

ワクチンを支える技術としての
mRNAと合成生物学、単に
ワクチンと治療薬だけの議論
をするのではなく背景となる
技術の開発・育成に予算を集中
投下すべき

mRNA創薬への応用性

- 欧米ではmRNAを用いたワクチンの開発が先行しているが、疾患治療への応用も研究が進んでいる。mRNAは核への輸送が不要で、ゲノムへの挿入変異リスクもないため安全性に優れる一方、mRNAは生体内では極めて不安定な物質であり、その効率良い生体内投与にはDDS技術などの応用が不可欠である。mRNAは原理的にどのようなタンパク質でも産生することができ、ワクチンとしてはがんの個別化治療、感染症領域ではウイルス変異への迅速な対応、パンデミックへの対応が期待される。
- 疾患治療用 mRNA としては、更に広範な応用の可能性があり、酵素補充療法や成長因子徐放など分泌因子を局所又は全身に徐放させる目的だけでなく、標的細胞のシグナル制御、分化誘導などを通じて、再生医療やゲノム編集治療への応用も期待される。
- ワクチン以外にも応用できるほかワクチンとしても迅速に対応でき理論上変異ウイルスへの対応も許容度はあり、積極的な政策的投資対象として有効な技術とされ、ワクチン自体というよりはこのような基盤技術を育成すべき

