

Title	RSウイルスワクチンの副反応機序の解明と新規ワクチン開発
Author(s)	河原, 永悟
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/96143
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (河原 永悟)

論文題名 RSウイルスワクチンの副反応機序の解明と新規ワクチン開発

論文内容の要旨

RSウイルス (Respiratory syncytial virus : RSV) は、1歳までに約半数以上、2歳までにほぼ100%の乳幼児が感染する。RSVは通常、上気道に感染し、鼻水や咳などの風邪様症状を引き起こすが、特に生後6カ月未満の乳児や基礎疾患を有する高齢者では、感染が下気道まで拡大することにより、肺炎や細気管支炎などの重篤な呼吸器疾患を引き起こすため、深刻な問題となっている。そのため、RSVに対するワクチン開発は活発に行われており、2023年には世界初のRSVワクチンが承認された。RSVワクチンにおいて、RSV表面に発現するF蛋白質 (Fusion glycoprotein) およびG蛋白質 (Attachment glycoprotein) は有効なワクチン標的として考えられている。特にF蛋白質を標的としたワクチンは、臨床試験において重症化予防効果および安全性が確認され、上述の世界初のRSVワクチンを含む2種類のF蛋白質ワクチンが承認されている。しかし、F蛋白質ワクチンは重症化予防には有効なものの、感染予防効果、すなわち、上気道感染に対する予防効果に改良の余地を残している。一方で、G蛋白質ワクチンは、動物モデルにおいて有効性が報告されており、F蛋白質ワクチンとの併用効果も期待されている。また近年、F蛋白質に対する抗体から逃避する変異ウイルスの出現が報告されており、もう一方の抗原であるG蛋白質を用いたRSVワクチンの開発は急務であると考えられる。しかし、G蛋白質ワクチンにおいて、哺乳類細胞 (mammalian cells) を用いて作製した精製組換えG蛋白質 (mG) をマウスにワクチンした結果、RSV感染を防御した一方で、気道炎症の増悪に関与する好酸球が肺で過剰に増加したことから、副反応が懸念されており、開発が難航している。また、依然としてG蛋白質ワクチンの副反応に関する知見は乏しい現状にある。そのため、G蛋白質ワクチンの臨床応用には、副反応の知見収集および機序解明が必要不可欠となっている。そこで本研究では、G蛋白質ワクチンの副反応の解析および機序解明を行い、それらから得た知見を基に、有効かつ安全な新規G蛋白質ワクチンの開発を試みた。

まず、G蛋白質ワクチンの副反応を評価するために、mGをワクチン抗原に用いてRSV感染後の肺のウイルス量および浸潤細胞、肺重量を評価した。その結果、ワクチン群では、非ワクチン群と比較して、肺のウイルス量が減少した一方で、肺で好酸球および好中球、CD4陽性T細胞が有意に増加し、さらには副反応の指標として汎用される肺重量が顕著に増加した。次に、副反応のメカニズムを解明するため、肺重量の増加を副反応のエンドポイントとし、各浸潤細胞の肺重量増加に及ぼす影響を解析した。まず、ワクチン後に抗体を用いて好酸球あるいは好中球を除去してRSVを感染させた結果、どちらの細胞除去群においても、肺のウイルス量は増加した一方で、肺重量は増加したままで変化が認められなかった。次に、抗CD4抗体によりCD4陽性T細胞を除去した結果、肺重量が非ワクチン群と同程度まで減少した。そこで、肺重量の増加に関与するCD4陽性T細胞のフェノタイプを解析した結果、ワクチン群のRSV感染後の肺では、非ワクチン群と比較して2型ヘルパーT (Th2) 細胞が顕著に増加していた。以上の結果より、G蛋白質ワクチンによるRSV感染後の肺重量の増加は、好酸球や好中球ではなく、肺へ集積したTh2細胞により惹起されることが示された。従って、G蛋白質ワクチンの開発において、抗体の誘導に加え、Th2細胞を誘導しないワクチン設計が重要であることが明らかとなった。

次に、有効かつ安全なG蛋白質ワクチンの開発を目指すため、mGワクチンに3種類の代表的なアジュバントをそれぞれ添加してマウスにワクチンし、有効性および副反応を評価した。アジュバントには、主にTh2細胞を誘導する水酸化アルミニウム (Alum)、Th1細胞を誘導するCpG核酸、Th1およびTh2細胞の両方を誘導するオイル系アジュバントAddaVaxを用いた。その結果、CpG核酸添加群では、mG単独群と比較して、Th1細胞が有意に誘導され、RSV感染後の肺重量が非ワクチン群と同程度であったものの、抗体産生や感染防御効果は非ワクチン群と比較してほとんど認められなかった。一方で、AlumまたはAddaVax添加群では、mG単独群と比較して、抗体産生や感染防御効果の上昇がみられたものの、感染後の肺におけるTh2応答および肺重量はmG単独群と同程度だった。本結果より、mGワクチンは、Th1細胞誘導型のアジュバントを用いることで副反応を誘発しなかったものの、アジュバントによってmGワクチンの有効性および安全性の両方を向上させることは困難であると考えられた。

