

【研究最前線】 3つのパラダイムシフト

未来創剤学研究室・卓越教授 原島 秀吉

1 創薬におけるパラダイムシフト

2023年10月3日、カタリン・カリコ博士とドリュエー・ワイズマン教授にノーベル生理学・医学賞が授与された。カリコ博士が女性研究者・外国人研究者としての苦難を超えて mRNA ワクチンの実用化への道を拓いた話は感動的で、我々研究者にエネルギーを与えてくれる。彼女の「子どもはあなたをみて、見習います。あなたが子どもの模範になることが重要なのです」という言葉は、女性だけでなく、すべての人の心を打った。

21世紀に入り、医薬・創薬の分野ではパラダイムシフトが続いている。最初のパラダイムシフトは低分子医薬品から高分子医薬・抗体医薬の登場であった。このような劇的な変化に素早く対応するのが不得手な日本人は抗体医薬に出遅れたが、2014年のオプジーボの登場で一矢報いた感はある。本庶佑教授は免疫チェックポイント阻害因子の発見とがん治療への応用で2018年にノーベル賞を受賞している。抗体医薬の次は核酸医薬・遺伝子治療、再生医療と続々と新しい治療法が21世紀の世の中に出現してくる。再生医療においては、2012年に山中伸弥教授がノーベル賞を受賞、2015年には寄生虫感染症治療薬の開発で大村智教授がノーベル化学賞を受賞していることを考えると、21世紀の医薬・創薬の分野における日本人の貢献度は決して低いはずはないと思われるのであるが、医薬品として世に出す段階になると米国・欧州の後塵を拝しているのは何故であろうか。1980年代に Japan as Number 1 と言われたとき、日本は原理的な発見においては劣るが、その応用・実用化においては他国の追随を許さないものがあつた。ソニー、パナソニック、トヨタと世界を席卷する企業が戦後出現したのであるが、医薬品の世界では、特に21世紀に入り、日本の創薬・医薬の分野においては、何故か、実用化において厳しい状況に直面している。

2 ワクチンにおけるパラダイムシフト

2020年に登場した新型コロナウイルスに対する mRNA ワクチンは、圧倒的な開発スピードのみならず、免疫誘導の特性においても非常に優れている。ウイルスを体内から除去し、感染による重篤な症状

を緩和し、記憶免疫を誘導するためには体液性免疫のみならず細胞性免疫の誘導が不可欠である¹⁾。SARS-Cov-2のようなウイルスは、体液性免疫のみでは免疫系をすり抜けることが可能であるが、細胞性免疫の T-細胞となるとそうはいかない。たとえ変異型ウイルスが出現してもある程度の期間であれば、保存された抗原エпитープを認識することで対応することが可能なのである。mRNA ワクチンは体液性免疫と細胞性免疫を誘導することが証明されている。mRNA ワクチンを2回投与後の CD4⁺ 反応の中央値はアデノウイルスワクチン (AZD1222: オックスフォード・アストラゼネカ) の 3-4 倍高く、Sputnik V ワクチン (アデノウイルス、ロシア製) の 5-6 倍、中国 Sinovac/Sinopharm の不活化ワクチンの 10 倍以上も高かった²⁾。さらに、体液性免疫と細胞性免疫が起動する速度においても mRNA ワクチンが最も早かった。

ワクチン製造においては、野生型病原体を扱うことが必須となり、細胞培養の条件下で不活化したり、機能制御したりしなければならないが、病原体の漏出を防止するために、工場設備に厳しい安全性の管理が要求される。実際、1977年に英国で smallpox が、1995年にベネズエラで equine encephalitis が、2004年に SARS epidemic が、2007年に英国で foot and mouth disease が漏出して事件となっている。一方で、mRNA ワクチンはウイルスのゲノム配列を決定するときのみ野生型ウイルスを必要とするだけなので、安全性管理の面でも有利となる。また、ワクチン製剤の中に生きた成分が入っていない点においても mRNA ワクチンは有利である。例えば、免疫不全の患者、妊婦、喘息症状のある小児、24か月未満の乳幼児などに対しては、生きた成分の入っているワクチンを使用することは避けるべきである、とされている。一方で、mRNA ワクチンは免疫不全の HIV 患者、血液透析患者、がん患者などにも実際に用いられているし、妊婦においても使用できることが FDA と EMA により認められている。

