

<走馬灯の逆廻しエッセイ> 第29話「これからのワクチンは分子生物学mRNAワクチン」

投稿者 古市 泰宏

ワクチンは、生体を持つ免疫力を特定の標的に向けて誘導する素晴らしい医薬品である。ウイルスや細菌やカビなどの外来異生物 (抗原) が体内に侵入してくる時、我々の身体は、その表面タンパク質の特徴的なアミノ酸配列に対して結合する抗体を作り、継続した侵入を許さない。この原理を利用して、これまでにいろんなタイプのワクチンが作られてきた。それらは、いろいろ工夫と経験を凝らして、多種にわたる。筆者にとって印象的なワクチンは「丸ごと」の抗原を使うポリオワクチンである。米国ソーク博士が開発したソークワクチンはホルマリンで不活化したウイルス懸濁液を筋肉注射する。そのあとで、セービン博士らが開発したのは「丸ごとウイルス」であって、生きているウイルスを経口投与して、腸内でゆるやかにウイルスを増殖させるようになっていた。砂糖で甘みがつけられていて、セービンワクチンは子供たちには受け入れられやすいワクチンであった。このセービンワクチンは、数億人分が――ポリオのパンデミックに備えて、米国内に備蓄してあるそうである。

ガロ博士の提案

この備蓄ワクチンに関して、昨年2～3月ごろ、米国でコロナウイルス感染者数が急騰し、有効な治療薬のあてもなく、ワクチンのあてもなく、Social Distance (密を避ける) くらいしか打つ手がなかった米国が、最悪の状況にあった時、これを見かねた、ガロ博士 (メリーランド大) からの、驚きの提案が6月 Science 誌に載った¹⁵¹。ガロ博士は、1980年代にHIVで優れた研究を残し、名を馳せたものの米・仏2国間の先陣争いスキャンダルから、ノーベル賞を逸した有名なウイルス学者であり、筆者も面識がある。米大統領のアドバイザーとして昨年よくテレビで見かけるファウチ博士 (Dr. A.S. Fauci) の昔の上司でもある。そのガロ博士が提案で言っている「コロナとポリオは、抗原は違うが、セービンワクチンは自然免疫を高めるので、コロナ感染や重症化を抑える効果が期待できるはず、打つ手がないなら、備蓄を解いて、ポリオ生ワクを皆に配ってはどうか？量は充分にある」という提案だった。ちょうどその頃、日本でも筆者が「結核予防のBCGが義務化されている国ではコロナウイルスの感染率が低いのは、異種抗原の刺激により、自然免疫による防御機構が強くなるからではないか (26話で)」などと考察していた頃であった――実際、BCGは弱毒結核菌を皮下注射する生ワクチンである。

それから混乱の1年間がすぎ、幸いにも、超スピードでファイザー・BioNtech社とモデルナ社のワクチンが開発され、抗原を特定した液性免疫と自然免疫の両方に働くmRNAワクチンを手にすることができて、アメリカは落ち着きを取り戻した。米国の友人も、「2度目のモダーナ (モデルナワクチンのこと) を接種したので旅行に出かける。娘夫婦や孫たちが来ても安心だ」と言っている。しかし、これまでに米国が払った、コロナ感染による50万人を超える死者の代償は余りにも大きい。第1次、2次大戦+ベトナム戦争の兵士の死者よりも多いとバイデン大統領は言っている。ちなみに、日本では死者1万人弱 (2021年4月26日現在) と比較的少ない被害ですんでいる。筆者は、ガロ博士の提案論文を読んだ時、「これはいい」と思ったが、結局、この提案はトランプ行政では採択されなかった。もし、ガロ博士の提案を実行していたら、50万の死者にはならなかったのではないかとはいえるが、反面、新しい概念によるmRNAワクチンの輝かしい幕開けに「水を差す」ことになったのではないかと、思っている。