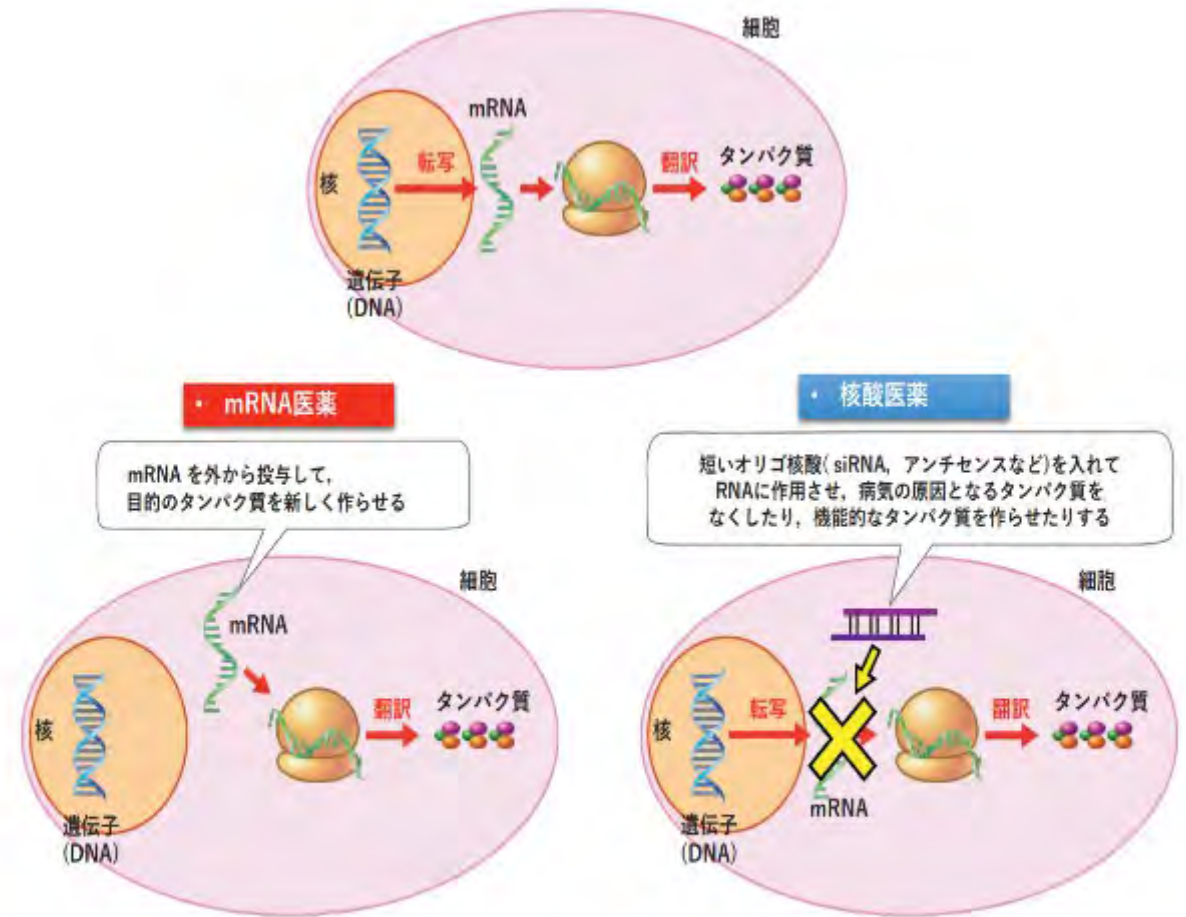


Fig.1 mRNA 医薬

mRNA を体内の細胞に直接投与し、タンパク質を発現させる。特定の遺伝子発現を抑制する核酸医薬 (siRNA, アンチセンス核酸など) と逆の作用機序といえる。

[医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, PMDRS, 50 (5), 242 ~ 249 (2019)] mRNA 医薬開発の世界的動向、位高啓史、秋永士朗、井上貴雄から引用

実験室でのウイルス再構築のための新たな技術

Nature の公表論文から

<https://www.nature.com/articles/s41586-020-2294-9>

メニュー nature



表1 合成ゲノミクスプラットフォームを使用してクローニングされたRNAウイルスゲノム

From: 合成ゲノミクスプラットフォームを使用したSARS-CoV-2の迅速な再構築

ウイルス	家族	サイズ (kb)	テンプレート	フラグメントの生成	フラグメントの数	ウイルスレスキュー
MHV-GFP	コロナウイルス科	31.9	ウイルスRNA, DNAクローン	RT-PCR, PCR	9	はい
MERS-CoV	コロナウイルス科	30.1	DNAクローン	PCR	8	はい
MERS-CoV-GFP	コロナウイルス科	30.7	DNAクローン, GFPプラスミドDNA	PCR	10	はい
HCoV-229E	コロナウイルス科	27.3	ウイルスRNA, DNAクローン	RT-PCR, PCR	13	試みられなかった
HCoV-HKU1	コロナウイルス科	29.9	合成DNA, ウイルスRNA	PCR, RT-PCR	11	試みられなかった
MERS-CoVリヤド-1734-2015	コロナウイルス科	30	ウイルスRNA	RT-PCR	8	試みられなかった
ZIKAウイルス	フラビウイルス科	10.8	ウイルスRNA	RT-PCR	6	試みられなかった
ヒトRSV-B	ペーパーウイルス科	15	臨床サンプル	RT-PCR	4	試みられなかった
SARS-CoV-2	コロナウイルス科	30	合成DNA, ウイルスRNA	プラスミド, RT-PCR	12	はい
SARS-CoV-2-GFP	コロナウイルス科	30.5	合成DNA, ウイルスRNA	プラスミド, RT-PCR / PCR	14	はい
synSARS-CoV-2-GFP	コロナウイルス科	30.5	合成DNA	プラスミド, PCR	19	はい

フラグメントの数には、TARベクターフラグメントは含まれません。

人工SARS-CoV-2を迅速に合成する方法について記述した論文が、*Nature* に発表された。SARS-CoV-2は、COVID-19呼吸器疾患を引き起こすコロナウイルスである。新興ウイルスの再構築は、診断法、治療法、ワクチンの開発研究に役立てることができる。