不活化ワクチンなどのワクチンは獲得免疫を誘導するためにアジュバントを必要とする³⁾。数あるアジュバントの中でどのワクチンが最適であるかを定めること自体が大変であり、アジュバントによって毒性

が出てしまうこともある。一方で、mRNA ワクチンの場合にはアジュバントを必要としない、というのも mRNA ワクチン自体がアジュバント能を有しているからである。脂質ナノ粒子と mRNA のコンビネーションによりアジュバント能が生じることが分かっている。

PAMPs (pathogen-associated molecular patterns)はある種の微生物(ウイルスを含む)が進化の過程で保存している分子構造である。これらは宿主が有する Toll-like 受容体などのパターン認識分子に認識され、種々の自然免疫の経路を活性化する。PAMPs は不活化したワクチンにも存在するし、アデノウイルスベクターもこれを有する。ワクチンが有する PAMPs はアジュバント能を有し、自然免疫を活性化し、T-細胞の分化を誘導して獲得免疫を起動する。しかしながら、時に必要以上の炎症反応を誘導してしまい、ワクチンによる毒性の原因となる。一方で、mRNA のキャリアーである脂質ナノ粒子は PAMPs を含まないが、脂質ナノ粒子自体が好中球を誘導してサイトカインやケモカインを放出させることが *in vivo* で示されている。この結果は、脂質ナノ粒子による mRNA は PAMPs を構造として有さないにもかかわらず、細胞内のパターン認識受容体によって認識され、自らアジュバントとして機能し、獲得免疫を起動するのである。これまでの報告によれば、mRNA ワクチンの毒性はアデノウイルスベクターや蛋白ワクチンよりも軽微であり、不活化ワクチンや DNA ワクチンよりも高い傾向がある⁴⁾。

3 Project Lightspeed (1)

このように mRNA ワクチンは従来のワクチンに対して優れた特性を有しているが、実際に使用されることはなかった。大きな理由として、① mRNA を体内に投与すると炎症反応が起こってしまい、目的を達成することができないこと⁵⁾、② mRNA はとても不安定で体内に入れればすぐに分解されてしまい、目的を達成することができないこと、が知られていた。しかしながら、2019 年末に COVID-19 が中国武漢で発生し、2020 年 3 月に WHO がパンデミック宣言をすることになる。このウイルスに対抗するためには、どうしてもワクチンが必要である、という状況になったとき、mRNA ワクチンが登場して人類の救世主になった。2020 年 12 月には FDA も EMA も緊急承認に至っている。ウイルスのゲノム配列が 1 月 11 日に公開されてから 11 か月というスピードであった。

2020 年 1 月 27 日に、BioNTech 社は自ら“Project

Lightspeed”と称して新型コロナウイルスに対する mRNA ワクチンの開発に入り、1500 名程度の社員の半分を光速プロジェクトに動員し、24 時間体制で開発に着手した。BioNTech はベンチャー企業とは言っても、Sahin と Tureci が最初に立ち上げた抗体医薬のベンチャーを 1800 億円で売却に成功しているため、自己資金もネットワークも優秀な社員もいる企業とも言える。3 月 11 日に WHO がパンデミック宣言をすると 3 月 13 日には Pfizer 社と mRNA ワクチンの共同開発契約を締結している。4 月 22 日には臨床試験 I/II 相の許可をドイツで得て、4 種類の候補の安全性試験を開始した⁶⁾。7 月 24 日には、膜型全スパイク蛋白を抗原とする候補に絞って臨床試験 II/III 相を 150 か所、4 万 4 千人の規模で開始した。その結果、95%という高い有効性と副作用はマイルドという結果が得られ⁷⁾、11 月 18 日に FDA と EMA に緊急承認の申請を行っている。このように、本来行うべき過程を全て行い、通常は 10 年かかることを 11 か月で完了させてしまったのである。

