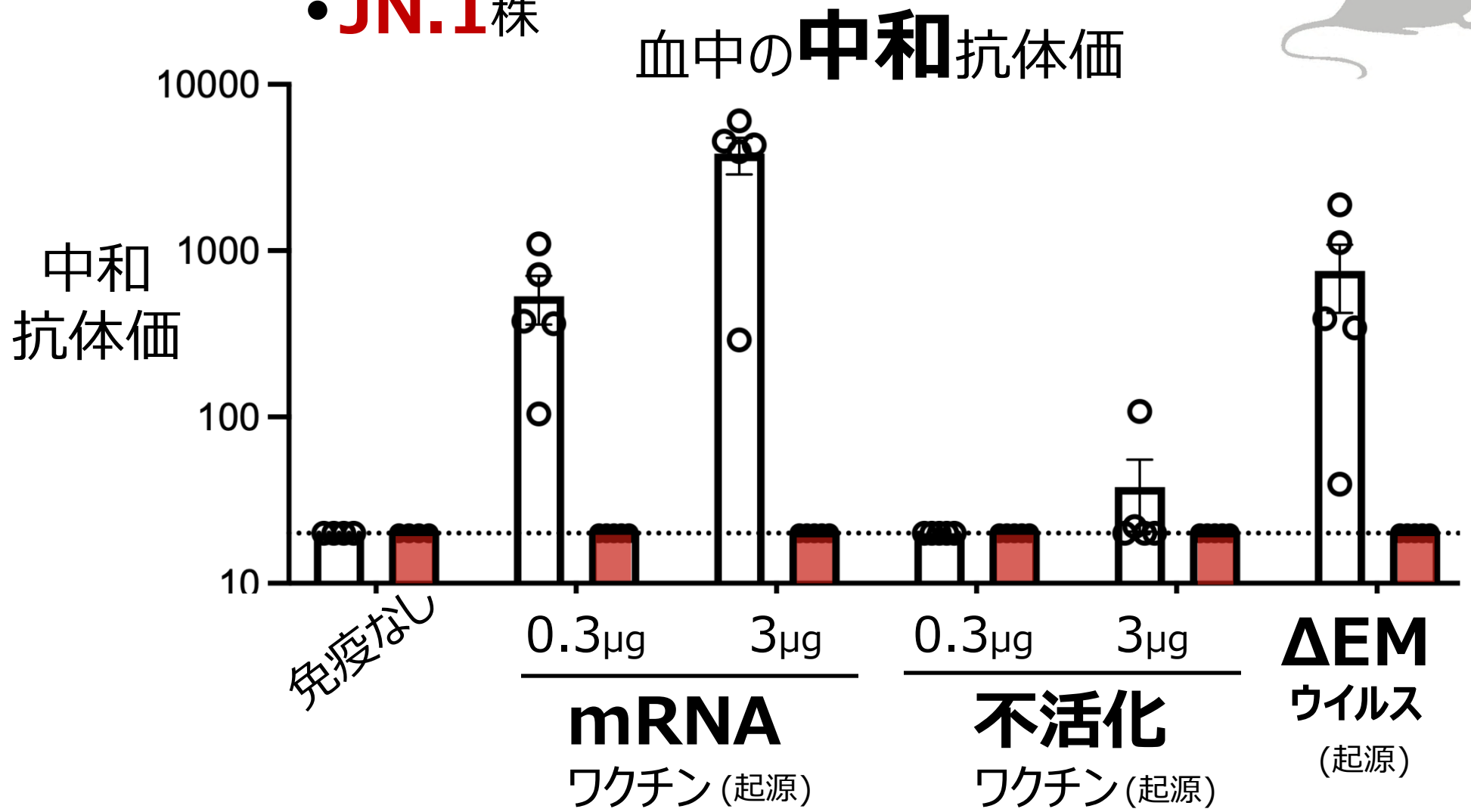
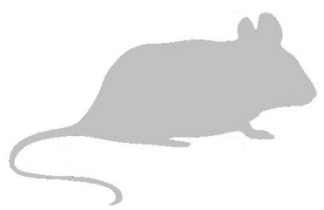
N 蛋白質に反応する T 細胞



ΔEM ウイルスは他のモダリティでは誘導されない N 蛋白質に対する T 細胞応答も誘導.

他のモダリティとの比較

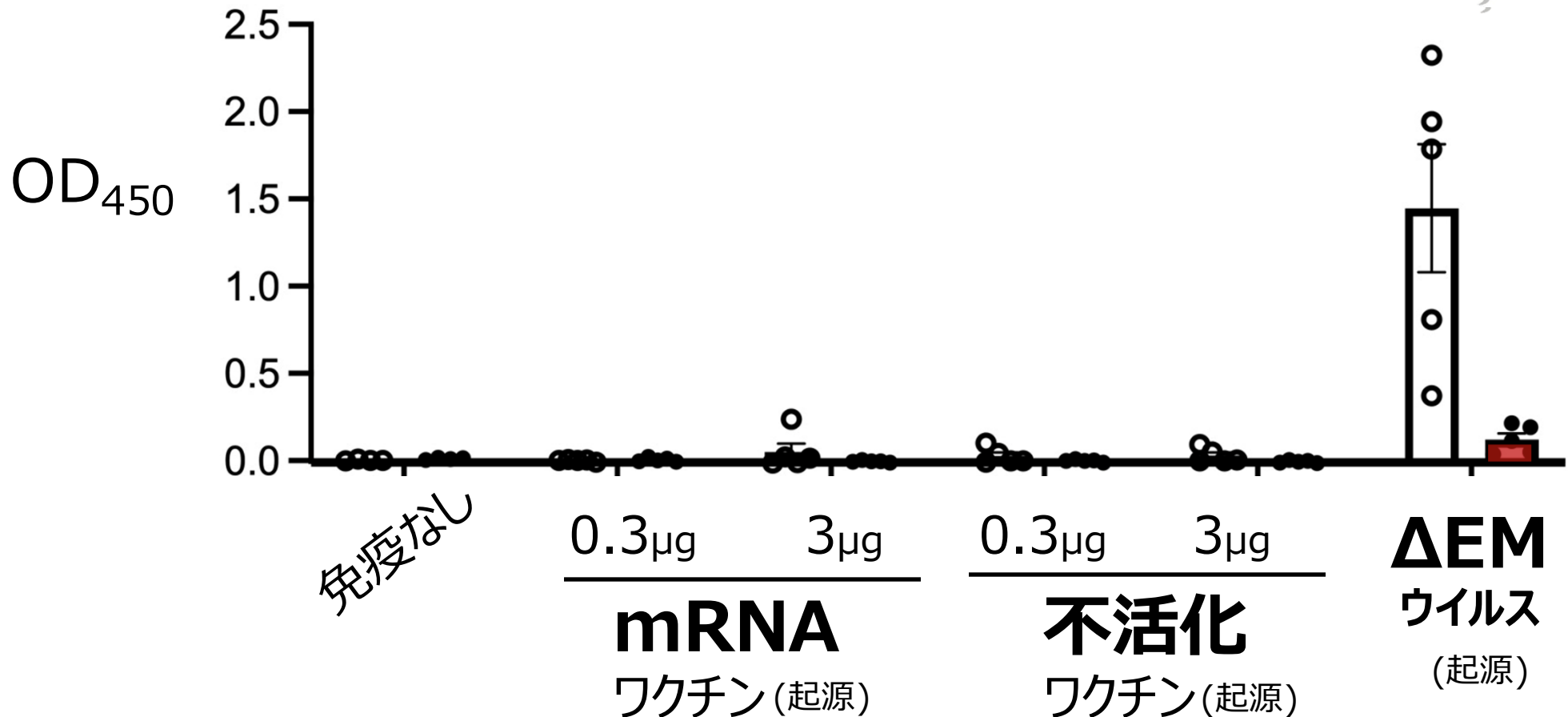
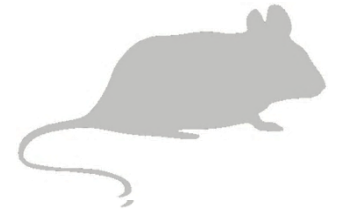
- 起源株
- JN.1株



他のモダリティとの比較

- 起源株
- JN.1株

肺胞洗浄液中のIgA抗体価



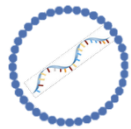
ΔEMウイルスは、他のモダリティでは誘導されない**IgA**も誘導した.

他のモダリティとの比較

ウイルス攻撃試験

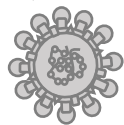
mRNAワクチン
(起源)

0.3 μ g or 3 μ g



不活化ワクチン
(起源)

0.3 μ g or 3 μ g
+アラムアジュバント



Δ EM ウイルス
(起源)