mGは大量の糖鎖で修飾されており、一般的に糖鎖は蛋白質の立体構造や抗原提示細胞への取り込みに影響するこ

とが知られている。そのため、mGの糖鎖がワクチンの有効性を減弱する可能性が考えられた。そこで、糖鎖修飾機構を持たない大腸菌 (*Escherichia coli*) を用いて作製した組換えG蛋白質 (eG) に、上述のアジュバントをそれぞれ添加してマウスにワクチンし、有効性及び副反応を評価した。その結果、mGワクチンと比較して、抗原単独群および全てのアジュバント添加群で抗体産生が増加し、特にCpG核酸またはAddaVax添加群では顕著な増加が認められた。また、感染防御効果は、eG単独群と比較していずれのアジュバント添加群においても有意に増強された。さらに肺重量は、AlumまたはAddaVax添加群ではeG単独群と比較して増加傾向にあったものの、CpG核酸添加群では非ワクチン群と同程度であった。従って、eGワクチンは、mGワクチンと比較して抗体誘導能に優れており、さらにTh1細胞誘導型アジュバントのCpG核酸を用いることで、有効性と安全性の両方を増強可能であることが示された。

最後に、eGワクチンとF蛋白質ワクチンの併用効果を検証した。本実験ではいずれのワクチンもアジュバントとしてCpG核酸を用いた。その結果、eGワクチンの感染防御効果は下気道ではF蛋白質ワクチンにやや劣るものの、上気道ではF蛋白質ワクチンと同程度の感染防御効果を示した。また、eGとF蛋白質の混合ワクチンは、特に上気道において、それぞれの単独ワクチンと比較して感染防御効果が有意に増強された。従って、eGとF蛋白質の混合ワクチンは、F蛋白質ワクチンの上気道における感染防御効果をさらに増強し得るワクチン候補であることが見出された。

以上の結果より、適切な抗原とアジュバントを用いることで、G蛋白質ワクチンの問題点であるRSV感染後の副反応を誘発せずに有効性を増強可能なうえ、上気道におけるF蛋白質ワクチンの有効性をも向上し得ることが示された。従って、本研究結果は、G蛋白質ワクチンの臨床応用および上気道感染を標的としたRSVワクチンの開発に向けた貴重な情報になり得ると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (河原永悟)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 特任教授 (常勤) 吉岡 靖雄
	副 査 招へい教授 國澤 純
	副 査 教授 齊藤 達哉

論文審査の結果の要旨

RSウイルス (Respiratory syncytial virus : RSV) は、1歳までに約半数以上、2歳までにほぼ100%の乳幼児が感染する。RSVは通常、上気道に感染し、鼻水や咳などの風邪様症状を引き起こすが、特に生後6カ月未満の乳児や基礎疾患を有する高齢者では、感染が下気道まで拡大することにより、肺炎や細気管支炎などの重篤な呼吸器疾患を引き起こすため、深刻な問題となっている。そのため、RSVに対するワクチン開発は活発に行われており、2023年には世界初のRSVワクチンが承認された。RSVワクチンにおいて、RSV表面に発現するF蛋白質 (Fusion glycoprotein) およびG蛋白質 (Attachment glycoprotein) は有効なワクチン標的として考えられている。特にF蛋白質を標的としたワクチンは、臨床試験において重症化予防効果および安全性が確認され、上述のRSVワクチンを含む2種類のF蛋白質ワクチンが承認されている。しかし、F蛋白質ワクチンは重症化予防には有効なものの、感染予防効果、すなわち、上気道感染に対する予防効果に改善の余地を残している。一方で、G蛋白質ワクチンは、動物モデルにおいて感染防御効果が報告されており、F蛋白質ワクチンとの併用効果も期待されている。しかし、G蛋白質ワクチンにおいて、哺乳類細胞を用いて作製した精製組換えG蛋白質をマウスにワクチンした結果、RSV感染を防御した一方で、気道炎症の増悪に関与する好酸球が肺で過剰に増加したことから、RSV感染後の副反応が懸念されており、開発が難航している。また、依然としてG蛋白質ワクチンの副反応に関する知見は乏しい現状にある。そのため、G蛋白質ワクチンの臨床応用には、副反応の知見収集および機序解明が必要不可欠となっている。

本観点から申請者は、G蛋白質ワクチンの副反応の解析および機序解明を行い、それらから得た知見を基に、有効かつ安全な新規G蛋白質ワクチンの開発を図った。

その結果、以下の結論を得た。

1. G蛋白質ワクチンによるRSV感染後の副反応は、好酸球や好中球ではなく、Th2細胞によって誘発される。
2. G蛋白質ワクチンにおいて、AlumおよびAddaVaxの添加はTh2細胞やRSV感染後の副反応を誘導する一方で、CpG核酸の添加はTh1細胞の誘導を促進し副反応を低減し得る。
3. 大腸菌 (*Escherichia coli*) を用いて作製したG蛋白質 (eG) にCpG核酸を添加したeG+CpGワクチンは、Th2細胞およびRSV感染後の副反応を誘導することなく、G特異的抗体およびTh1細胞を強力に誘導し、RSV感染を顕著に防御可能である。
4. eGとF蛋白質の混合ワクチンは、eGあるいはF蛋白質ワクチンと比較して、上気道において優れた感染防御効果を発揮する。

以上、本論文の結果は、RSVワクチンにおいてG蛋白質ワクチンの有用性および上気道を標的としたワクチン開発における指針を示す重要な知見であり、博士 (薬科学) の学位論文に値するものと認める。