実験室でのウイルスの再構築は、疾患の集団発生に関与する病原体を研究するための有用なツールである。疾患の集団発生があった場合、ウイルスのサンプルが研究施設に送達されるまでに長い時間がかかることがあり、こうした病原体の輸送が危険すぎると考えられることもある。多くのウイルスは大腸菌を使って複製できるが、コロナウイルスは大きすぎるために大腸菌を使ったクローンの作製は容易でない。人工ウイルスのゲノムを再構築する別の方法として、酵母を用いる方法があり、今回、Volker Thiel、Joerg Joresたちの研究チームが、この方法を採用して、人工SARS-CoV-2を合成した。

従来型ワクチンプラットフォーム




Classical platforms


Whole-inactivated virus
Example: Polio vaccine
COVID-19: PiCoVacc in phase 1 clinical trials



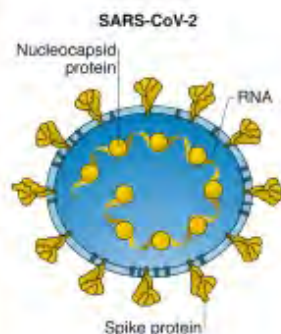

Live-attenuated virus
Example: MMR vaccine
COVID-19: in preclinical stage



Protein subunit
Example: Seasonal influenza vaccine
COVID-19: NVX-CoV2373 in phase 1/2 clinical trials




Virus-like particle
Example: Human papillomavirus vaccine
COVID-19: in preclinical stage




Next-generation platforms


Viral vector
Example: VSV-Ebola vaccine
COVID-19: AZD1222, Ad5-nCoV in phase 1/2/3 clinical trials




DNA
Example: Not currently licensed
COVID-19: INO-4800 in phase 1 clinical trials



RNA
Example: Not currently licensed
COVID-19: mRNA-1273, BNT162 in phase 1/2 clinical trials



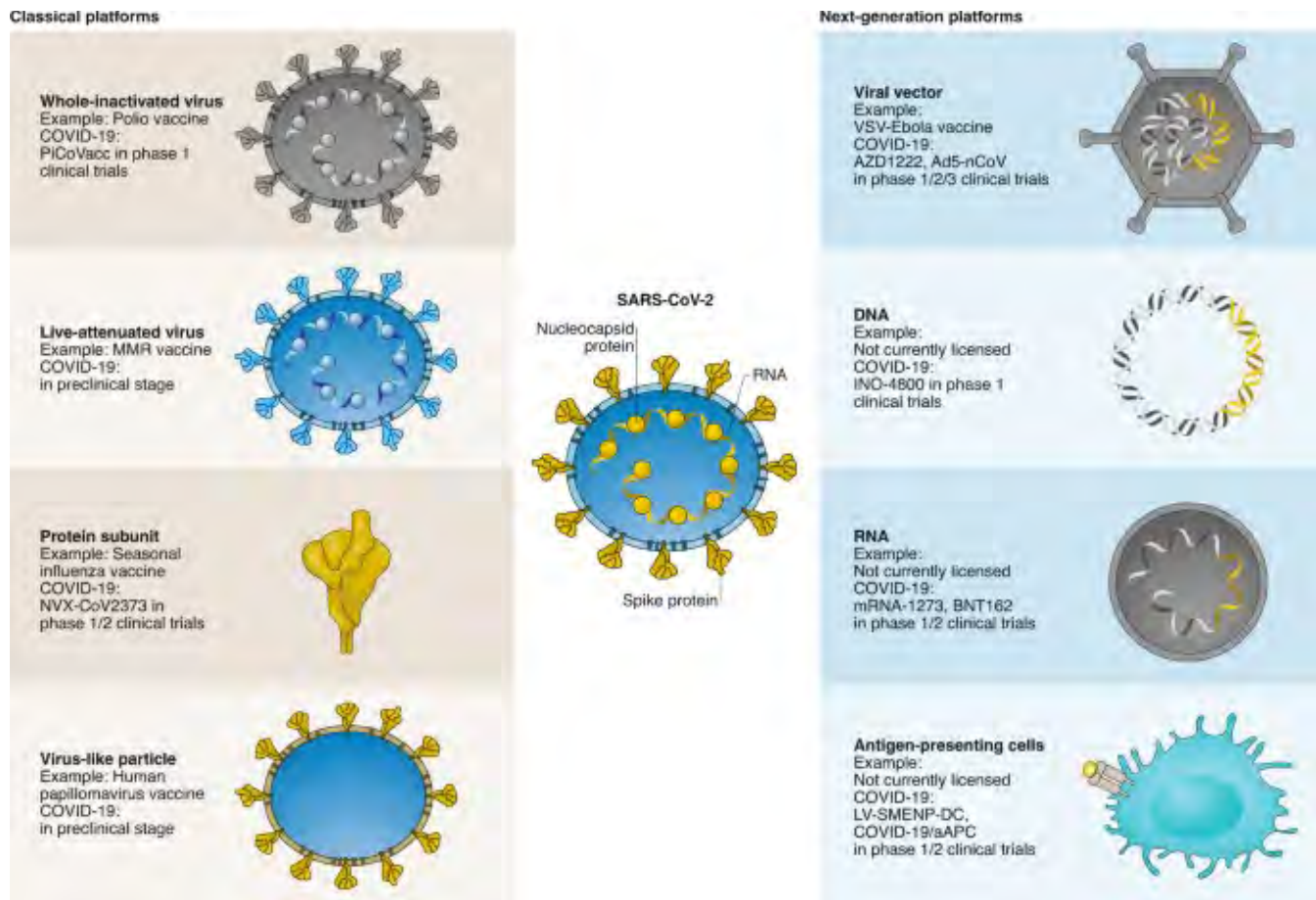
Antigen-presenting cells
Example: Not currently licensed
COVID-19: LV-SMENP-DC, COVID-19/aAPC in phase 1/2 clinical trials