10,000 PFU



2回投与

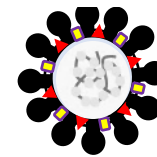


hACE2-Tgマウス

2週間



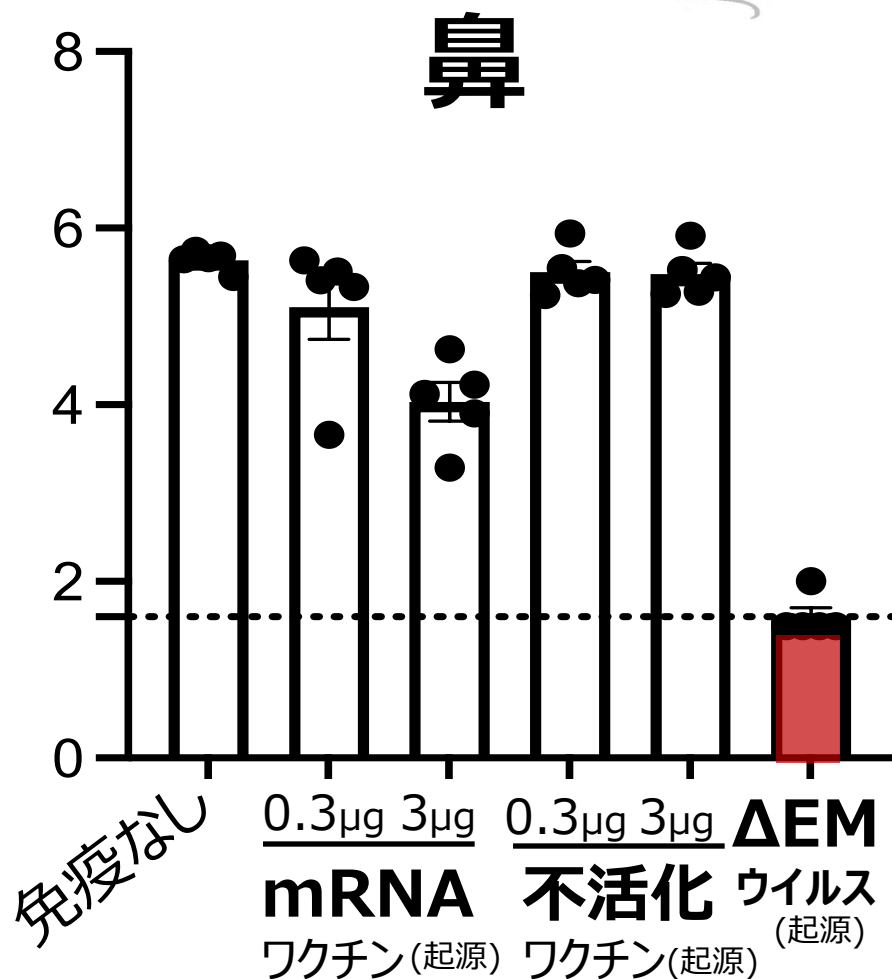
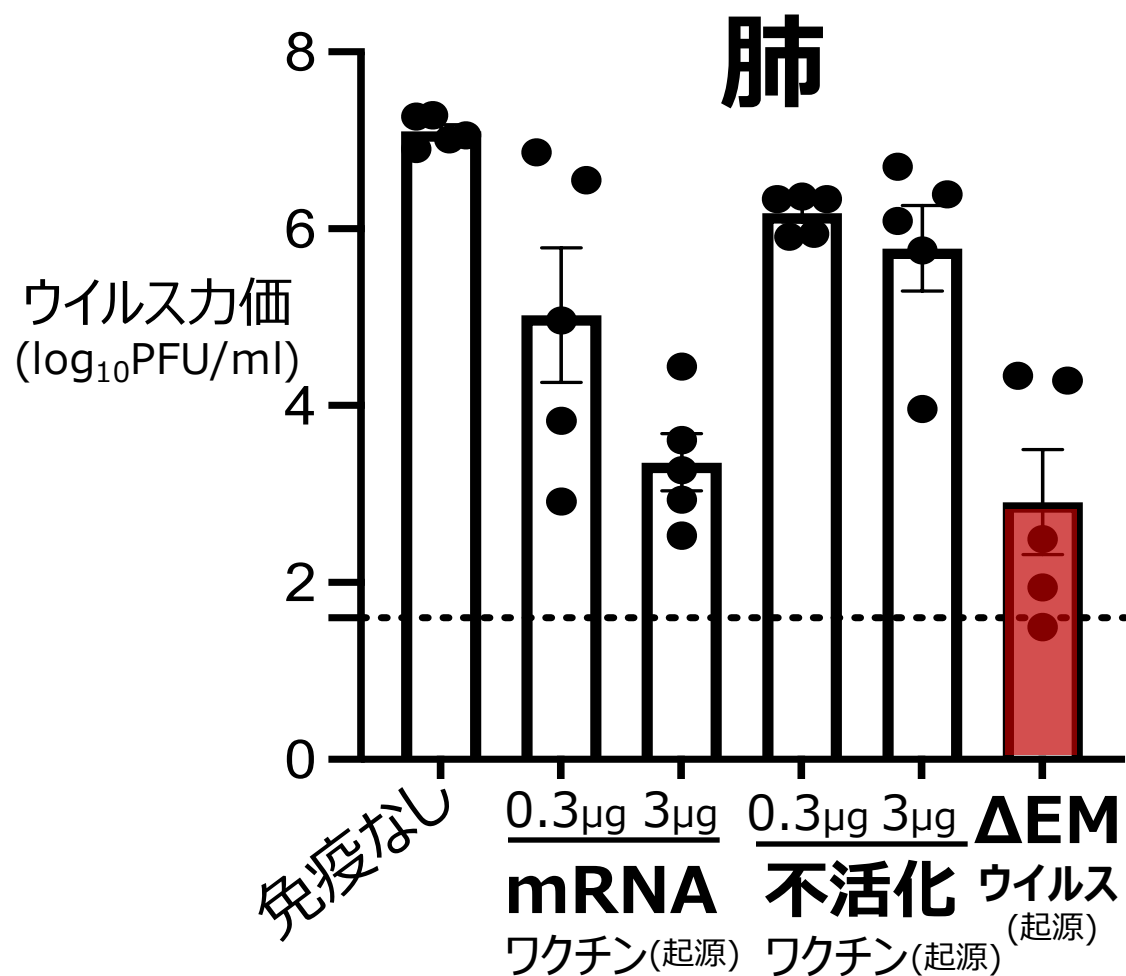
JN.1株



感染3日後
ウイルス量

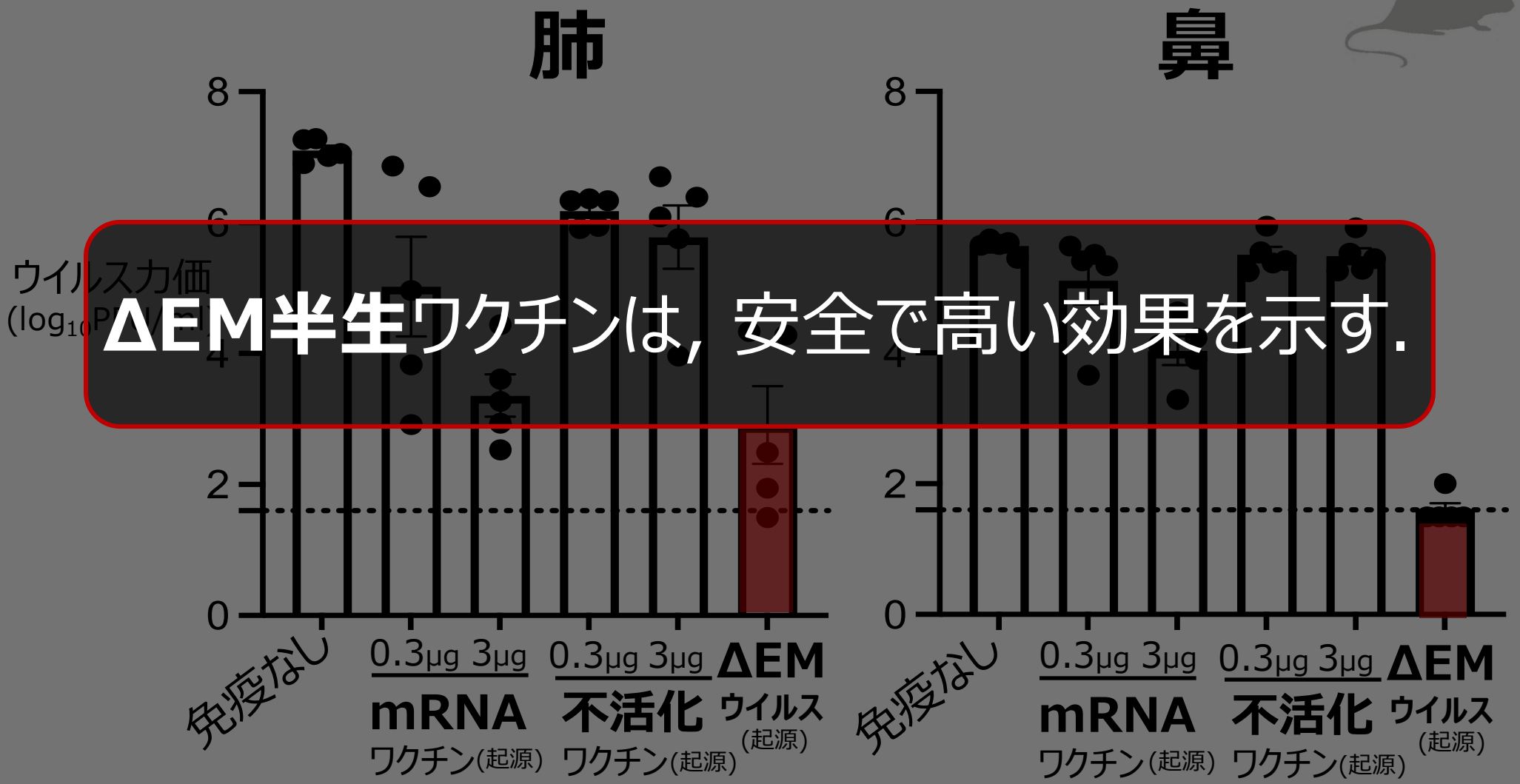
他のモダリティとの比較

ワクチン株とは抗原性の異なるウイルスによる攻撃後のウイルス価



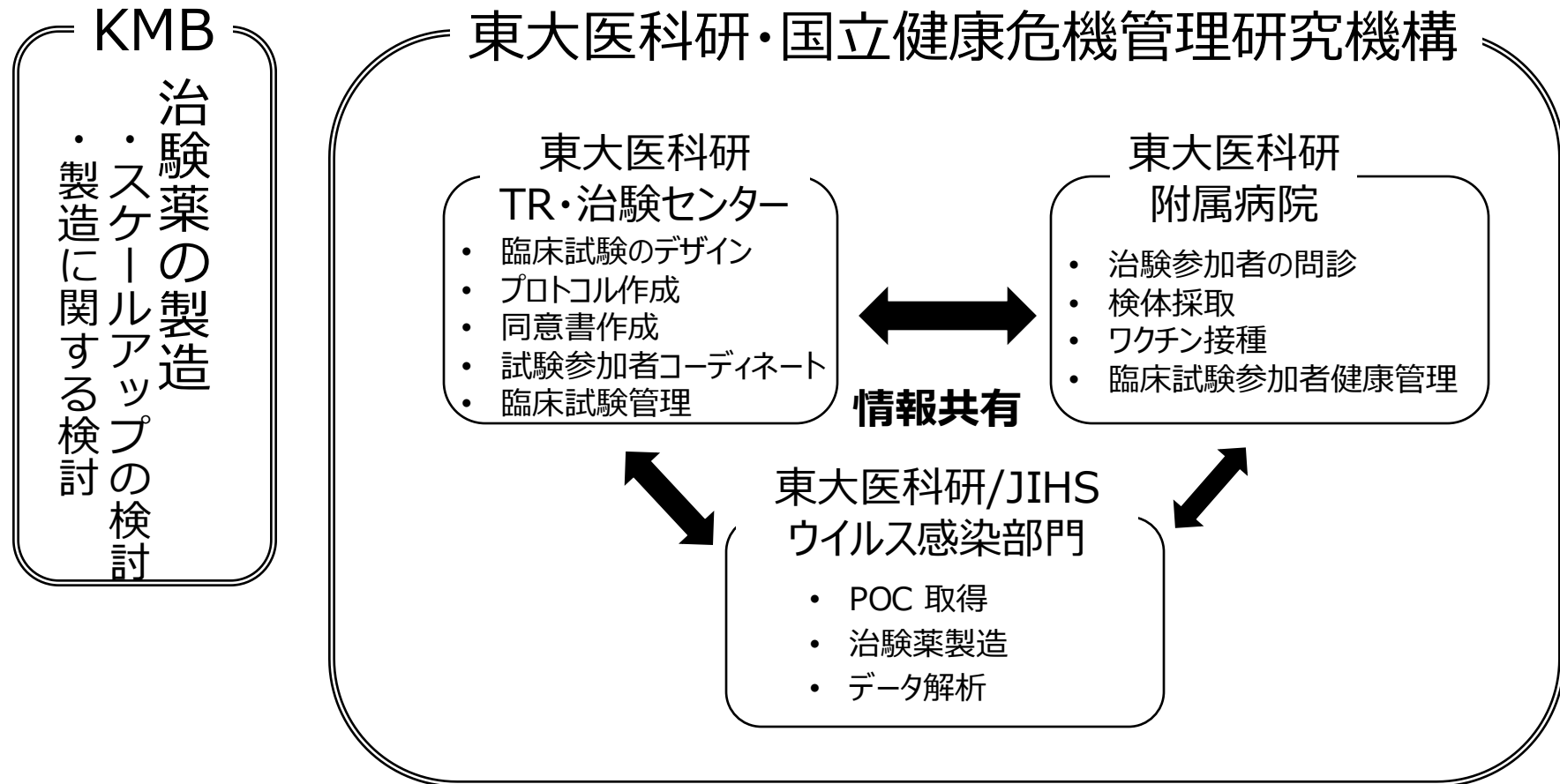
ΔEMウイルスは、他のモダリティよりも**呼吸器**、特に**鼻**での**増殖性を抑制**