こうなると、益々、どうして奇跡のスピードで世界初の mRNA ワクチンを完成させることができたのだろうか、という疑問が生じてくる。

4 DDS におけるパラダイムシフト

一方、DDS の領域でも 2010 年にパラダイムシフトが起こっていた。Nature Biotechnology に ionizable cationic lipids (pH-responsive cationic lipids と)という機能性脂質 DLin-KC2-DMA が報告された⁸⁾。マウスに siRNA を静脈内投与後、肝臓で発現しているマーカー遺伝子(FVII)の発現を 50%抑制する値を ED50 として共通の指標としている。測定は血中の FVII タンパク質を定量することで間接的に測定が可能である。DLin-KC2-DMA は N 基を有する pH-応答性の親水基と疎水性の 2 本足をリンカーで結合した構造を有している。KC2 とはリンカーの炭素原子が 2 個という意味である。1 個もしくは 3 個となるだけで ED50 は約一桁下がってしまうのである。DLin-KC2-DMA は 2006 年に Nature に報告された DLin-DMA の改良型であり⁹⁾、リンカーの構造や親水性基の構造を網羅的に改変して、*in vivo* screening により最も活性の高いものが DLin-KC2-DMA であり、ED50 = 0.02 mg/kg で DLin-DMA の 100 倍も活性を向上させることに成功していた。この結果を初めて見たとき、信じられないほどの衝撃を受けた。有り得ないだろう、という感じであった。*in vivo* で 100 倍も活性を挙げることも自体が困難で

あると同時に、当時我々の研究室で開発していた中で最も活性の高い R8/GALA-MEND の活性が 1 mg/kg であったので、追跡不能となってしまったからである。これらのナノ粒子を静脈内投与すると 80% 程度は肝臓に集積するので肝臓への移行量は 20% しか伸び代がない。また、細胞内の律速段階と考えられるエンドソーム脱出効率は、当時の我々の解析結果では 70% 程度に向上していたので、伸び代は 30% しかない。 $(1 \times 1) / (0.8 \times 0.7) = 1.78$ 倍が理論的な上限と考えられた。100 倍という差は到底追いつかないと思われた。今から思うとこれが分岐点であった。その後、アルナイラム社が中心となってさらなる最適化を行い、DLin-MC3-DMA(MC3 と略)という超高性能な ionizable cationic lipid(iCL)が誕生した¹⁰⁾。その活性は、ED50 = 0.005mg/kg であり、2018 年にはオンパットロ®という世界初の siRNA 医薬品が登場する。MC3 は iCL のゴールドスタンダードになった。iCL の原理を発案したのはカナダの Pieter Cullis 教授であり、彼は多数のベンチャー企業を設立し、そのほとんどが成功しているという天才であり、彼が設立した Acuitas というベンチャー企業が iCL の性能を向上させていた。

我々は 2011 年には独自の iCL の設計に着手し、2012 年には YSK05 を論文発表¹¹⁾、引き続き、YSK-C12、YSK-C13 と改良を続けた^{12, 13)}。その切れ味は抜群であったので、iCL の開発に本格的に着手して、カリス先生に追いつき、最終的には追い越したいと考えていた。独自のライブラリーを作成し、CL4H6 をはじめとする多数の優れた iCLs の創製に成功し、2019 年に論文発表した¹⁴⁾。これらの研究は佐藤悠介助教が分子設計を行い、脂質ナノ粒子をマイクロ流路で作成し、*in vivo* で機能評価を行うことにより同定に成功した。YSK は彼のニックネームに基づいて命名したものである。ライブラリーから生まれた高性能 iCLs については特許出願を行い、すでに米国、欧州、中国などで特許の取得に成功している。mRNA 送達への応用¹⁵⁾、ゲノム編集への応用¹⁶⁾、リガンドを用いない組織・細胞標的化への応用^{17, 18)}、ヘルパー脂質の重要性¹⁹⁾など、研究は大きく発展中である。

5 Project Lightspeed (2)

Project Lightspeed がどうして 11 か月で mRNA ワクチンを開発することができたのか？という疑問をもう一度考えてみよう。

2013 年にカリコ博士はペンシルベニア大学から

BioNTech 社へ副社長として迎えらる。CEO の Sahin 博士と意気投合した結果であり、BioNTech 社における mRNA ワクチンの開発は大きく加速した。2017 年にはジカウイルスに対する mRNA ワクチンの開発に成功²⁰⁾、2018 年にはインフルエンザに対する mRNA ワクチンの開発に成功した²¹⁾。BioNTech 社はインフルエンザに対する mRNA ワクチンを共同開発する契約を 2018 年にファイザー社と提携し、臨床試験に入っていた。

