

令和 5 年度厚生労働科学研究費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
「我が国の狂犬病清浄性の検証及び関係機関の連携強化のための研究」
分担研究報告書

狂犬病ウイルス G タンパク質 mRNA ワクチン開発に関する研究

分担研究者	前田 健	(国立感染症研究所・獣医科学部)
研究協力者	松鶴 彩	(国立感染症研究所・獣医科学部)
研究協力者	井上 雄介	(国立感染症研究所・獣医科学部)
研究協力者	原田 倫子	(国立感染症研究所・獣医科学部)

研究要旨：

狂犬病予防および治療の新たなツールとして狂犬病ウイルス G タンパク質 mRNA ワクチン (mRNA ワクチン) を開発し、その効果についてマウスを用いて検証した。mRNA ワクチン 5 μ g 接種により市販の不活化ワクチン (Rabipur) よりも高い中和抗体が誘導され、2 回の接種により抗体価はさらに上昇した。mRNA ワクチンは速やかに抗体を誘導し、長期間維持されることが明らかとなった。mRNA 接種マウスは狂犬病ウイルスを用いた攻撃試験から防御された。さらに、狂犬病ウイルス攻撃マウスに mRNA を接種した結果、有意に致死から免れた。

A. 研究目的

狂犬病の予防および治療（暴露後ワクチン）には狂犬病ウイルス不活化ワクチンが広く用いられているが、高コストであるため供給が不十分な国や地域が存在する。また現在国内での生産は限られている状況にある。狂犬病を除くリッサウイルスについても狂犬病ウイルス不活化ワクチンが用いられているが、異なる遺伝系統群のウイルスに対しては十分な効果が期待できない可能性がある。

mRNA ワクチン技術は安価で大規模かつ速やかなワクチン生産を可能にする新規プラットフォームとして期待される。本研究では国立感染症研究所内で開発された狂犬病 G タンパク質 mRNA ワクチンについて、マウスにおける有効性を検証するとともに、ワクチン後のマウス血清を用いて狂犬病を除くリッサウイルスに対する中和活性についても検証した。

B. 研究方法

狂犬病 G タンパク質 mRNA ワクチンは狂犬病ウイルス街上海毒株である Toyohashi 株 G タンパク質をコードし、脂質ナノ粒子にパッケージ化されたものを用いた。対象として市販

の不活化ワクチン (Rbapur、GlaxoSmithKline 社) を用いた。マウスはすべて雌、6 週齢の C57BL/6 系統を用いた。① mRNA ワクチンによる抗体誘導能、②暴露前および暴露後ワクチンとしての有効性、③狂犬病以外のリッサウイルスに対する中和活性について評価した。

①mRNA ワクチン 0.05、0.5、5 μ g/50 μ l をマウスに 1 回あるいは 2 回筋肉内接種 (d0 および d21) し、各接種日から 21 日後 (d21、d42) の中和抗体価を測定した。次にマウスに mRNA ワクチン 5 μ g を 1 回筋肉内接種し、d3、d7、d10、d14、d21 までの抗体の推移について解析した。さらにワクチン接種から 4 週間毎に 54 週間、中和抗体を測定した。

②mRNA ワクチン 0.05、0.5、5 μ g を接種し 21 日後に狂犬病ウイルス CVS 株を脳内接種し、その後の生存性を評価した（暴露前ワクチン）。次に街上海毒株 (Toyohashi 株) をマウスに筋肉内接種し、その 6 時間後から mRNA ワクチンを接種しマウスの生存性を評価した（暴露後ワクチン）。

③①で得たマウス血清について、狂犬病ウイルス (CVS-11 株)、Duvenhage virus

(DUVV)、European bat lyssavirus 1 (EBLV-1)、Australian bat lyssavirus (ABLV)、Mokola virus (MOKV) の G タンパク質を発現する VSV シュードタイプウイルスを用いた中和試験を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験は国立感染症研究所動物実験委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

①mRNA ワクチンをマウスに接種したところ、接種濃度依存性に狂犬病に対する中和抗体が誘導され、2 回目の接種によりさらに高力価の中和抗体が誘導された (図 1)。mRNA ワクチン $5 \mu\text{g}$ 接種群は単回接種から 7 日目には不活化ワクチンに比べて有意に高い中和抗体価を示した (図 2)。mRNA ワクチン $5 \mu\text{g}$ 単回接種により 54 週間は感染防御レベルの中和抗体価 ($>0.5 \text{ IU/ml}$) が維持され、2 回の接種によりさらに高い抗体価が維持されることが明らかとなった (図 3)。

