

## COVID-19 に対する mRNA ワクチンの開発

創薬科学研究教育センター・招聘(名誉)教授、薬学部同窓会長

松田 彰 (15 期)

現在、COVID-19 に対する感染者数・重症者数・死亡率減少に最も貢献しているのは mRNA ワクチンです。もうすでにご存知の方が多くと思いますが、この稿では、効果を示す仕組みや副反応がどうして起きるのかについて解説したいと思います。従来のワクチン(生ワクチン、不活化ワクチン、トキソイド、遺伝子組み換えサブユニットワクチン、多糖類—蛋白質結合型ワクチンなど)は、新薬開発と同じような臨床試験を繰り返し、最低でも 10-15 年かかると言われてきました。しかし、今回の BioNTech・ファイザー社の BNT162b2 (tozinameran)<sup>1)</sup>やモデルナ社の mRNA-1273 (spikevax)の mRNA ワクチンは SARS-CoV-2 の流行から僅か1年以内に使用可能になり(もちろん臨床試験はきちんと行っています)、まさに「革命的」なスピードで開発が行われました。なぜこのようなことが出来たのでしょうか。答えは簡単です。彼らは以前から「mRNA Therapeutics」を合い言葉に mRNA による薬作りを開始していたからです。特に、BioNTech社(ドイツ)の副社長である K. Kariko 氏は、2000 年頃からペンシルベニア大学の D. Weissman 氏の研究室に留学し mRNA の自然免疫活性化機構や免疫原性を取り除く研究を開始していました。その過程で得られた数多くの知見が、今回の「炎症をおこさない mRNA ワクチン」の開発に繋がりました。彼女の研究はほとんど論文として公表されていますので、小生のようなワクチン門外漢でも少しは理解が可能です。一方、モデルナ社のワクチンの内容についてはほとんど論文として公表されていませんので、本稿はBioNTech社のワクチンを中心に述べることになります。

さて、ワクチンは実際に病原性の微生物がヒトに感染する以前に、ヒトにそれらが実際に感染したときの疑似体験をさせながら免疫系を活性化する仕組みです。この時に、免疫記憶が重要な役割を果たしていることは言うまでもありません。遺伝子発現のセントラルドグマは、DNA→RNA→蛋白質ですが、DNA から成熟 mRNA が出来るには幾つかの過程を経なければなりません。DNA 配列は、DNA 依存 RNA ポリメラーゼにより pre-mRNA に忠実に転写され、スプライシング、5'-Cap 化、3'-poly(A) 化と進み成熟して核から細胞質に放出されます。従って、成熟した標的 mRNA を直接投与することができれば、従来型の蛋白質ワクチンや DNA ワクチンよりも直接的に標的とする蛋白質を合成することが出来るという点で優れています。我々の細胞は絶えず外敵(ウイルスやバクテリアなど)の攻撃を受けています。これにまず対抗するのが自然免疫です。細胞表面、エンドソーム膜や細胞質に外敵の持つ特異な構造物に対抗する仕組みを持っており、それらがセンサーとして働き、敵襲を免疫細胞に知らせインターフェロン等を放出して戦います。さらに獲得免疫の準備も行います。一方、ヒトの mRNA にはこれらの自然免疫に引っかからない仕組みがあり、それが化学修飾ヌクレオシドの導入です。図1に cap 構造を示しましたが、メチル基がいくつか導入されています。また、mRNA 本体部分にも例えば、ウリジンがシュードウリジンやアデノシンが N6-メチルアデノシンに変換されることで自然免疫の活性化を回避しています。これらの化学修飾ヌクレオシドは既に tRNA 中にも数多く見られることから、これらの修飾が自然免疫を活性化すれば、我々ヒトは生存できません。5'-cap 構造や3'-poly(A) 構造は、末端から切断するエキソヌクレアーゼ抵抗性と翻訳をスムーズに行わせる役割もあります。

さて、話を本題に戻します。SARS-CoV-2 はヒトに感染したときに、ヒトの ACE-2(アンジオテン

シン変換酵素2)を受容体としてウイルス表面に出ている突起(スパイク)を使って結合し、細胞の中に入ります。スパイクがACE-2と結合する部分(受容体結合モチーフ)だけの短いmRNAの場合は効果が低く、既存のmRNAワクチンはスパイク蛋白全長の配列をカバーしています。BioNTech社のワクチンのmRNA構造を図1に示しましたが、スパイク部分に