このような状況下、2019 年末に中国の武漢で新しいウイルスが発生したという情報が世界中に伝搬し始めたが、この時点では、将来深刻な問題に直面するであろうとは、多くの人は思っていなかった。しかしながら、Sahin 氏は別で、早くこの情報に着眼し、もし、感染が世界中に拡散したら大変なことになるであろう、必ずワクチンが必要になる、と気付いていた。世の中が事の重大性に気付く前に、Sahin 博士は BioNTech 社が mRNA ワクチンの開発に着手するかどうかを判断しなければならなかった。回顧録として、この時、カリコ博士もワイズマン博士も、新型コロナウイルスに対する mRNA ワクチンを創ろうとは夢にも考えてはいなかった、とのことである。Sahin 博士は重要人物(社内だけでなくベンチャーキャピタルなども含む)を説得した上で開発を決定し、1 月 27 日には Project Lightspeed が開始となった。その結果、95%という非常に高い有効性、かつ、副作用はマイルドである、という結果が 11 月 18 日に公開され、12 月 2 日には英国で、その直後に FDA、EMA と緊急承認されたことはすでに述べたとおりである。

このように、BioNTech 社による mRNA ワクチンの開発は極めて正攻法であり、かつ、それらが奇跡のスピードで実行されたことになる。では、彼らは超人なのであろうか。すでに述べたように、BioNTech 社はファイザー社とインフルエンザに対する mRNA ワクチンの共同開発契約を 2018 年に結び、臨床試験に入っていたことを考えると、mRNA の配列をインフルエンザから新型コロナに置換すれば、2018 年、2019 年、2020 年の 3 年間で完成させた、と解釈することもできる。通常のスピードでは 10 年かかるところを、Sahin COE は 24 時間体制を取っていたので、スピードは 3 倍であり、パンデミックという絶体絶命のピンチの状況下で、集中力と団結力が高まった結果、2020 年 11 月中に実質的に完成してしまった、という解釈をどう思われるだろうか。

2023 年のノーベル生理学・医学賞はカリコ博士と

ワイズマン博士に授与された。時代の流れにシンクロナイズして、3つのパラダイムシフトが創薬・医薬品開発の領域で次々と起こり、そこへ新型コロナウイルスのパンデミックが絶妙のタイミングで勃発したことが契機となって、奇跡的な mRNA ワクチンの開発が実現し、めでたくノーベル賞受賞へと繋がった。

我が身を振り返ると、BioNTech 社が使用した脂質ナノ粒子に使用した ALC-0315 と同等の性能を有する iCL を、2020 年の段階で我々は有していたのであるが、mRNA ワクチンの開発には一歩も足が動かなかった。北大の獣医学の先生方はウイルス研究のプロなので、もっと前から密接な連携をとっておけば、その一歩を踏み出すことができたかもしれない。Sahin 博士の取った対応と比較すると、あまりに passive で情けなく思った。北海道大学という素晴らしい研究環境の利を活かして、次なるパンデミックに備えておかなければならない。

参考文献

- 1) Rzymiski P, Szuster-Ciesielska A, Dzieciatkowski T, Gwenzi W, Fal A. mRNA vaccines: The future of prevention of viral infections? *J Med Virol.* 95(2), e28572 (2023).
- 2) Ben Ahmed M, Bellali H, Gdoura M, et al. Humoral and cellular immunogenicity of six different vaccines against SARS-CoV-2 in adults: a comparative study in Tunisia (north Africa). *Vaccines.* 10(8), 1189 (2022).
- 3) Kobiyama K and Ishii K. Making innate sense of mRNA vaccine adjuvanticity. *Nature Immunol.* 23 (4), 474-476 (2022).
- 4) Kouhpayeh H, Ansari H. Adverse events following COVID-19 vaccination: a systematic review and meta-analysis. *Int Immunopharmacol.* 109 (108906), 108906 (2022).
- 5) Kariko K, Buckstein M, Ni H, Weissman D. Suppression of RNA recognition by toll-like receptors: The impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity* 23, 165-175 (2005).
- 6) Walsh EE, Tureci O, Sahin U, Gruber WC, et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. *N. Engl. J Med.* 383 (25), 2439-2450 (2020).
- 7) Polack FP, Sahin U, Tureci O, Gruber WC, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med.* 383 (27), 2603-2615 (2020).
- 8) Semple SC, Akinc A, Cullis PR, Hope MJ, et al. Rational design of cationic lipids for siRNA delivery. *Nature Biotechnology* 28(2), 172-176 (2010).
- 9) Zimmermann TS, et al. RNAi-mediated gene silencing in non-human primates. *Nature* 441, 111-114 (2006).
- 10) Jayaraman M, Cullis PR, Hope MJ, et al. Maximizing the potency of siRNA lipid nanoparticles for hepatic gene silencing in vivo. *Angew. Chem. Int. Ed.* 51, 8529-8533 (2012).
- 11) Sato Y, Hatakeyama H, Sakurai Y, Hyodo M, Akita H, Harashima H. A pH-sensitive cationic lipid facilitates the delivery of liposomal siRNA and gene silencing activity in vitro and in vivo. *J Control Release.* 163(3), 267-76 (2012).
- 12) Watanabe T, Hatakeyama H, Matsuda-Yasui C, Sato Y, Sudoh M, Takagi A, Hirata Y, Ohtsuki T, Arai M, Inoue K, Harashima H, Kohara M. In vivo therapeutic potential of Dicer-hunting siRNAs targeting infectious hepatitis C virus. *Sci Rep.* 4, 4750 (2014).
- 13) Yamamoto N, Sato Y, Munakata T, Kakuni M, Tateno C, Sanada T, Hirata Y, Murakami S, Tanaka Y, Chayama K, Hatakeyama H, Hyodo M, Harashima H, Kohara M. Novel pH-sensitive multifunctional envelope-type nanodevice for siRNA-based treatments for chronic HBV infection. *J Hepatol.* 64(3), 547-55 (2016).
- 14) Sato Y, Hashiba K, Sasaki K, Maeki M, Tokeshi M, Harashima H. Understanding structure-activity relationships of pH-sensitive cationic lipids facilitates the rational identification of promising lipid nanoparticles for delivering siRNAs in vivo. *J Control Release.* 295, 140-152 (2019).
- 15) Hashiba A, Toyooka M, Sato Y, Maeki M, Tokeshi M, Harashima H. The use of design of experiments with multiple responses to determine optimal formulations for in vivo hepatic mRNA delivery. *J Control Release.* 327, 467-476 (2020).
- 16) Suzuki Y, Onuma H, Sato R, Sato Y, Hashiba A,

- Maeki M, Tokeshi M, Kayesh MEH, Kohara M, Tsukiyama-Kohara K, Harashima H Lipid nanoparticles loaded with ribonucleoprotein-oligonucleotide complexes synthesized using a microfluidic device exhibit robust genome editing and hepatitis B virus inhibition. *J Control Release*. 330, 61-71 (2021).
- 17) Younis MA, Sato Y, Elewa YHA, Kon Y, Harashima H. Self-homing nanocarriers for mRNA delivery to the activated hepatic stellate cells in liver fibrosis. *J Control Release*. 353, 685-698 (2023).
- 18) Younis MA, Sato Y, Elewa YHA, Harashima H. Reprogramming activated hepatic stellate cells by siRNA-loaded nanocarriers reverses liver fibrosis in mice. *J Control Release*. 361, 592-603 (2023).
- 19) Kimura S, Harashima H. On the mechanism of tissue-selective gene delivery by lipid nanoparticles. *J Control Release*. 362, 797-811 (2023).
- 20) Pardi N, Kariko K, Weissman D, et al. Zika virus protection by a single low dose nucleoside modified mRNA vaccination. *Nature* 543(7644), 248-251 (2017).
- 21) Pardi N, Kariko K, Weissman D, et al. Nucleoside-modified mRNA immunization elicits influenza virus hemagglutinin stalk-specific antibodies. *Nature Commun*. 9, 3361 (2018).

同窓会 HP: 2023 年 12 月 8 日公開