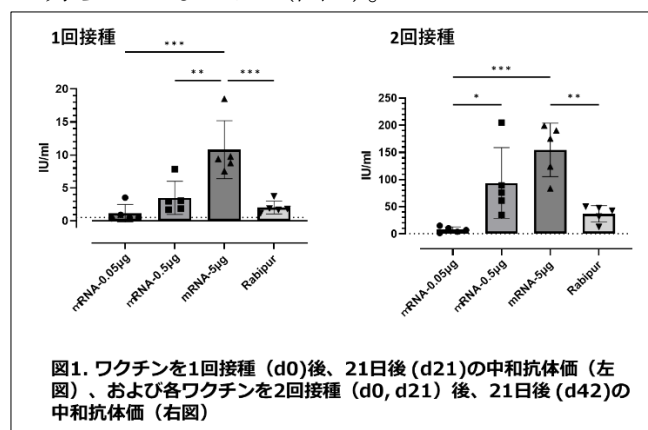


図1. ワクチンを1回接種 (d0)後、21日後 (d21)の中和抗体価 (左図)、および各ワクチンを2回接種 (d0, d21) 後、21日後 (d42)の中和抗体価 (右図)

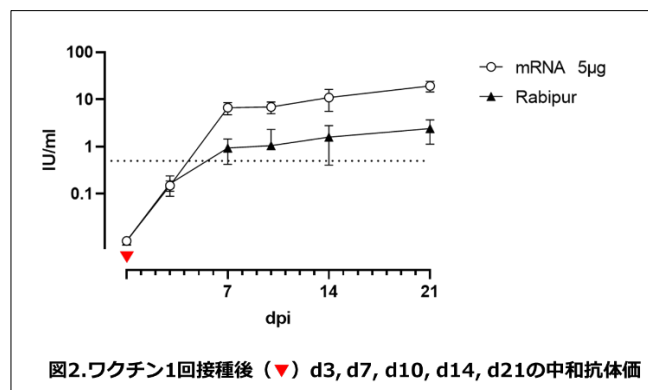


図2. ワクチン1回接種後 (▼) d3, d7, d10, d14, d21の中和抗体価

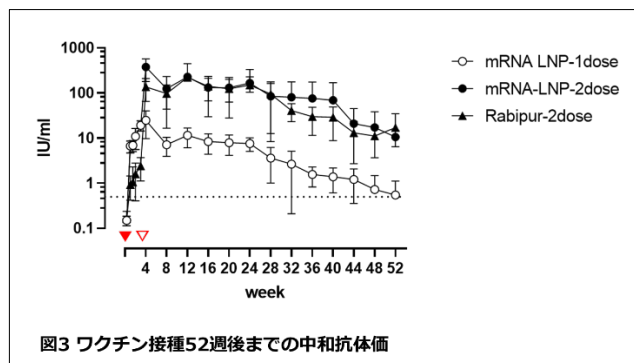


図3 ワクチン接種52週後までの中和抗体価

②mRNA ワクチン $5 \mu\text{g}$ 接種群は CVS 脳内接種後すべて生存した。 $0.5 \mu\text{g}$ 接種群は 80%の生存率で不活化ワクチンと同等の効果を示した。 $0.05 \mu\text{g}$ 接種ではすべて死亡した (図 4)。街上毒株 (Toyohashi 株) を筋肉内接種後、mRNA ワクチン $5 \mu\text{g}$ 接種群は 80%の生存率を示し、不活化ワクチンに比べて有意に高い生存性を示した (図 5)。

