

課題番号 35

## 被膜ナノ粒子を用いた CD8T 細胞免疫誘導型 SARS-CoV-2 ワクチンの開発

### [1] 組織

代表者：田中 伸幸

(宮城県立がんセンター研究所)

対応者：本橋 ほづみ

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

小山 昂志 (宮城県立がんセンター研究所)

森田 英嗣 (弘前大学・農学生命科学部・分子生命科学科)

研究費：物件費 15 万 0 千円

### [2] 研究経過

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染防御においては、従前のワクチン開発が主眼を置く IgG 型中和抗体に加えて、CD8<sup>+</sup>細胞傷害性 T 細胞 (CTL) と粘膜免疫からなる複合的な免疫誘導が必須である。そこで、本研究では、CTL と粘膜免疫を同時かつ効果的に誘導する被膜蛋白質ナノ粒子 (EPN:enveloped protein nanoparticle)を用いた新規ワクチン (EPN ワクチン) の基盤技術を開発することを目的とする。SARS-CoV-2 感染ではウイルス排除が緩徐であることが問題であり、ワクチン開発においてはその克服が必要である。これまでの報告をまとめると、1) コロナウイルスの排除には CTL が効果的であること、2) 気道上皮を標的とするウイルスの防御・排除には IgA を主体とする粘膜免疫の誘導が必須であること、が示されている。これに対し、従前のワクチンでは主として血中 IgG の誘導しか期待できず、これとは異なる免疫賦活が必須である。すなわち、CTL および粘膜免疫の誘導が SARS-CoV-2 ワクチンの具体的達成目標であることが強く示唆されている。自己集合型天然蛋白質ナノ粒子は、その安定性によって微量であっても長期にわたり抗原性を発揮することが示されている。本研究は、抗原ナノ粒子と SARS2-抗原ナノ粒子を融合させ生体膜による被膜を付与した新規性の高い SARS2-EPN の開発を目指して研究を行った。

方法：①SARS2-ワクチン抗原微粒子の最適化：本研究ではワクチン抗原として SARS-CoV2-Spike 抗原蛋白質を用いる。さらに、ナノ粒子コアとして天然ナ

ノ粒子である蛋白質 A および B を用いる。ワクチン抗原とナノ粒子コアの両者を複合体化するため、それぞれの末端をカップリング用タグに融合した設計を実施した。

②SARS2-ワクチン抗原の作成：ヒト 293 細胞系の培養細胞による大量調整を行い、それぞれに付加されたタグによって精製した。濃度測定を実施し、SDS-PAGE 法にて分離染色後に精製度を検証した。得られたワクチン抗原とナノ粒子コアをカップリングし、Blue Native Gel にてカップリングを確認する。さらにゲルろ過カラムによってカップリング体を精製し、ワクチン用複合体を調整した。

③SARS2-CoV2 ワクチンによるワクチン効果の検証：BALB/c マウスは日本 SLC(株)より購入した。6-8 週齢マウスに対し、SARS-CoV2 ワクチン (複合体化あり・なし) を投与し、樹状細胞抗原提示と液性免疫および細胞性免疫の誘導を解析した。

以下、研究活動状況の概要を記す。

本研究に関し、細胞株を用いたワクチン用蛋白質の大量調整が必要となる。このため、加齢医学研究所・本橋ほづみ教授と令和 3 年 9 月に研究打ち合わせを実施した。さらに、研究打ち合わせを電子メールにより継続的に行うことで本研究の遂行に重要な助言を得た。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

第 1 に、SARS-CoV2-Spike 遺伝子 cDNA のコドン最適化によって SARS-CoV2-Spike 抗原蛋白質の大量調整に成功した。ナノ粒子コアとして選定した複数の蛋白質のなかで、蛋白質 A が最も高効率に調整可能であったため。同タンパク質をコアとした複合体作成を方法論として選定した。

第 2 に、SARS-CoV2-Spike 抗原蛋白質と蛋白質 A による複合体形成に成功した。Blue Native Page 法による解析から、この複合体は多量体を形成していることが確かめられた (図 1)。

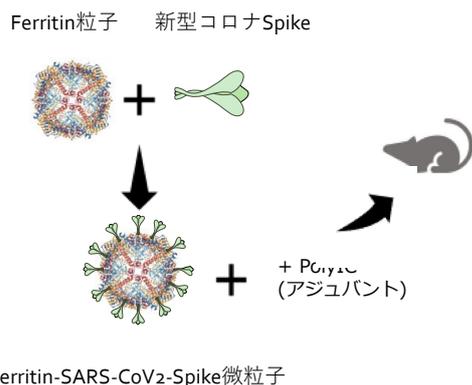


図1 . SARS-CoV2-Spikeを用いた微粒子作成とワクチン投与

第3に、SARS-CoV2-Spike 抗原蛋白質と蛋白質 A による複合体を、アジュバントとともにマウスに接種したところ、非複合体 SARS-CoV2-Spike 抗原に比べて有意に高い Spike 抗原特異的な抗体および免疫応答を誘導した。

以上の結果から SARS-CoV2-Spike 抗原蛋白質と蛋白質 A から構成される多量体抗原ワクチンは、単なるコンポーネントワクチンに比して有意に高い免疫賦活能を発揮することが明らかとなった。

### (3-2) 波及効果と発展性など

本年度の成果において、SARS-CoV2-Spike 抗原の複合体化がワクチン効果に重要であることが明らかとなった。本研究で用いた SARS-CoV2-Spike 抗原の吸収性を高める工夫をすればさらにワクチン効果が高まるはずであり、こうした観点から、真に効果的なコンポーネントワクチンの開発へと発展させることが可能であると考えられる。本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、新たなワクチン開発に向けたプロジェクトとして発展することが期待される。研究分担研究者として本研究に関わった若手研究者が次世代のワクチン研究者として育つことも期待される。今後の本研究の発展が大いに期待される。

### [4] 成果資料

本共同研究成果が直接掲載された論文はまだない。本研究をもとに、引き続き共同で具体的な研究を進める準備をしている。