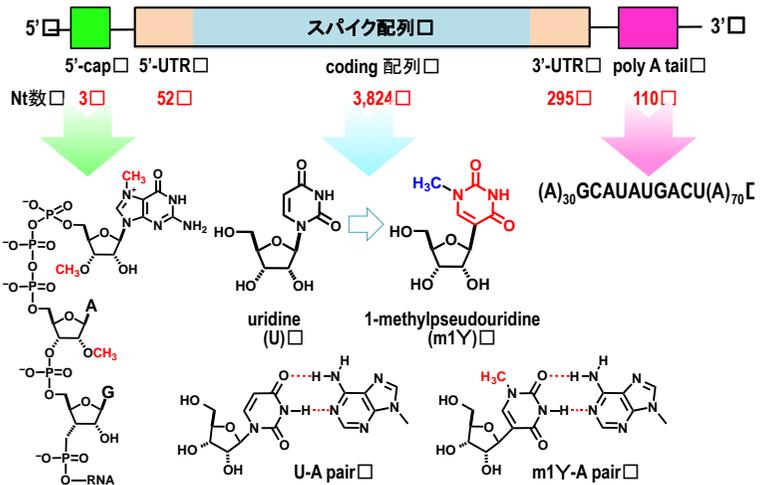


図1. BioNTech・ファイザー社の mRNA の組み立てと修飾

3,824ヌクレオチドを、両側の非翻訳部分、5'-UTRはヒト $\alpha$ -globin mRNA (52ヌクレオチド)を、3'-UTRはミトコンドリア 12Sリボソーム RNA 配列(295ヌクレオチド)を利用し、3'-poly(A)部分は(A)<sub>30</sub>GCAUAUGACU(A)<sub>70</sub>とタンデム型にして安定性を増強しています。さらに、ウリジンが連続する部分は自然免疫を活性化しやすいので、すべてのウリジン(U)を1-メチルシュドウリジン(1-Me- $\Psi$ )に置換しています(部分的に置換すると混合物になるので全部のUを置換します)。Uを1-Me- $\Psi$ に置換してもAとの水素結合様式は変わりません(図1)。詳細は報告されていませんが、ウイルスの遺伝子配列(RNA)が明らかになると、その鋳型を酵素合成し、T7 RNAポリメラーゼ(ファージ由来のRNA pol)で1-Me- $\Psi$ TP、CTP、ATP、GTPの4種類のNTPsを使って転写させた後、cap部分を結合して、一部混在する二本鎖RNA部分を除き(これが重要であると言われています)、最後に脂質ナノ粒子(LNP、図2)に包んで完成です。すべてのパーツは市販されていますので、問題は大量合成と精製だと思います。K. Kariko氏はNHKの山中伸弥氏との対談で、「標的配列が明らかになってから2ヶ月以内に」mRNAワクチンが準備できると言っています。さて、ワクチンにはアジュバントが必要で、これなしには活性化が弱いといわれ、古くはアルミニウム塩、最近では自然免疫を活性化するDNAオリゴマーが使われています。しかし、今回のmRNAワクチンでは徹底的にmRNA部分の自然免疫活性化を回避しています。多分、脂質部分にアジュバント効果を担わせているのだと思います。

図2に、最初のsiRNA薬(トランスサイレチン型アミロイドーシス治療薬)パティシラン、2種類のmRNAワクチンを包んでいる脂質誘導体の構造と保管温度を示しました。基本的には、分子量約二千のポリエチレングリコール(PEG)化脂質、膜形成に参与するリン脂質(DSPC)、膜を安定化するコレステロールとmRNAのリン酸部分とイオンの相互作用するイオン化可能なアミノ化脂質からなっています。これらの構造の違いが保管温度の違いに繋がり、副反応(従来のワクチンに比べて副反応が多い)の種類や出やすさになっていると思われます。しかし、それらに関する研究報告はほとんどないので、今後の研究によって、冷蔵庫温度での保管や低副反応化が達成されることを望んでいます。

mRNAワクチンは肩に対する筋肉注射で投与されます。小生は肩の筋肉細胞内で活性化(蛋

白合成)されると思っていましたが、実は違うらしいのです。肩に筋肉注射された mRNA ワクチンはリンパ経路で近くのリンパ節に運搬され、リンパ節内の樹状細胞やマクロファージに取込まれてコードしたスパイク蛋白質が合成されます。さらに、産生されたスパイク蛋白質の一部は分解され、そのペプチド断片が抗原として HLA (ヒト白血球抗原) を介して提示され、T 細胞の活性化と増殖を促します。その結果、コロナ反応性 T 細胞はヘルパー T 細胞として B 細胞に抗体合成を指示するとともに、キラー T 細胞に感染細胞殺害を指示します。このように、合成された抗体はウイルスを不活性化するとともにキラー T 細胞として感染細胞を殺します。従って、mRNA ワクチンは、感染したウイルス量が少ない場合は、感染予防に働き、ウイルス量が多くても感染細胞を殺して重症化を防ぎます。現在、オミクロン型ウイルスが流行し始め、感染力はデルタ型よりは異常に強い(空気感染?)のですが、重症化移行率はそんなに高くはないと言われ始めています(まだ、結論をだすのは時期尚早ですが)。オミクロン型は、すぐく変異が多い(受容体結合ドメインで30カ所以上)のですが、現在の mRNA ワクチンの3回目の接種で効果があるとされていますし、先述したようにすぐに新しい配列を持つ変異型にも対応できる mRNA ワクチンの生産が可能なのでそんなに心配することはないと思います。だからといって感染しても良いと思わないでください。後遺症が多岐に亘り長期に続く恐れがあることを思い出してください。このウイルスは、免疫が弱いヒト(例えばエイズ患者(HIVはCD4陽性の T 細胞に感染し、増殖の際に T 細胞を殺してしまいます)、がん化学療法を受けている患者など)の体内で激しく変異を起こし新型変異株を撒き散らす可能性があることをよく考えねばなりません(南アフリカは HIV 罹患率が最も高い地域の一つです)。また、国内の緊急時に間に合わせるためには、いつまでも外国製に頼ってばかりはいられず、国内での研究・開発が必要です。世界中にくまなくワクチンを配布・接種しなければ、新型変異株の発生は抑えられませんので、国内での使用分の確保とともに国産ワクチン開発が極めて重要になります。