ウイルスベースのワクチンは、もはや感染性ではない不活化ウイルス、または弱毒生ウイルスで構成できます。全不活化ウイルスは複製しないため、免疫系を刺激するためにアジュバントが必要です。弱毒生ウイルスワクチンは、病原性を失い、注射時に軽度の感染しか引き起こさなくなるまで、細胞培養で継代することによって古典的に生成されます。タンパク質ベースのワクチンは、ウイルスまたはウイルス感染細胞から精製されたタンパク質、組換えタンパク質またはウイルス様粒子で構成されます。ウイルス様粒子は、ウイルス粒子を形成するのに必要な構造ウイルスタンパク質で構成されていますが、ウイルスゲノムと非構造タンパク質が欠けています。タンパク質ベースのワクチンは、強力な免疫応答を誘発するためにアジュバントを追加する必要があります。これらの古典的なワクチンプラットフォームは、天然痘の撲滅と癌予防のためのワクチンとして、公衆衛生上の大きなブレークスルーに貢献してきた。ただし、これらのプラットフォームのいくつかには特定の制限が関連付けられており、パンデミックでの迅速なワクチン製造に対応できなくなります。SARS-CoV-2の場合、完全に不活化されたワクチンでは、バイオセーフティレベル3 (BSL3) の条件下で大量のウイルスを増殖させる必要があります。弱毒化生ウイルスが安全で野生型に簡単に戻らないことを確認するには、広範な安全性試験が必要であり、ウイルス様粒子ワクチン用にいくつかの組換えタンパク質を同時に生産する必要があります。

※Nature: デビーファンリエル & エミー・ド・ウィット
<https://www.nature.com/articles/s41563-020-0746-0>