mRNAワクチンは分子生物学が満載

そんな非常時に開発されたmRNAワクチン技術だが、人類が会える病原体や、将来的には内在性のがん細胞に対しても適応できる道筋を開いてくれた(後述)。今回、mRNAワクチンが何億人にも臨床応用され、mRNA医薬の安全性と効果が証明されたことは、RNA研究者にとっては、「良い時代になった」といふべきであろう。ただ、mRNAワクチンは、ハッキリ言って、分子生物学が詰まったワクチンであり、多くの知識が、正確に詰め込まれていなければならない。これまで、ワクチンは免疫学の範疇に入り、そのことにより、薬理や副作用の原因不明が――ファジーであっても――許されて来ているが、mRNAワクチンでは、データ重視で「原因と結果」をハッキリさせねばならなくなるであろう。月並みな激励であるが「しっかり勉強しておかねばならない」し、次には、新規発見や概念を大胆に取り入れて、臨床試験を積み重ねて、安全で有効な、臨床応用を実現しようという「挑戦的なスピリッツ」が必要だ。

薬業界をよく知る友人から、「ファイザーのmRNAワクチンがPMDAから特例承認をうけた折の資料」が紹介された。㊦部分が多々あり、黒塗りの部分が多くある文書だが、mRNAをワクチン化するための、多くの研究が事細かに書いてあり、とても参考になった。ポイントになった主なる項目は第28話で紹介しているが、今一度整理してみたい。ワクチンmRNAの全体像は図1のようであり、昨12月に配信した第28話「**コロナウイルスへのメッセンジャーRNAワクチン**」で、作り方などを想定しているが、おおよそ、そのとおりだった。

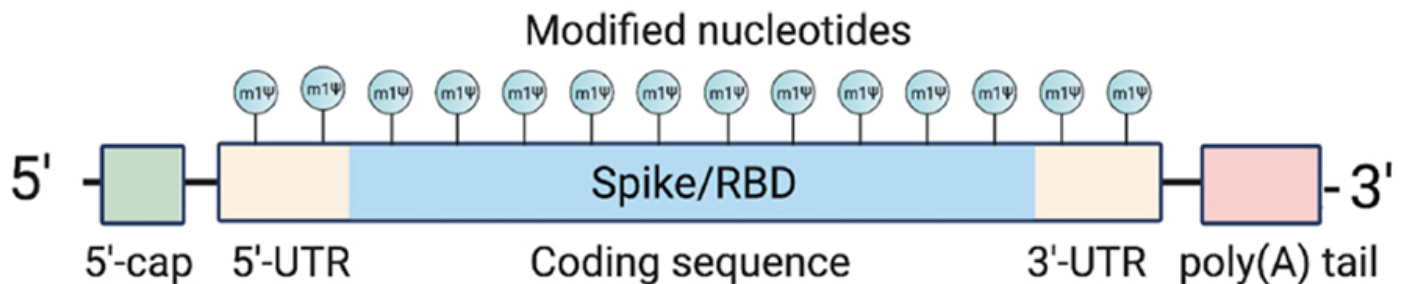


図1. コロナウイルスへのmRNAワクチン

UTRはタンパク質へ翻訳されないRNA配列。Modified nucleotidesは、ウリジンを置換したシュードウリジン塩基をもつヌクレオシドN1mΨ (1-メチル・シュードウリジン) をさす。Spike/RBDはウイルス粒子の表面に突き出ているスパイク蛋白のアミノ酸をコードする領域を示し、この配列の中に細胞表面に存在するACE2レセプターと結合するドメイン (RBD) アミノ酸配列があり、中和抗体が結合するワクチンの重要な標的となっている。

ただ、先の第28話で一つ間違いがあったので訂正しておきたい。それはスパイク蛋白をコードするRNAが3個連なっているように(間違っ)書いたが、そうではなく、できたスパイク蛋白3個が集まって細胞表面へ並ぶというのが正解であり、陳謝して訂正したい。

役に立つ基礎研究3つ

(1) N1mΨのmRNAへの取り込み (新規Ψ-mRNAの作成)

mRNAワクチンを作るうえで重要なポイントは、RNA中のウリジンを全てN1mΨ (1-メチル・シュードウリジン、あるいはシュードウリジン) に取り換えたことだった。N1mΨは通常のウリジンと同様に、アデニンと水素結合を結んで、T7・RNAポリメラーゼにより、DNAから問題なくmRNAへ転写される。

蛋白合成に於いても、リボソームによりUと読まれて正しくアミノ酸へ翻訳する。しかも、mRNAが細胞に取り込まれた後に、N1m Ψ (あるいは Ψ) を含むmRNAは、外から細胞へ入っても、何故か、「異物だと間違われなく」自然免疫のシステムにより排除されないことが発見されたことである。これを発見したのは初老の女性研究者で、ハンガリー出身のKatalin Kariko博士である。彼女は一途に―― mRNAを医薬品化して抗がん剤を作ろう――と決心し、渡米後、米国での恵まれない研究環境の中で、頑張った末に、ふとしたことからシュードウリジン Ψ を入れたmRNAがin vivoの動物実験で細胞内へ入って有効に働くことを見つけるのである。ここには「シンデレラ姫とガラスの靴」のように、きれいで、見事な発見ストーリーがあるので[New York Timesの記事](#)を参照されたい。実際、これはお手柄だった。もし、この発見がなかったらmRNAワクチンは実現しなかったであろう。N1m Ψ (あるいは Ψ) は、モデルナ社のワクチン中にも入っている。そして、今後のmRNAワクチンには、キャップと同様、不可欠な要素になるだろうと思われる¹⁵²。

(2) 大阪大学の審良静男研究室とのペンシルバニア大学のWeissman博士との共同研究によるN1m Ψ (あるいは Ψ) の有用性の発見

このN1m Ψ の効用に関しては、[第28話](#)で紹介したペンシルバニア大学のWeissman博士が、すでに2008年に、Kariko博士を筆頭にした論文で―― Ψ を組み込んだmRNAは通常のウリジンを含むmRNAに比べてタンパク合成能力が高く、外から細胞内に入った後で遭遇する自然免疫の壁に対しても抵抗性であること――を――大阪大学の審良静男研究室との共同研究により確認している¹⁵³。この発見は――当時、その価値が分からず――大きく評価されなかったが、審良研究室との共同研究で、この発見は「お墨付きを得た」と老生は見ている――そして、実に大きな、価値ある発見となった。Kariko博士・Weissman博士は、またとない共同研究パートナーを選んだものである。同時に、このような形で、日本の科学が貢献していることに、老生は感激している。こういう研究をこそ、「役に立つ基礎研究」というべきであろう。実際、その審良・Weissman論文では、前段で「このままでは、mRNAが医薬品になるとは思えない」と言っているのだが、10年後に、BioNtechのCEOのSahin博士らは、その Ψ を使って予想を見事にひっくり返してしまった。さもありなん、この当時、Sahin博士は、ペンシルバニア大学のWeissman研究室に留学していたのだから――。そして、Kariko博士はいまや、世界に冠たるBioNtech社の副CEOでもある。

(3) キャップの付け方について

mRNAの頭についているキャップもまた、mRNAワクチンに不可欠な構造である。これをどのようにmRNAの頭に付けるかは、mRNAワクチンの実現にかけた大きな障壁であったろう。ポーランド・ワルシャワ大学のEddy Darzynkiewicz博士は1980年代に、米国のFuruichi・Shatkin研究室でポストドクとして、キャップの研究をしていたが、帰国してからはキャップの原型であるm7GpppGやm7GpppAの化学合成に取り掛かった。キャップの化学合成は、すでに世界に先駆けて、東京工大の畑研究室で成功していたが、日本では、その後、研究は継続しなかったようだ。一方、Eddyはポーランドで種々のm7GpppNを作り、ベンチャー会社を創って販売すると共に、T7-RNAポリメラーゼを使うin vitroの転写反応でキャップが取り込まれる基礎研究を執拗に行った¹⁵⁴。すると、m7GpppGは、過剰に加えると、GTPと同様にRNAの5'-末端へ取り込まれることを見出した。その結果、m7GpppGpNpNp---の場合と、逆の----NpNp-m7GpppGの場合と、それらの両方が起こって――頭を突き合わせる「押しつ・押されつ型」の---NpNp-m7GpppGpNpNp---ができることが判った。このうちm7GpppGpNpNp---だけが望ましいので、m7Gの3'-OHをメチル基で閉じたDimethyl m7GpppGを合成し、それをmRNAの頭に乗せることに成功していた。ファイザー・BioNtechのワクチンについているキャップはこのようにして付けられたものと思っていたが、Eddyに聞いてみると、彼は不機嫌に

「 $(m_2^{7,3'-O})Gppp(m_2^{2'-O})ApG$ を使ってる」というからEddyとBioNtech との長い共同研究は、知財や応用の面で、実を結ばなかったのかもしれない。研究の国際競争はこのように、無常で厳しいから要注意であり、しっかり共同研究契約を結んでやるべきである。

そんなことを調べているうちに――昔取った杵柄で――実際にどのようにしてmRNAを作っているかがわかってきたので、私なりに、レシピを作ってみた。

<ワクチンRNA作成レシピ>

10X転写反応液 (DNase・RNaseフリー中性緩衝液)、Mg、塩少々
 ATP、GTP、CTP 各5 mM (終濃度)
 Ψ TP (あるいはN1m Ψ TP) 5 mM
 キャッププライマー-m7GpppGpAmpG (TriLink社製CleanCap[®]) 4 mM
 直鎖状にしたプラスミド DNA template 25~50 μ g
 Murine RNase inhibitor 25 Units
 Yeast inorganic pyrophosphatase 0.04 Unit
 T7 RNA ポリメラーゼ 1,280 Units
 これらに蒸留水を加えて、全量1 mlとし、数時間加温してキャップmRNAの酵素反応合成を進める。

この反応で、94%以上の分子にキャップのついた、 Ψ を含むRNAが約5 mgできる。この後、不要になったDNAをDNaseで分解し、低分子ヌクレオチドを除去するなどして、mRNAを精製する。5 mgのRNAは、そのまま使えるわけではないが、この後の精製工程の収率を60%程度と仮定すれば少なくとも3 mgの精製mRNAが得られよう。

すると、実際の1回のワクチン接種に含まれるmRNA量は数 μ gであるから、これで約千人分用のmRNAができると推定できる。1000倍スケールアップして、1 リットルの転写反応液で製造を行えば、約百万人分のワクチンのRNA原薬が得られよう。精製したRNAはLNP (lipid nano particle) で封入して懸濁液化し、筋肉注射液とする。その過程には数々の製造ノウハウが必要であり、滅菌処置を含め、厳格な製品検定が課せられることは言うまでもない。

(4) Sタンパク質の抗原性を高めるための工夫 (Pre-fusion conformationの安定化)

もう一つ、見落とせない基礎研究がある。それはmRNA中央部のSタンパク質S1 および S2を作るコーディング領域に関することである。S1はコロナウイルスが細胞のACE2レセプターに結合するドメインであり、S2はウイルスが細胞膜と融合して細胞内へ侵入するときに必要な。mRNAワクチンは、S1とS2を含むSタンパク質が細胞内で作られ、小胞体シグナル配列を介して細胞外へ突き出されるように設計されている。そのSタンパク質が、強い中和抗体を誘導するための――最適な構造を免疫細胞へ提示するために――米国感染症研究所・ワクチン研究センターの研究者たちは (彼らは、種々のウイルスに対する中和抗体・誘起構造について研究してきたが)、今回のSARS-CoV-2ウイルスについてはSタンパク質内にK986P 及びV987Pという2か所のプロリン置換が、Sタンパク質の抗原性を高めることを発見していた。このアイデアは、Sタンパク質が最適な融合前構造Pre-fusion conformationを保つために取り入れられ、その領域に該当するプラスミドDNAの塩基配列は変えられている (NIH ウェブサイト)。目立たない発見であるが、強い中和抗体誘導のための工夫が、タンパク工学的配慮のもとに、分子生物学的手法により加えられているので感心する次第である。