	patisiran Onpattro	tozinameran BNT162b2	spikevax mRNA-1273
適応	TTR型アミロイドーシス	新型コロナウイルスワクチン	新型コロナウイルスワクチン
成分	化学修飾siRNA	化学修飾mRNA	化学修飾mRNA
	DLin-MC3-DMA (ionizable lipid)	(4-hydroxybutyl)azanediyl-bis(hexane-6,1-diyl)bis(2-hexyldecanoate)	(heptadecane-9-yl 3-(2-hydroxyethyl)(6-oxo-6-(undecyloxy)hexyl)amino)octanoic acid
LNP 成分	PEG <sub>2000</sub> -C-DMG	2-(PEG-2000)-N,N-ditetradecyl-acetamide	PEG <sub>2000</sub> -DMG
	DSPC	DSPC	DSPC
	cholesterol	cholesterol	cholesterol
保管 温度	-20 °C (48ヶ月)	-60 ~ -90 °C (6ヶ月)	-20 °C (6ヶ月)

図 2. 脂質ナノ粒子成分の比較と保管温度

最後に、「mRNA Therapeutics」について一言述べて締めくくります。現在では mRNA は主にワクチンとして、病気の予防(ウイルスだけでなくがんを狙っている会社もあります)に使われていますが、用途はそれだけでありません。モノクローナル抗体を細胞内で働くようにすること、遺伝子編集の蛋白性装置を細胞内で発現させることも標的になっているようです。これらを達成するためには mRNA の性質や細胞内への移行率をもっと改善しなければなりません。先述したように mRNA の自然免疫活性化は回避できましたが、安定性(持続性)についてはほとんど手つかずです。現状の mRNA ワクチンは半減期が短すぎるという意見があります。予防ワクチンではこれで十分だが、慢性病で使用するためにはもっと長い半減期が必要だとも言われています。また、効果を最大化し副反応を最小化するには投与量をもっと下げる必要があります。このために、自己増殖性の RNA や、cap や poly(A)部分を持たない環状 RNA、リン酸部分を化学修飾した mRNA を開発しているグループもあります。一方、PEG 脂質で包んだ LNP は、どのような機序でリンパ移行し、どの位が免疫細胞内に取込まれているのか(トランスサイレチン型アミロイドーシス治療薬パティシランは、投与した量の最大2%しか細胞質に取込まれません)を明らかにし、さらに取込み量を増やす仕組みを作る必要があります。低分子医薬は現存する病気の約15%しか治療できないので新しい治療モダリティが必要だと言われ続けてきました。抗体医薬は細胞表面や細胞外に放出された蛋白質との結合は得意ですが、細胞内で働かすことができません。核酸医薬は幾つかの遺伝病の治療には成功しつつありますが、例えば、脳内に原因がある病気の治療は満足が行かない場合も出てきています。もっと、脳内への浸透を考える必要があります。核酸医薬はすでに新しい治療モダリティとして位置づけられていますが、それに mRNA が加わることによって、もっと治療可能な病気を増やすことが出来るようになると思います。

現在、世界で感染の再拡大が急激に起きています。感染者はワクチン未接種者が主で、所謂ブレークスルー感染(2度のワクチン接種しても感染する)も増えています。これにオミクロン株の感染増加が追い打ちをかけているという図式です。アレルギー体質などでワクチン接種が出来ない方は、仕方ありませんがそれ以外の皆さんはワクチン接種を是非お願いします。現在の mRNA ワクチンは感染後の重症化移行率が極めて低いのが特徴です。更に、かなり重症化移行率を下げる経口投与可能な抗ウイルス薬(プロテアーゼ阻害剤)もすぐに申請される予定です。従って、ワクチンと、もし万が一感染したら経口薬を投与し自宅で安静にすることで入院する必要もないような、現在のインフルエンザウイルス感染症のような病気になる可能性が多いにあります。経済的な損失もなく、どこでも旅行ができる安心・安全な世の中を速く取り戻したいものです。

## 文献

1) KD. Nance, JL. Meier, *ACS Cent. Sci.* 7, 748-756 (2021)

2021年12月17日 記

2022年1月14日 一部修正