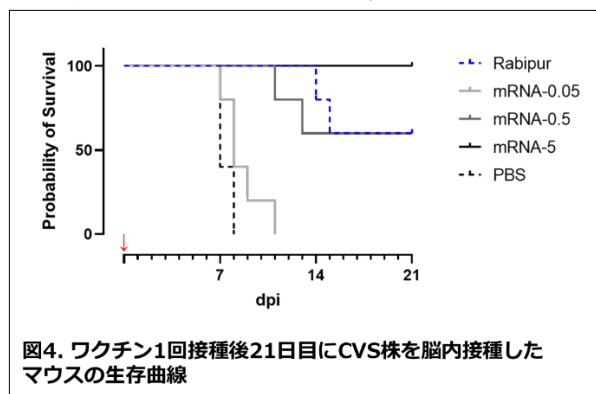


図4. ワクチン1回接種後21日目にCVS株を脳内接種したマウスの生存曲線

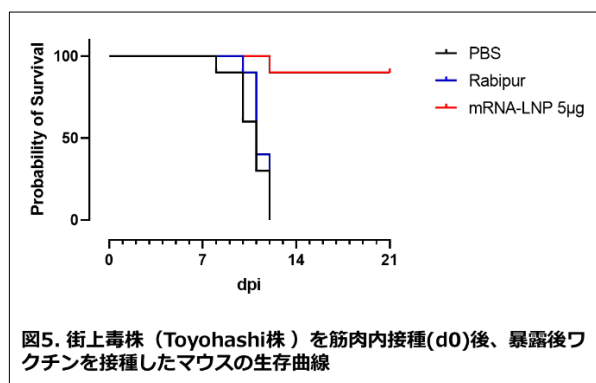
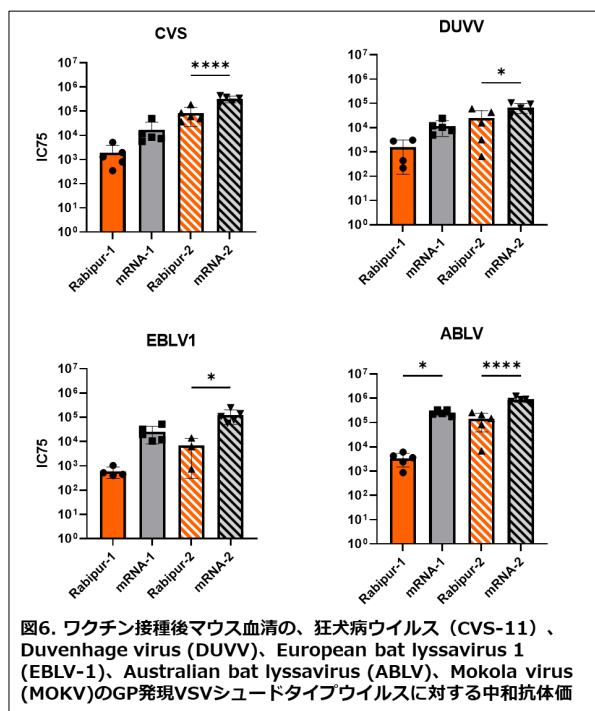


図5. 街上毒株 (Toyohashi株) を筋肉内接種(d0)後、暴露後ワクチンを接種したマウスの生存曲線

③mRNA ワクチン単回および2回接種後のマウス血清は DUVV、EBLV1、ABLV に対して Rabipur 接種群よりも高い中和抗体価を示した (図6)。MOKV に対する中和活性は認められなかった。



D. 考察

本研究で開発された狂犬病 G タンパク質 mRNA ワクチンはマウスに対して高力価な中和抗体を誘導し、ウイルス暴露前ワクチンとしてだけでなく、暴露後ワクチンとしても高い有効性を示した。新たなワクチン開発の候補として十分な効果が期待される。

mRNA ワクチンによる免疫マウスは、狂犬病と同じ系統群 1 に分類されるリッサウイルスに対しても、不活化ワクチンに比べて高力価の中和抗体が誘導された。一方異なる系統群に分類される MOKV に対する交差中和活性は認められなかった。mRNA 配列を改良すること

によってリッサウイルスを広範囲に網羅するワクチン開発へ応用が期待できる。

今回の mRNA ワクチン技術を基盤として、狂犬病だけでなく他のウイルスに対する予防および治療への応用も期待される。

E. 結論

新規開発した狂犬病 G タンパク質 mRNA ワクチンはマウスに狂犬病ウイルス感染防御レベルの中和抗体を誘導した。今後リッサウイルス属を広範囲に抑制するワクチンや、他のウイルス感染症に対する新規ワクチン開発の新たな基盤となることが期待される。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

3. 講演会

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし