

令和 6 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)  
(分担) 研究報告書

狂犬病ウイルス mRNA ワクチンに関する研究

研究分担者 前田 健 (国立感染症研究所・獣医科学部)  
研究協力者 松鶴 彩 (日本大学・生物資源科学部)

研究要旨：本研究では、狂犬病ウイルス G タンパク質 mRNA-LNP ワクチンの免疫原性向上を目的として、6 種類の糖鎖付加部位変異体 (D266N, K177N, R215S, K177N/R548S, K177N/D266N, R215S/D266N) を作製し、マウスにおける中和抗体誘導能を評価した。単回および 2 回接種後の中和抗体価は、いずれの変異体も野生型 (WT) と比較して有意な上昇は認められなかったが、R215S 変異を含むワクチンでは一部の個体において著しく高い中和抗体価が誘導された。R215S 変異体に注目した追加実験を実施したが、群間で統計的な有意差は認められなかった。糖鎖変異体 mRNA は、in vitro において細胞膜上での G タンパク質高発現が確認された一方で、動物における中和抗体誘導能の有意な向上は認められなかった。

A. 研究目的

狂犬病街上毒株 (Toyohashi 株、WT 株) の配列を有する mRNA-LNP ワクチンの効果を高めることを目的として、新たに 6 種類の G タンパク質糖鎖付加部位変異体 mRNA を内包したワクチンを作成し、マウスにおける中和抗体誘導能を比較した。

B. 研究方法

6 種類の G タンパク質糖鎖付加部位変異体 mRNA (D266N, K177N, R215S, K177N/R548S, K177N/D266N, R215S/D266N) を内包したワクチンを新たに作成した。これらをマウスに各 0.5  $\mu$ g 筋肉内接種し 1dose および 21 日間隔で 2dose)、最終接種から 21 日後 (d21) の中和抗体価を比較した。

上記 6 種類のうち 4 種類の糖鎖付加変異体 mRNA ワクチン (R215S, K177S/R215S, R215S/D266N, K177M/R266N) について、マウスに接種後 d3、d7、d10、d14、d21 の中和抗体価を測定した。

(倫理面への配慮)

感染実験はすべて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

WT mRNA ワクチン接種群と、今回作成した 6 種類の mRNA ワクチン接種群の間に d21 における中和抗体価に有意な差は認められなかった。しかし R215S 変異を含む mRNA ワクチン接種群の中には中和抗体価が著しく高い個体が存在した (図 1)。

そこで R215S 変異を含む mRNA ワクチンによる中和抗体誘導について詳細に調べるために新たな感染実験を行った。R215S 変異を含む mRNA ワクチン接種群は一部の個体に著しく高力価の中和抗体を誘導したが、d3、d7、d10、d14、d21 において群間で有意な差は認められなかった (図 2)。

D. 考察

6 種類の糖鎖付加変異 (D266N, K177N, R215S, K177N/R548S, K177N/D266N, R215S/D266N) による mRNA-LNP ワクチンの中和抗体誘導能の効果上昇は認められなかった。これらの変異体 mRNA を in vitro において細胞に導入した場合、細胞膜上に強く GP が発現すること、特に 2 種類の変異を導入することでさらに発現が促進されることを確認している。しかし mRNA

-LNP として動物に接種した場合、誘導される中和抗体力価は WT と有意差が認められなかった。

#### E. 結論

R215S を含む変異体は一部のマウス個体に高力価の中和抗体を誘導する可能性があることから、ワクチンとしての性能向上のためにはさらなる検討が必要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

松鶴 彩、熊谷 圭吾、松村 隆之、水池 彩、水上 智晴、原田 倫子、井上 雄介、井上 智、深澤 征義、高橋 宣聖、前田 健「マウスにおける狂犬病ウイルス G タンパク質 mRNA-LNP ワクチンの効果」第 167 回日本獣医学会学術集会、帯広畜産大学、2024 年 9 月 13 日

##### 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

図表