他のモダリティとの比較



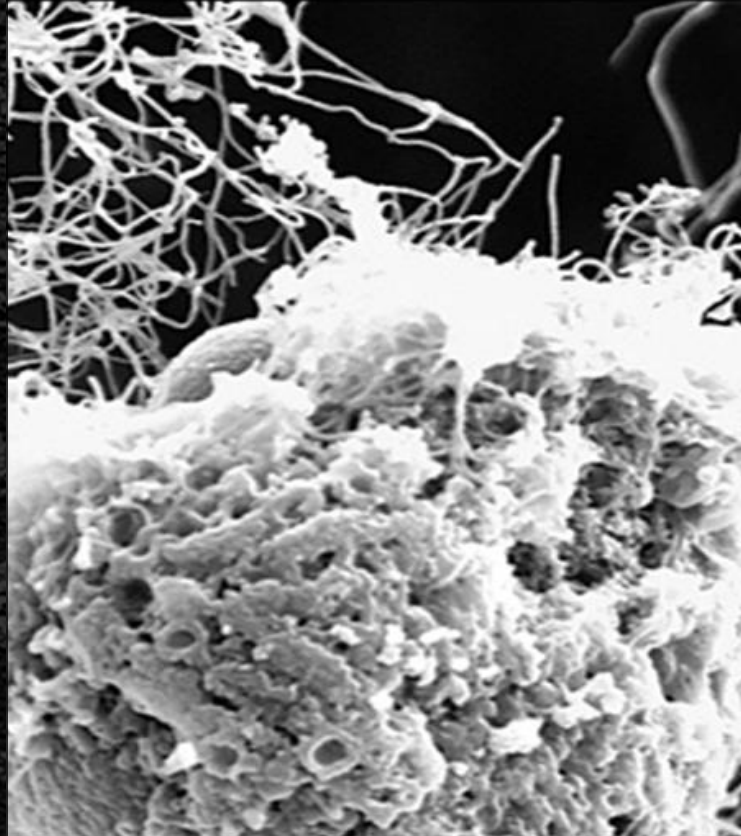
ΔEMウイルスは、他のモダリティよりも**呼吸器**、特に**鼻**での**増殖性を抑制**

研究体制

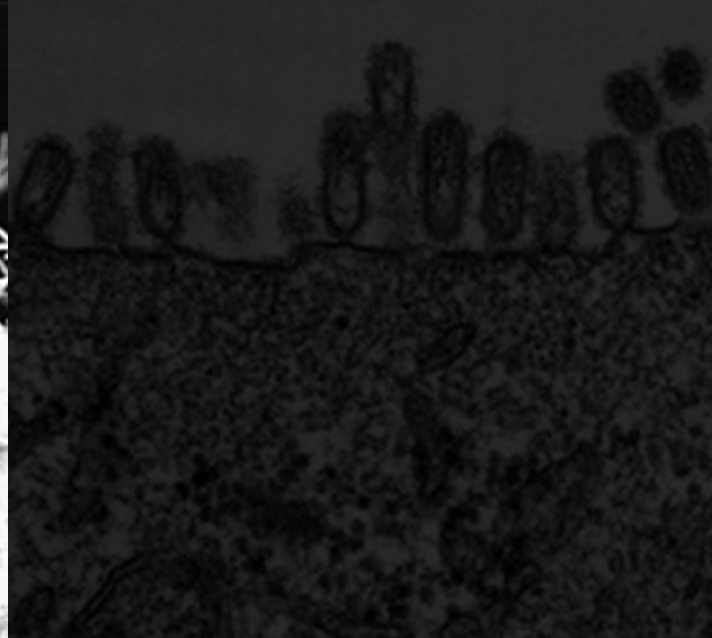




SARS-CoV-2



Ebolavirus



Influenzavirus



エボラ出血熱について

- 急性熱性疾患であり、その病原性は極めて高く、致死率50～**90%**を示すウイルス種もある。
- オルソエボラウイルスには**抗原性の異なる6種**のウイルスが存在¹。
- 最近では、**ザイール**エボラウイルスが西アフリカやコンゴ民主共和国等で流行を起こし、**スーダン**ウイルスがウガンダで流行を起こした。
- ザイールエボラウイルスに対する**2種類**の**ワクチン**が海外で**承認**²されたが、安全性や製造効率等に懸念が残る。



1) <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/ebola-virus-disease>

2) <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/ebola-vaccines>

承認されているエボラワクチンとそれらの問題点

❖ rVSV-ZEBOV-GPワクチン (メルク)

- **VSVベクターにザイールエボラウイルスのGP遺伝子を挿入.**
- 1万名規模での臨床試験で効果が認められたが、生のウイルスベクターを利用しているため、重篤な副反応が80名で認められ、そのうち2名はワクチンが原因と判断. (Henao-Restrepo et al., 2017, Lancet 389: 505-518)
- 2019年12月にFDAで承認されたが、**安全面に不安が残る.**

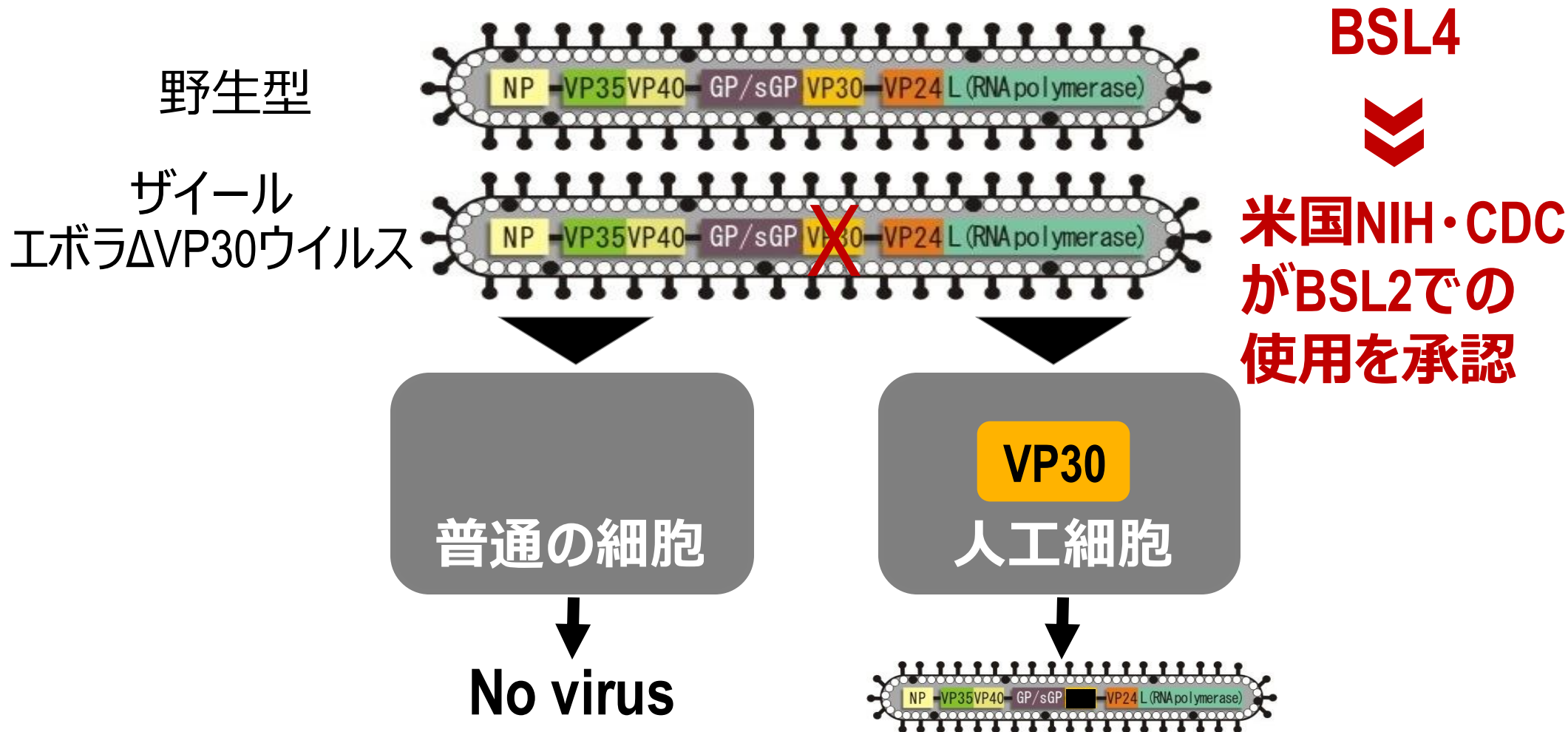
❖ Adeno & MVAワクチン (Johnson & Johnson)

- **異なる2種類のウイルスベクター** (Ad26.ZEBOVとMVA-BN-Filo) を用いたプライム・ブースト法により、持続性のある免疫を誘導する.
- 2020年7月にEUで承認されたが、2種類のワクチンを製造するため、**製造コストは高い.**

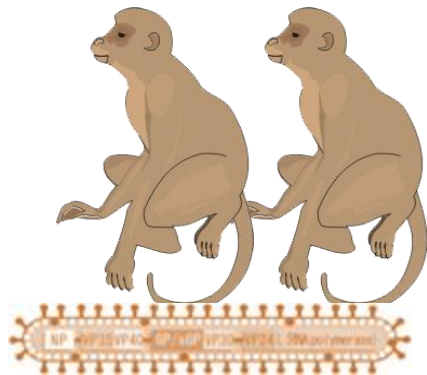
安全で効果的なエボラワクチン開発

研究の経緯：エボラΔVP30ウイルスの作出

- ❖ 独自開発したエボラウイルスの遺伝子組換え技術を用いて、ザイールエボラΔVP30ウイルスを作出。

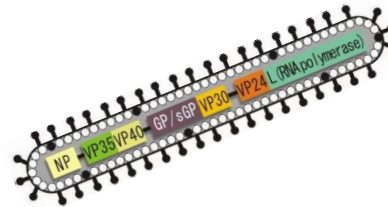


研究の経緯：エボラΔVP30ウイルスのワクチン効果の評価試験

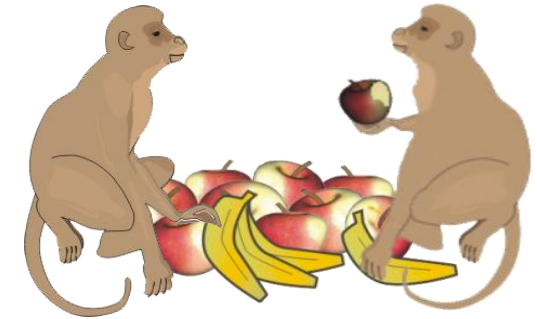


不活化エボラΔVP30

- 過酸化水素処理
- 2回免疫



致死量の**ザイール**
エボラウイルスの攻撃



無症状

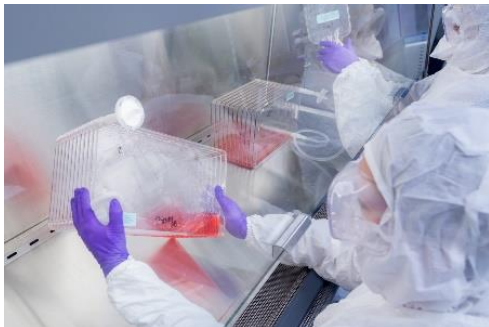
サルモデルで、不活化したエボラΔVP30ウイルスの
ワクチンの有効性（感染防御効果）を証明

Marzi et al., Science, 2015

研究の経緯：臨床研究用エボラΔVP30ウイルスワクチンの製造

GMP条件下でのワクチン製造

米国ウイスコンシン大学
Waisman Center
Biomufacturing



BSL2



- 日本の治験薬GMPに準拠していることを確認
- β プロピオラクトンで不活化



日本へ輸入

エボラワクチン

‘iEvac-Z’

Inactivated Ebola Vaccine Zaire



**非臨床試験、第Ⅰ相試験を
日本で実施（2019～2022年）**

研究の経緯：エボラワクチンiEvac-Zの第I相臨床試験

東京大学
医科学研究所
附属病院

- 4週間間隔で
2回筋肉内投与
(**アジュバント無し**)

第1コホート

iEvac-Z



低用量



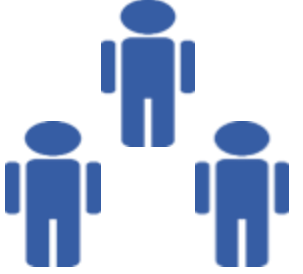
15人の被験者

第2コホート

iEvac-Z



高用量



15人の被験者

健康成人男性におけるエボラワクチンiEvac-Zの
安全性と忍容性、および免疫原性が示された。

1. アジュバントを加えた エボラワクチン iEvac-Z の第I相臨床試験の 実施

1-1. 試験薬の製造 (令和5～6年度)

河岡

米国ウイスコンシン大学
Waisman Center
Biomanufacturing
業務委託



iEvac-Z

(1)セルバンク(MCB,WCB)の製造



(2)マスターウイルスストック(MVS)の製造



(3)ワクチンウイルスのバルク製剤の製造

- WCB (VP30発現細胞) の播種
- 細胞の洗浄 (→FBSの除去)
- MVSの感染
- ウイルス回収
- ベンゾナーゼ処理による核酸除去
- BPL処理によるウイルスの不活化
- 限外濾過によるバッファー交換



(4)充填



最終製剤

1-3. 第I相臨床試験の実施

		人数	性別	年齢
iEvac-Zのみ		15名	男性	20~64歳
iEvac-Z + Adjuvant A		15名	男性	20~64歳
プラセボ 対照群	Adjuvant A	5名	男性	20~64歳

- 4 週間間隔の 2 回投与
- ワクチン接種後の被験者の経過観察（副反応の有無等）
- 抗体価測定および探索的研究用の血液サンプル採取

研究体制

研究開発分担者
東京大学医科学研究所
長村 文孝

研究開発分担者
東京大学医科学研究所
四柳 宏

研究開発分担者
塩野義製薬
田村 典朗

研究開発代表者
東京大学
国際高等研究所 新世代
感染症センター
河岡 義裕

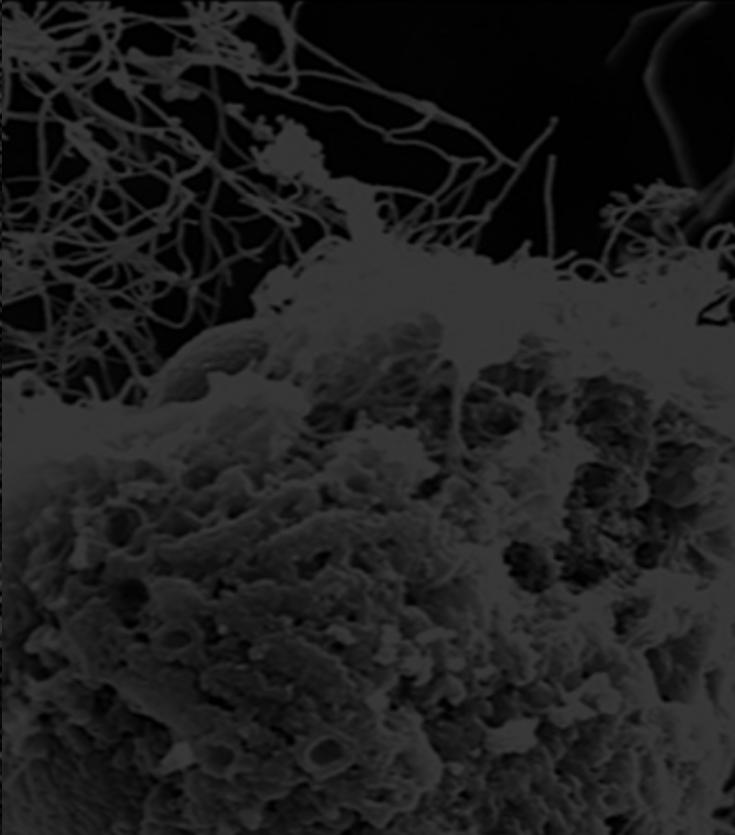
研究協力機関
ワクチン開発拠点
サポート機関

研究開発分担者
大阪大学
微生物病研究所
渡辺 登喜子

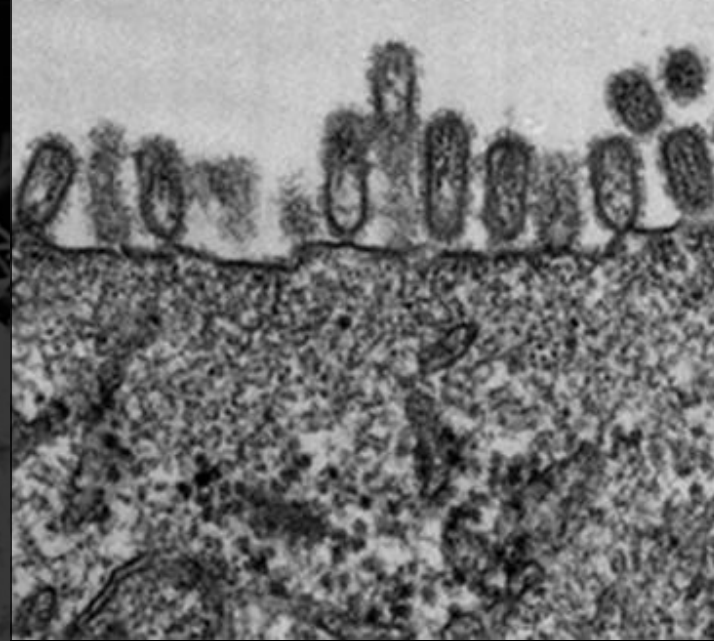
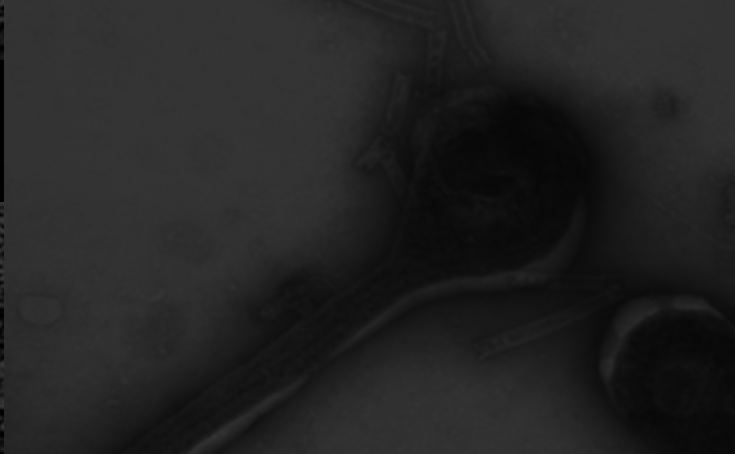
研究協力機関
米国ウイスコンシン大学
Peter Halfmann



SARS-CoV-2



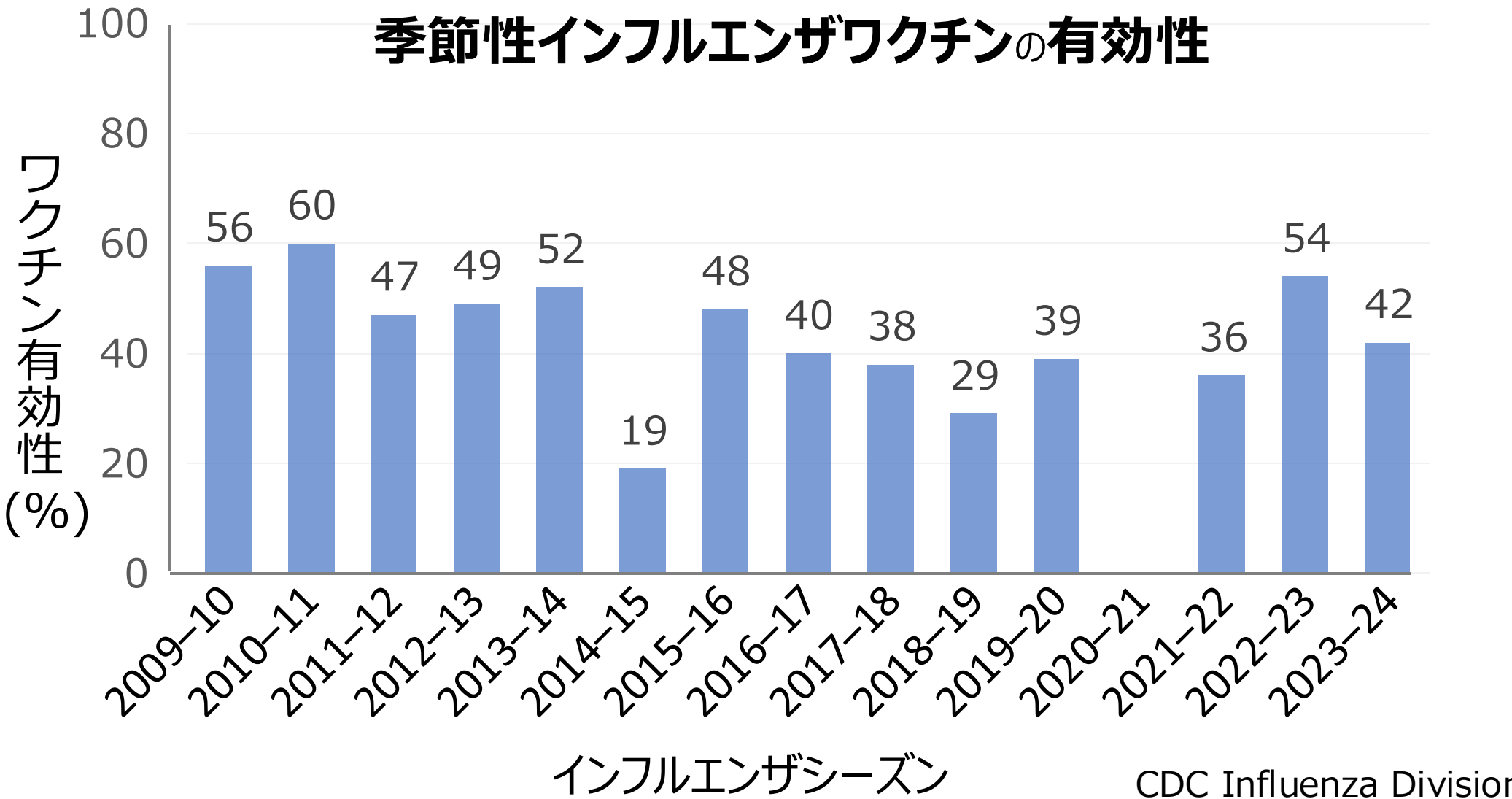
Ebolavirus



Influenzavirus



既存の季節性インフルエンザワクチン: 有効性が低い より有効性の高い新規モダリティの必要性



基本技術

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 96, pp. 9345–9350, August 1999
Microbiology

インフルエンザウイルスの人工合成

Generation of influenza A viruses entirely from cloned cDNAs

GABRIELE NEUMANN*, TOKIKO WATANABE*[†], HIROSHI ITO*, SHINJI WATANABE*[†], HIDEO GOTO*, PENG GAO*, MARK HUGHES*, DANIEL R. PEREZ[‡], RUBEN DONIS[‡], ERICH HOFFMANN[§], GERD HOBOM[§], AND YOSHIHIRO KAWAOKA*[¶]

*Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Madison-Wisconsin, 2015 Linden Drive West, Madison, WI 53706;

[†]Laboratory of Microbiology, Department of Disease Control, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo 060-0818, Japan;

[‡]Department of Veterinary and Biomedical Sciences, University of Nebraska-Lincoln, P.O. Box 830905, Lincoln, NE 68583-0905; and [§]Institut für Mikro- und Molekularbiologie, Frankfurter Strasse 107, 35392 Giessen, Germany

Communicated by Paul Ahlquist, University of Wisconsin, Madison, WI, May 27, 1999 (received for review March 23, 1999)

JOURNAL OF VIROLOGY, June 2009, p. 5947–5950
0022-538X/09/\$08.00+0 doi:10.1128/JVI.00450-09

Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

M2KO半生ウイルスの作製

Influenza A Virus Lacking M2 Protein as a Live Attenuated Vaccine[▽]

Shinji Watanabe,¹ Tokiko Watanabe,¹ and Yoshihiro Kawaoka^{1,2,3*}

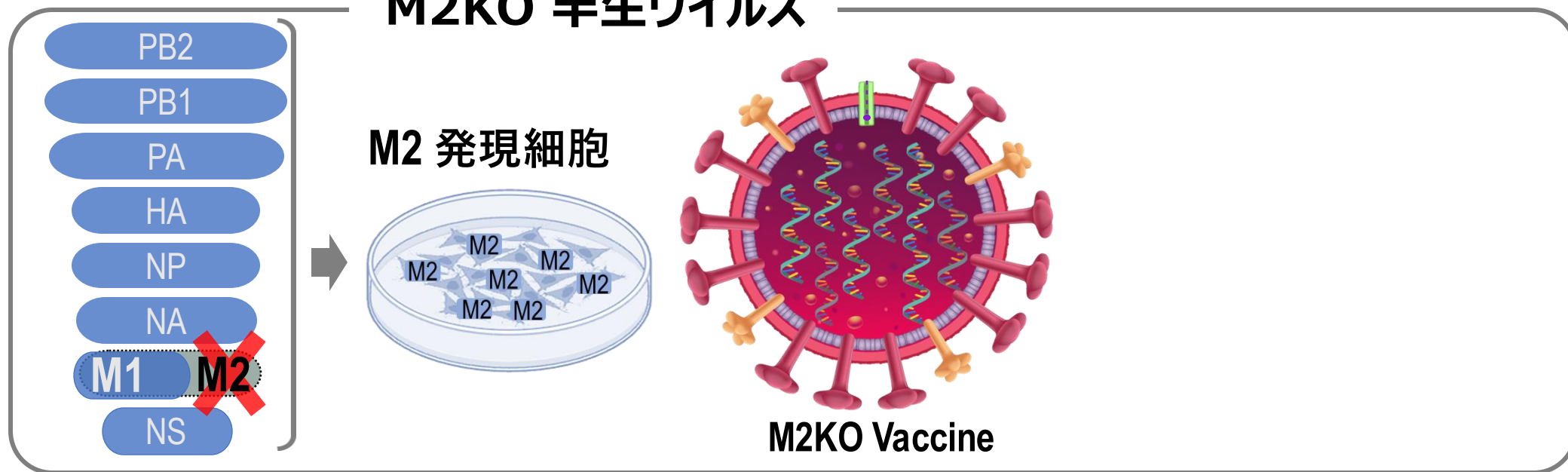
Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin—Madison, Madison, Wisconsin 53706,¹ and International Research Center for Infectious Diseases,² Division of Virology, Department of Microbiology and Immunology, Institute of Medical Science, University of Tokyo,³ Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan

Received 4 March 2009/Accepted 16 March 2009

M2KO 半生ワクチン

Watanabe et al. JVI, 2009

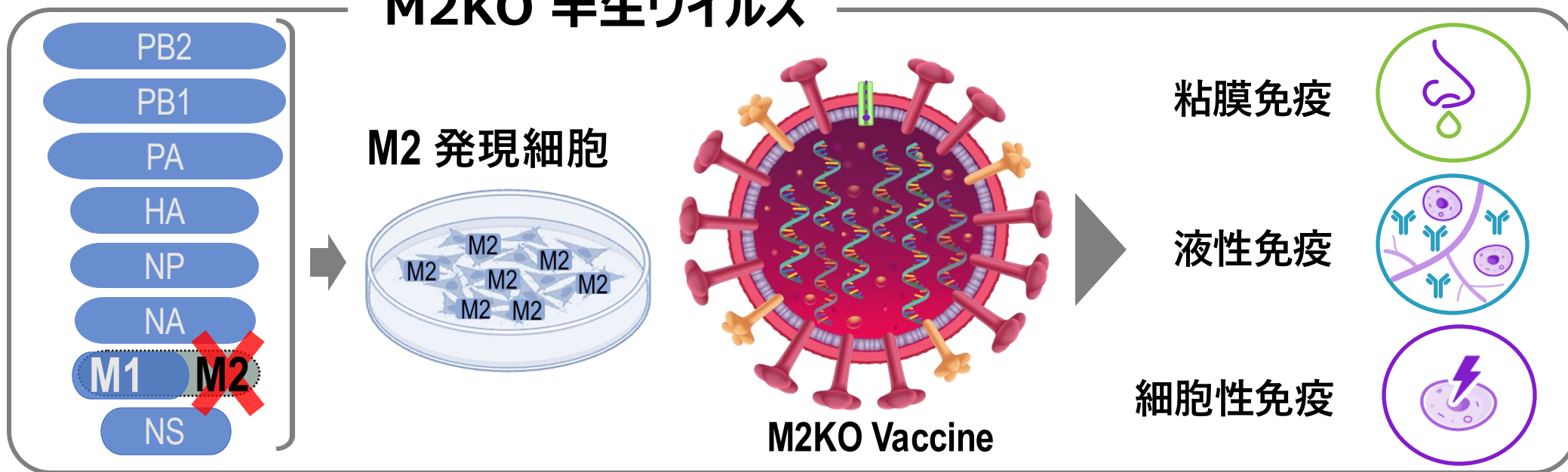
M2KO 半生ウイルス



M2KO 半生ワクチン

Watanabe et al. JVI, 2009

M2KO 半生ウイルス



M2ノックアウト (KO) 半生ウイルスという

新規モダリティをベースとして

A(H1N1), A(H3N2), B型ウイルスに対する

3価季節性経鼻インフルエンザワクチンを開発

M2KO 半生ワクチンの開発状況

- A(H1N1), A(H3N2), B型ウイルス **1価** M2KOワクチンの非臨床POC取得済み
- GMP準拠のM2KOワクチン製造システムの確立 (CDMO; フランス)
- A(H3N2) **1価**ワクチンでの第 I 相臨床試験 (アメリカ)
- A(H3N2) **1価**ワクチンでの第 II 相臨床試験 (ベルギー)

臨床試験: M2KO-H3N2 半生インフルエンザワクチン

これまでの接種実績: 2-85 歳, ~700 人

試験番号	Phase	期間	目的	実施国	ワクチン 株	接種量 (TCID ₅₀)	年齢	人数
V001	1a	2016-2017	First-in-Human	US	Bris 2007	10 ⁶ - 10 ⁸	18-49	96
V002	2a	2018-2019	抗原変異株による ヒトチャレンジ試験	Belgium	Bris 2007	10 ⁸	18-55	108
17-0012	1b*	2018-2020	青年における 安全性	US	Bris 2007	10 ⁸	9-17	43
V003	1b	2019-2020	容量設定試験/ 反復投与	US	Bris 2007 Sing 2016	10 ⁸ - 10 ⁹	18-49	206
V005	1b	2021	高齢者 (安全性)	US	Sing 2016	10 ⁹	50-85	122
20-0009	1b**	2021-2022	小児における 安全性	US	Sing 2016	10 ⁷ - 10 ⁹	6m-17	(220)
V006	1b	2022	高齢者における安全 性と不活化ワクチンとの同時接種	US	Cam 2020	10 ⁹	65-85	305

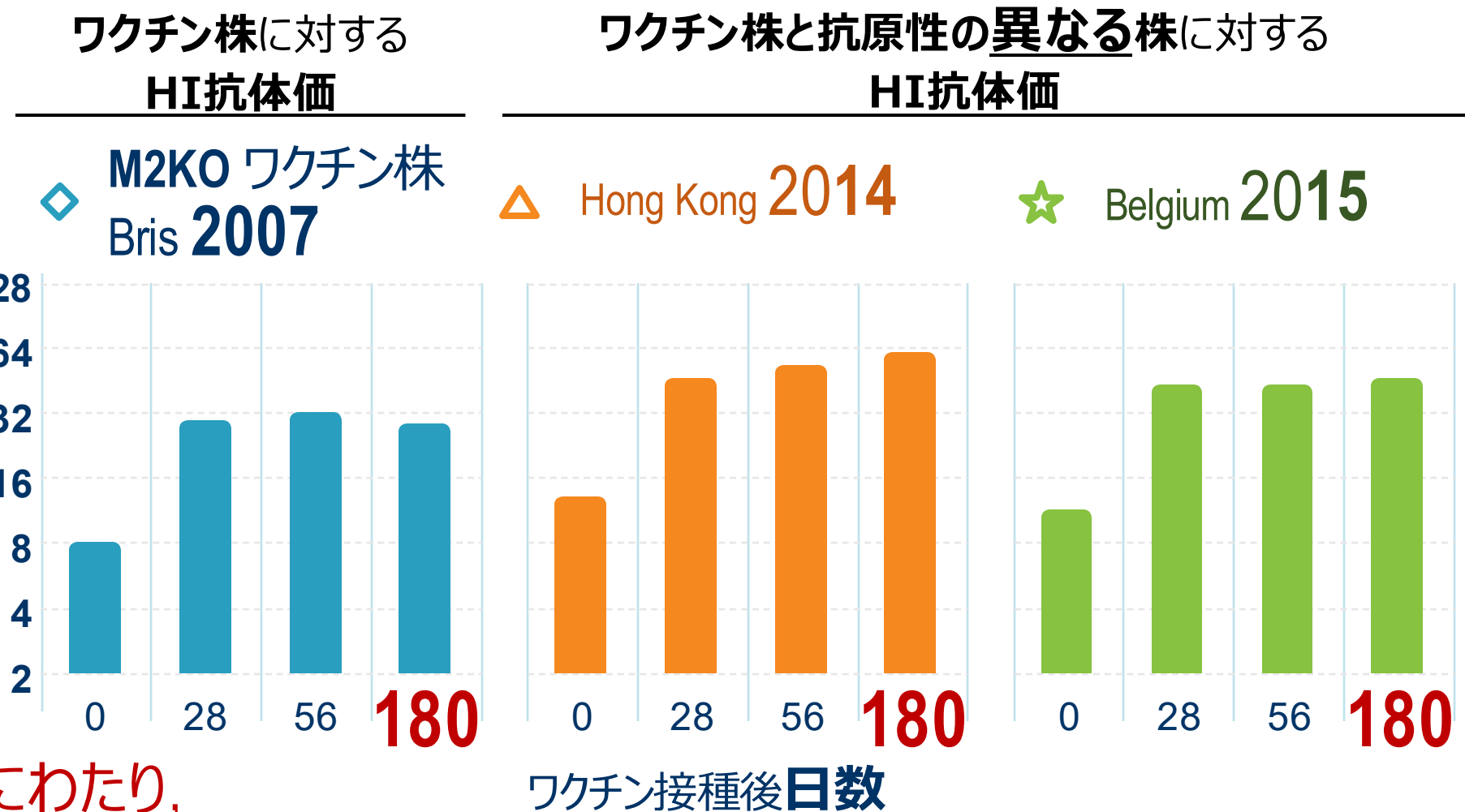
* NIH Vaccine and Treatment Evaluation Units (VTEUs)で実施
** NIH Collaborative Influenza Vaccine Innovation Centers (CIVICs)で実施

臨床試験: M2KO-H3N2 半生インフルエンザワクチン

試験番号	Phase	期間	目的	実施国	ワクチン 株	接種量 (TCID ₅₀)	年齢	人数
V001	1a	2016-2017	First-in-Human	US	Bris 2007	10 ⁶ - 10 ⁸	18-49	96
V002	2a	2018-2019	抗原変異株による ヒトチャレンジ試験	Belgium	Bris 2007	10 ⁸	18-55	108
17-0012	1b*	2018-2020	青年における 安全性	US	Bris 2007	10 ⁸	9-17	43
V003	1b	2019-2020	容量設定試験/ 反復投与	US	Bris 2007 Sing 2016	10 ⁸ - 10 ⁹	18-49	206
V005	1b	2021	高齢者 (安全性)	US	Sing 2016	10 ⁹	50-85	122
20-0009	1b**	2021-2022	小児における 安全性	US	Sing 2016	10 ⁷ - 10 ⁹	6m-17	(220)
V006	1b	2022	高齢者における安全 性と不活化ワクチンとの同時接種	US	Cam 2020	10 ⁹	65-85	305

M2KOの経鼻単回接種は、ワクチン株および抗原性が変化したH3N2ウイルス株に対し持続性のある抗体応答を誘導する (18-49歳; 10⁸ TCID₅₀, 24人)

Bris2007 M2KO ワクチン接種後の H3N2ウイルスに対する血清 HI価 (中和抗体価と比例)

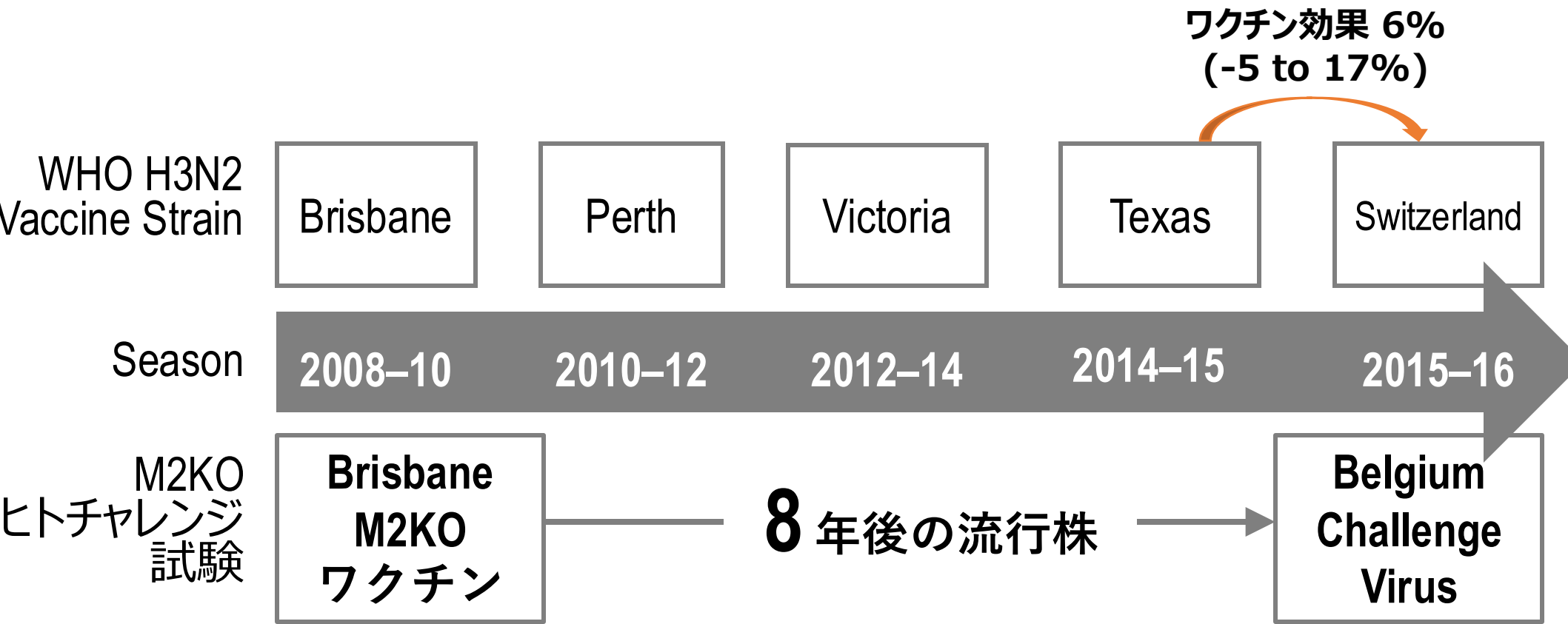


半年間にわたり、
抗原性の異なる株にも高いHI抗体価が持続

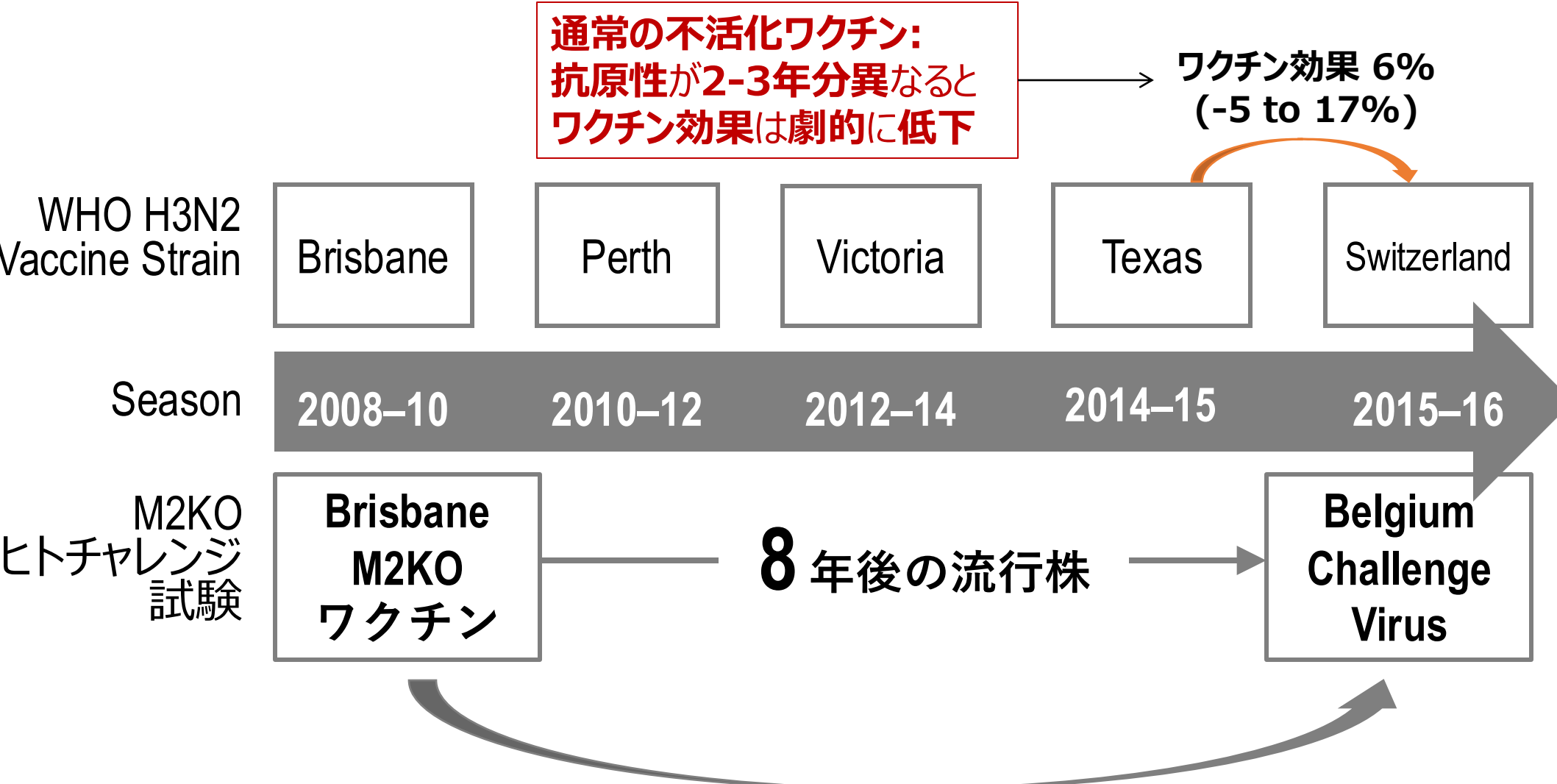
臨床試験: M2KO-H3N2 半生インフルエンザワクチン

試験番号	Phase	期間	目的	実施国	ワクチン 株	接種量 (TCID ₅₀)	年齢	人数
V001	1a	2016-2017	First-in-Human	US	Bris 2007	10 ⁶ - 10 ⁸	18-49	96
V002	2a	2018-2019	抗原変異株による ヒトチャレンジ試験	Belgium	Bris 2007	10 ⁸	18-55	108
17-0012		2018-2020	青年における 安全性	US	Bris 2007	10 ⁸	9-17	43
V003	1b	2019-2020	容量設定試験/ 反復投与	US	Bris 2007 Sing 2016	10 ⁸ - 10 ⁹	18-49	206
V005	1b	2021	高齢者 (安全性)	US	Sing 2016	10 ⁹	50-85	122
20-0009	1b**	2021-2022	小児における 安全性	US	Sing 2016	10 ⁷ - 10 ⁹	6m-17	(220)
V006	1b	2022	高齢者における安全 性と不活化ワクチンとの同時接種	US	Cam 2020	10 ⁹	65-85	305

M2KO 半生ワクチン: 抗原性の異なるウイルスに対する感染防御



M2KO 半生ワクチン: 抗原性の異なるウイルスに対する感染防御



**M2KOワクチンでは、8年の抗原性変化を経ても
感染・発症率が53% 減少**

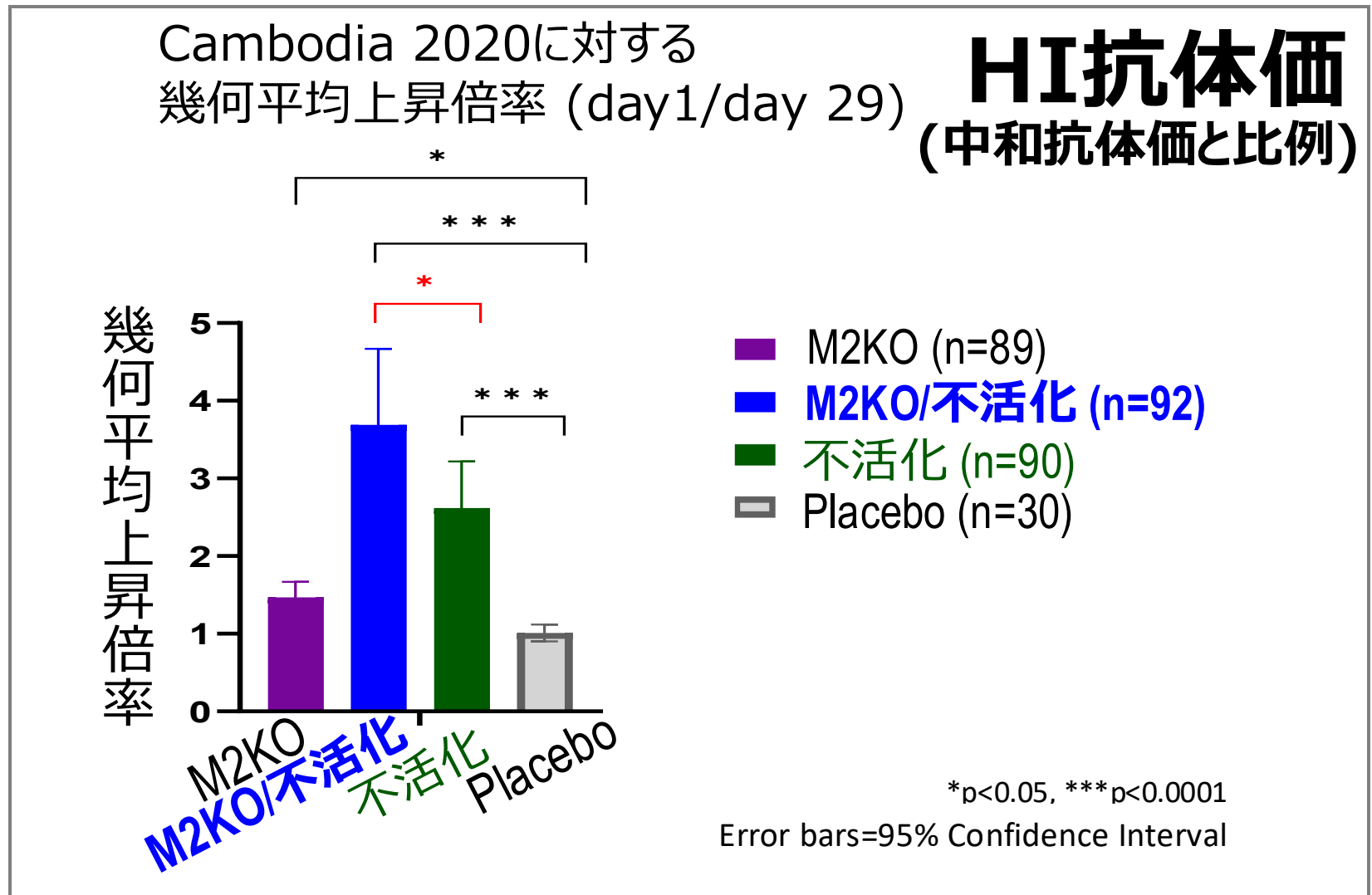
高齢者 における臨床試験
M2KO 単独接種・M2KOと不活化ワクチンの同時接種

- 高齢者 (65–85歳)
安全性・免疫原性試験Phase 1b,
二重盲検, double dummy
- 米国 6 州
(カンザス、オハイオ、フロリダ、ニュー
ヨーク、アイダホ、テキサス)
- 重篤な有害事象なし

被験者 300人
経鼻接種・筋肉内接種はそれぞれ単回接種

群	人数	経鼻接種	筋肉内接種
1	90	10 ⁹ TCID ₅₀ Cam2020 M2KO	Placebo
2	90	10 ⁹ TCID ₅₀ Cam2020 M2KO	高容量 不活化
3	90	Placebo	高容量 不活化
4	30	Placebo	Placebo
Total	300		

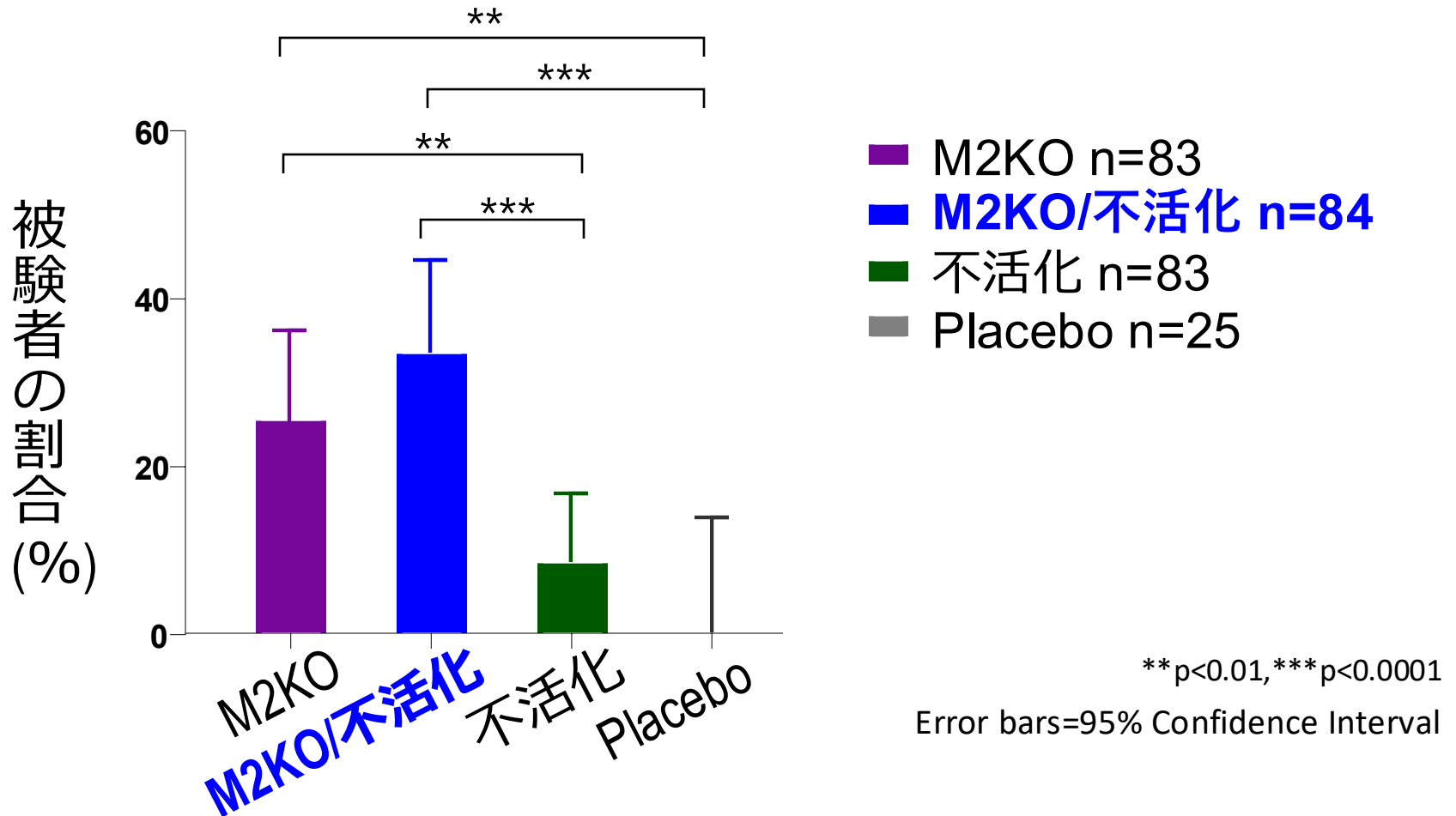
M2KO あるいは M2KO/不活化ワクチン 同時接種; 65-85歳



M2KO/不活化ワクチン 同時接種は**不活化ワクチン単独**よりも
有意に抗体価を上昇

M2KO 接種は不活化ワクチン単独接種よりも有意に高い T細胞応答を誘導 (65–85歳)

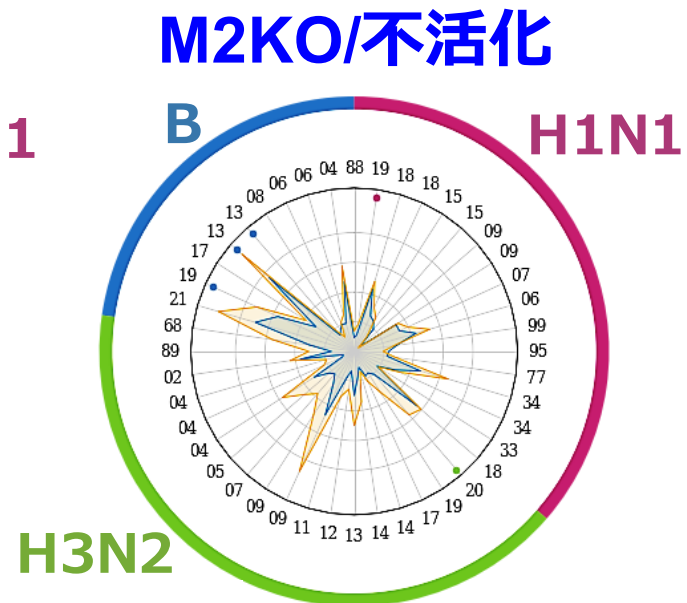
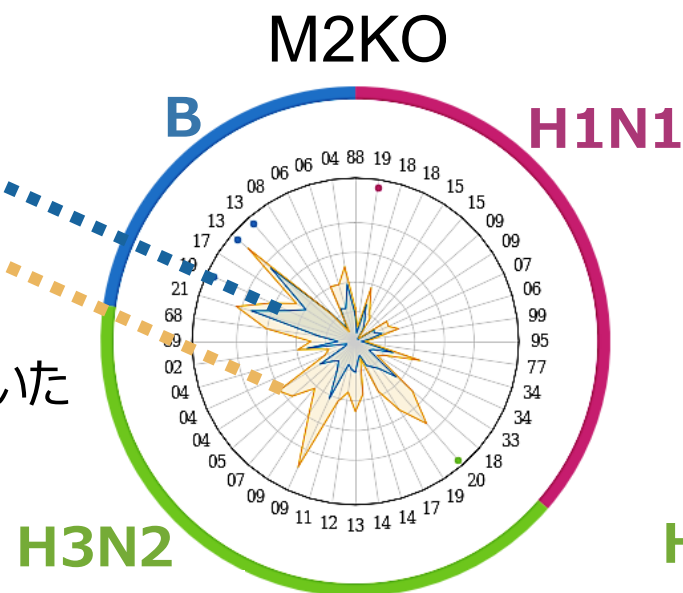
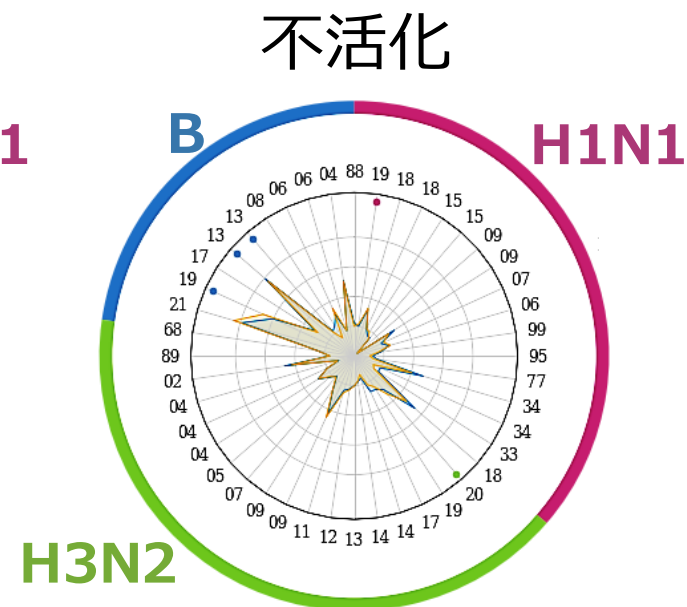
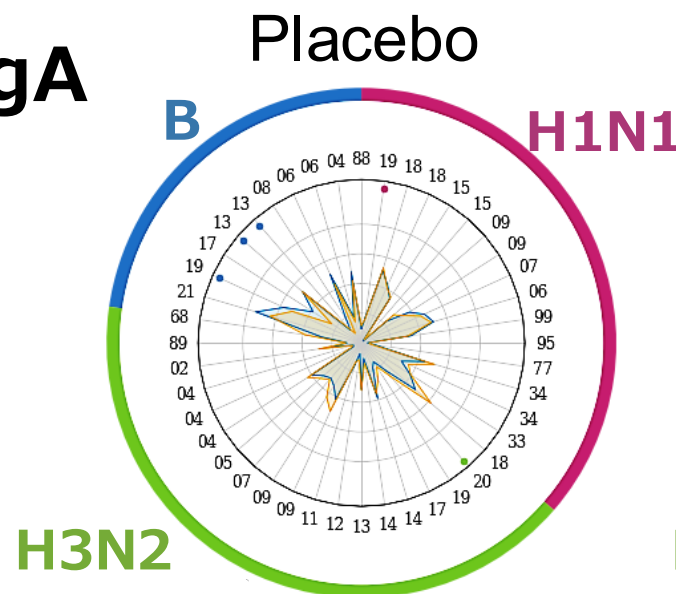
IFN γ 発現T細胞が4倍以上上昇した被験者の割合