これからのmRNA ワクチン

mRNAワクチンは記録的な速さで開発が進み、これまでに数億人への接種により、効果と安全性が確認された。作り方については、老生がレシピを書けるほどに、理解が進んでいる。これまでのワクチン製造のように、大量にウイルスを増やさなくてもよいのである。効果の面で言えば、ファイザー・BioNtechのワクチンも、モデルナ社のものも、中和抗体の誘導とT細胞の活性化を行い、感染予防と重症化予防に働かし、変異株にも効果があることが証明されている。新しいタイプのワクチンだから、———ということで、マスコミや一部医事関係者による「怖い、怖い」の悲観論の合唱にはうんざりさせられる。mRNAワクチンは、限られたタンパクの抗原エピトープに対してのみ中和抗体を誘起できるようにデザインしているので、10数種以上の蛋白を含む「ウイルス丸ごと」に対して抗体がつくられるこれまでのタイプのワクチンに比べて、副作用も少ないだろうと思われる。効能の期間にしても———現在、議論されているが———mRNAワクチンで作られた中和抗体の力価は、1年以上は継続すると思われるデータが得られていて、T細胞による自然免疫型防衛も、それよりは長く続くであろうと期待されている。

さて、時代の進みは早い。最近のネット情報によれば、ファイザーとBioNtech社は別れて、それぞれが、新しいmRNAワクチンの開発に乗り出すとのことである。彼らの頭の中は、コロナウイルスの問題は「一件落着」であり、インフルエンザウイルスなど、毎年変異株が出現するウイルスなどについても予想されるmRNAの配列を調べて、何種類ものウイルスに対応できるようになっているとのことである。

「免疫療法 mRNA がんワクチン」への期待

癌に対するワクチンであるが———、ウイルス感染が原因となる癌に対しては、図1に示したようなコロナウイルスに対するワクチンと同様の戦略でmRNAワクチンを作ればよいと思われる。それらは、ヒトパピローマウイルス (HPV)、B型・C型肝炎ウイルス (HBV・HCV)、ヒト成人白血病ウイルス (hTLV) などがある。しかし、ここで紹介したいのは、遺伝子変異によって起こる通常の癌への治療を、mRNAワクチンの応用による免疫療法で可能にしようとする、BioNtech社の取り組みである。

それに関して、CEOのSahin博士を筆頭とした、50人もの著者を含むNature論文が、2017年に発表されている¹⁵⁵。さきの28話で紹介したように、Sahin夫人のTureci博士が最終著者と論文であり、グループを挙げての大プロジェクトと思われる。この論文は、コロナワクチンの開発競争がまだ始まっていない頃に書かれた論文であるが、このプロジェクトは、BioNtech社では、ポストコロナの「がん免疫療法ワクチン」研究として、現在、大車輪で研究が進められているものと想定できる。

癌治療が難しいのは、患者によって癌の性質が違うことであり、抗がん剤の効果も———患者によって、癌によって———異なることである。さらに困ったことには———タンパク質は、癌細胞と正常細胞とで、あまり変わらないことである。Sahin氏らの、この論文では、各がん患者の体内の癌細胞が持つ突然変異を、RNAエキソン解析 (RNA sequencing) により、患者ごとに明らかにして、その周辺を含む27 merペプチドを1ブロックとして、———変異アミノ酸を中央の14番目に置くようにして——— mRNA配列 (81mer) 中へ入れ込んでいる (図2)。———つまり、一人の癌患者が持つがん細胞中のアミノ酸変化を含むRNA配列を5種類、1本のmRNA分子の上に並べたのである。このようなmRNAを2種類(合計10種類の、患者のがん特異的変異エピトープを含む) を、患者からサンプルを得た日から平均68日目以内に作成し、LNPと複合体を作り、患者へ経皮注射している。

そのような新アミノ酸配列を含むペプチドの選別は、当該ペプチドを含むタンパクが癌細胞内で高発現していること、および、CD4⁺T細胞とHLAクラスI&IIと結合しやすく、T細胞からの応答を得やすい配列情報を基に選んでいる。がん細胞が持つ、正常細胞とのわずかな違いを、患者の免疫システムに気付かせて、NK細胞(キラー細胞)やマクロファージにより、癌細胞を異物として取り除こうという作戦である。患者ごとに(パーソナライズに――)作成する「がん治療薬ワクチン」であり、2017年のNature論文¹⁵⁵では、13人の患者に対して最初の臨床試験が行われている。

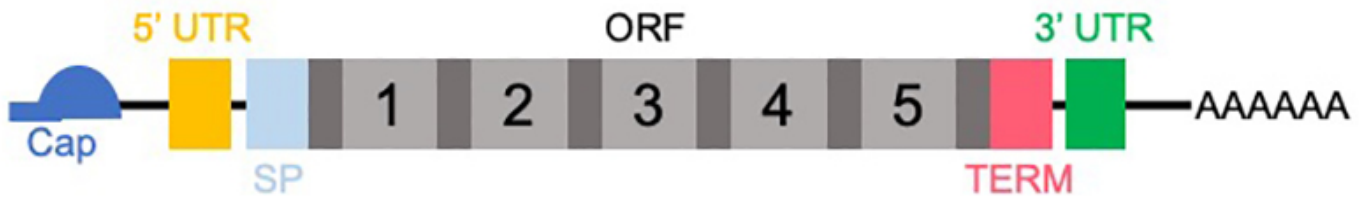


図2. 免疫療法用・mRNA がんワクチン

各ブロックは81塩基よりなるオリゴヌクレオチドORF (open reading frame) で、少なくとも27アミノ酸よりなるエピトープを含む。

で、結果は、どうだったか？

このmRNA作成時には、シュドウリジンは、まだ、mRNAの合成に使われてない――従って、新エピトープタンパクの蛋白合成は十分ではないかもしれない。それからもう一つ、キャップも――Eddy考案の新構造体ではあるが――「Best Capではない」という、二つのハンデはあるものの、論文中のデータには、効いている兆候が出ていて、今後に期待が持たれる。この論文は、いろんな知識を持ってないと理解できない――難しい論文であるが――「そう、その多彩な知識の集積が、新しいmRNAワクチンには必要」なのであり、興味のある方は、是非、自身で原著にあたってもらいたい。

おわりに

昨年3月に、エッセイ第25話を配信した折、コロナ禍を避けるには「**感染を避けながら、経済と医療体制をキープし、重症化患者数を抑えながら、ワクチンができるのを待つしかない**」と書いたが、それから1年が過ぎた。今週、ようやく老生は、鎌倉市の高齢者優待用のワクチン接種の予約券の配布を受けるところまできている。接種してもらえるワクチンは、ファイザー・BioNtechワクチンだそうである――勿論、望むところである。

この29話では、28話で書き残した部分と、mRNAワクチンのレシピを自分なりに作ってみた。さらには、今後のmRNAワクチン技術の応用として考えられる「がん免疫療法mRNAワクチン」について生噛りではあるが紹介してみた。書きながら――BioNtech社を作ってmRNAワクチンを実現させたSahin博士夫婦について思いを馳せているうちに――「RNA学会行事の最も近い機会に、日本へ来て講演してもらえないか」の招待を、鈴木勉会長に頼んでみようかと思い立った。「そうだ、そうしよう」――別便で、鈴木会長へお願いしてみようと思っている。

筆者は、1月以来、Sahin博士にメールを2度も送っていて、キャップに関する質問をしているのだが――その返事を、「まだ、もらっていない」。そして、「何故、私の弟子でもある、大事なEddyを袖にしたか？」などとも、意地悪く、聞いてみたいと思っている。またその機会に、本編で紹介したように、ウリジンのシュードウリジンの置換について、余計なことだが、お世話になった共同研究者の審良教授を訪ねて、彼らは大阪へ行くべきだとも思っている。