ヒト末梢血単核細胞を NP ペプチドプールで刺激し、
IFN γ をELISpotで検出

M2KO 接種は、鼻粘膜上にHA結合sIgAを誘導する (65-85歳)

HA 結合 鼻スワブ sIgA



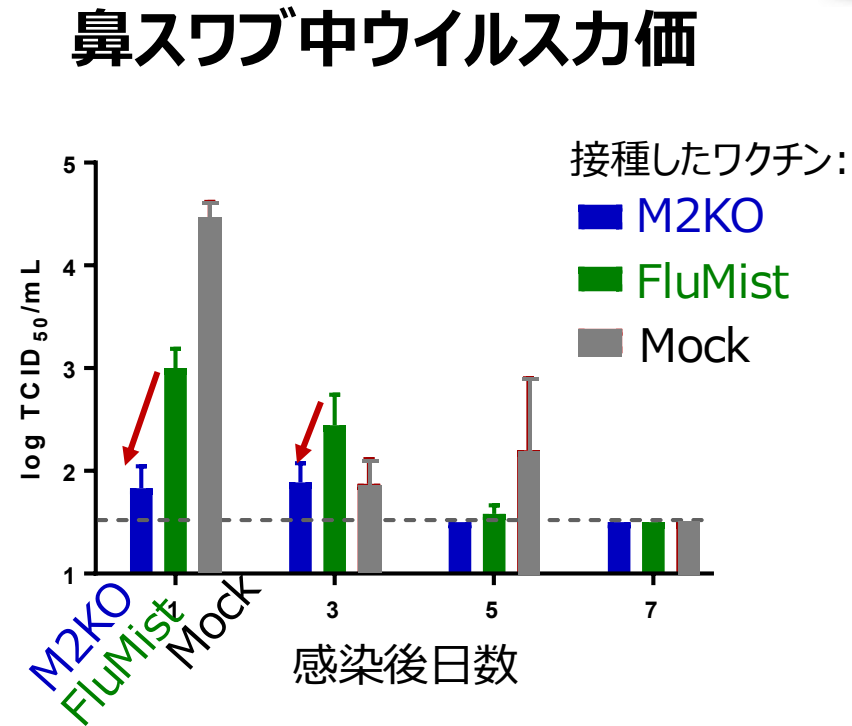
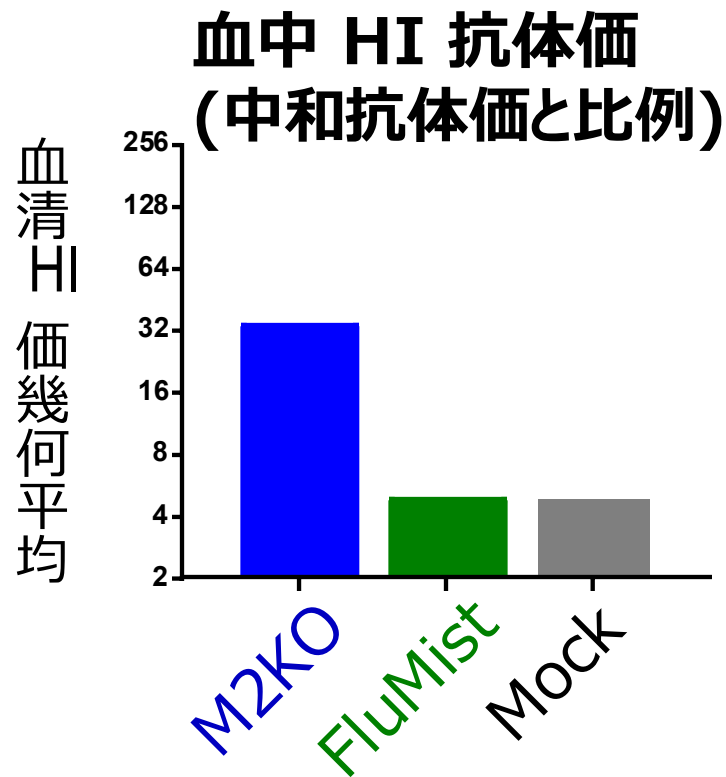
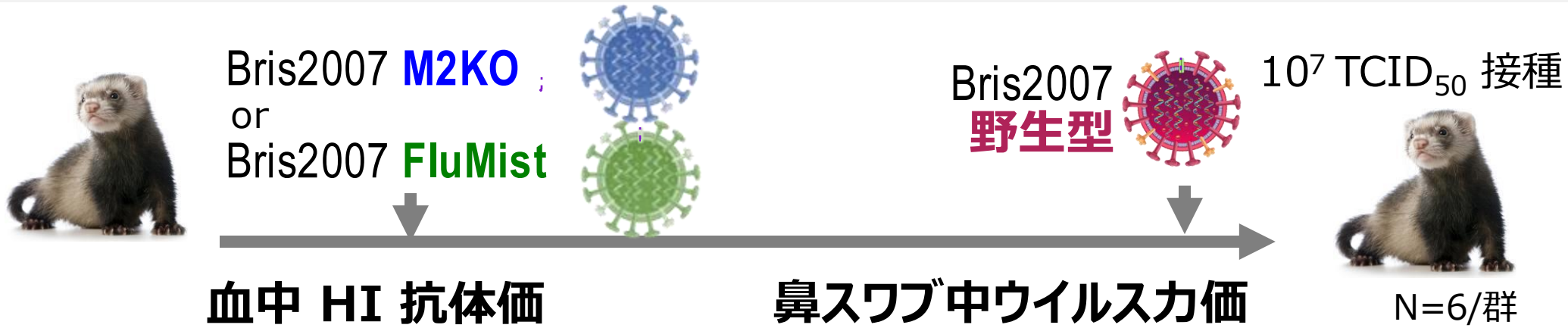
ワクチン接種前

ワクチン接種後 28日

*円の周囲の数字は ELISAに用いた
HA の ウイルスの分離年を示す

M2KO 半生ワクチンと FluMist の比較

M2KOはFluMistより高いHI抗体価を誘導しウイルス増殖を抑制



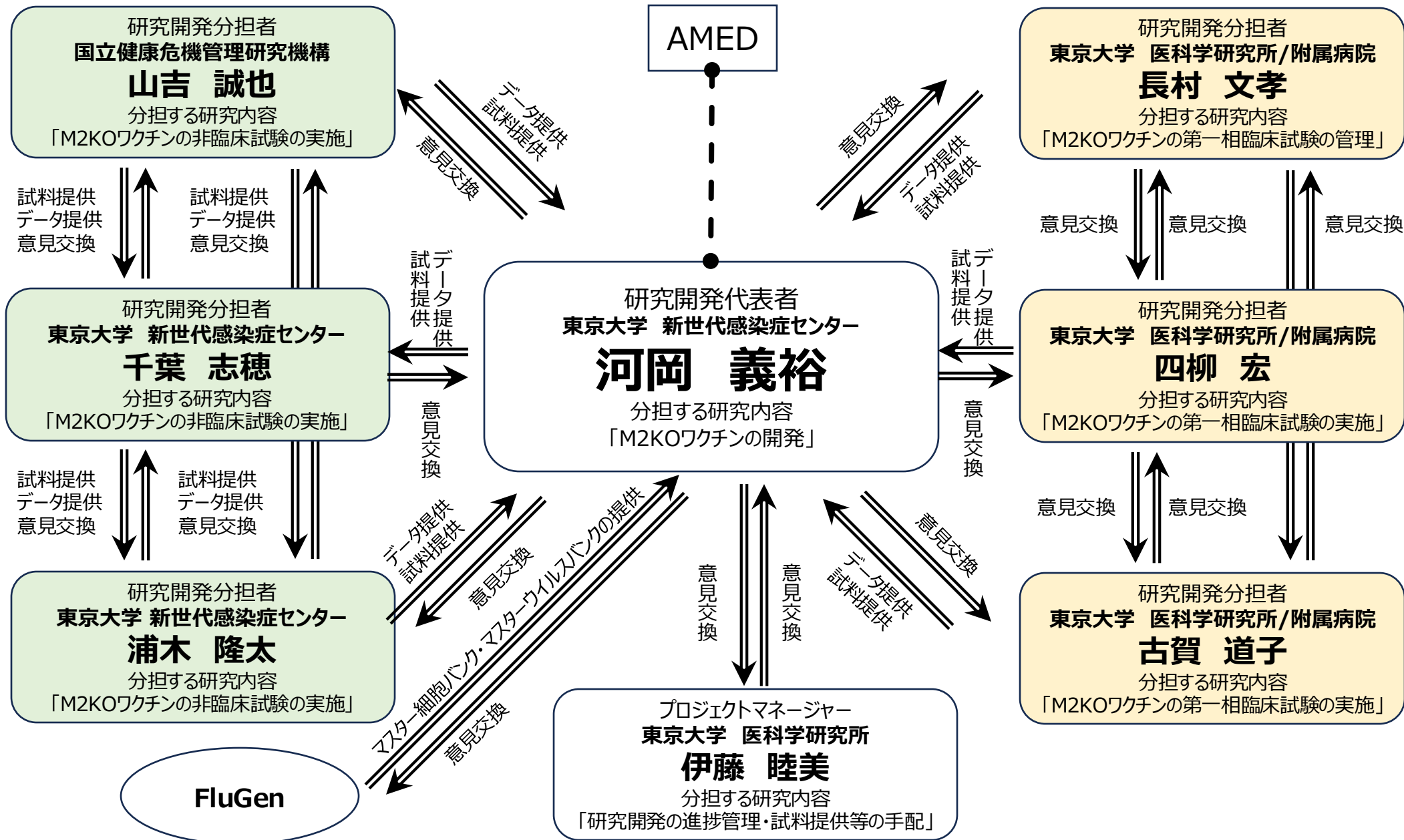
M2KO ワクチンの方が、**FluMist**をよりも高いHI抗体を誘導し、高い増殖**抑制**を示した。

M2KOウイルスの安全性

- M2KO ウイルスの体外排出の可能性の検証 -

3つの独立した臨床試験（18-49歳、あるいは 18-55歳）において、M2KOワクチン経鼻接種を受けた計289人の被験者から、感染性ウイルスは検出されなかった。

実施体制



新型コロナ, エボラウイルス病, 季節性インフルエンザワクチンの開発

半生ウイルスを基に安全で高い効果を示すワクチンを開発中.

SARS-CoV-2

Ebolavirus

Influenza virus