次世代型ワクチンプラットフォーム

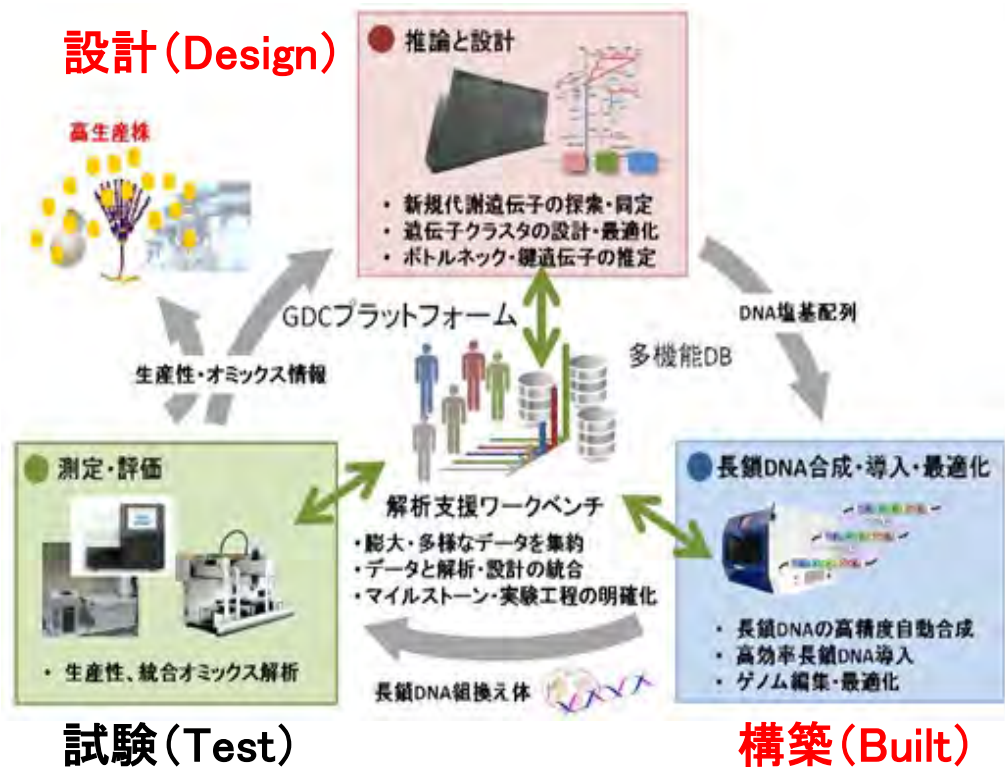


次世代ワクチンの主な利点は、配列情報のみに基づいて開発できることです。感染または疾患からの保護を提供するために、したがってワクチン（すなわち、ワクチン抗原）に含めるために重要なウイルスタンパク質が知られている場合、このウイルスタンパク質のコード配列の可用性がワクチンを開始するのに十分であるウイルスを培養する能力に依存する必要はなく、開発できる。これにより、現在進行中のCOVID-19ワクチンの臨床試験の大部分が次世代プラットフォームを使用しているという事実から明らかのように、これらのプラットフォームは適応性が高く、ワクチン開発を大幅にスピードアップします。

COVID-19については、いくつかのウイルスペクター、核酸ベースのワクチン、および抗原提示細胞が（前）臨床開発中である（図1）。ウイルスペクターワクチンは組換えウイルス（すなわち、ウイルスペクター）で構成され、その病原性を減らすために弱毒化されることが多く、ウイルス抗原をコードする遺伝子は組換えDNA技術を使用してクローニングされています。ベクターワクチンは複製することも複製しないこともあります。複製ベクターワクチンは、ワクチン抗原が産生される細胞に感染するだけでなく、ワクチン抗原も産生する新しい細胞に感染することができるより感染性のウイルスペクターに感染する。非複製ベクターワクチンは最初に細胞に入り、ワクチン抗原を産生しますが、新しいウイルス粒子は形成されません。ウイルスペクターワクチンは内因性の抗原産生を引き起こすため、体液性および細胞性免疫応答の両方が刺激されます。したがって、これらのウイルスペクターベースのワクチンの利点の1つは、1回の投与で防御に十分であるということです。核酸ベースのワクチンはDNAまたはmRNAで構成でき、新しいウイルスが出現したときにすぐに適応できます。そのため、これらは臨床試験に参加する最初のCOVID-19ワクチンの1つでした。DNAワクチンは、ワクチン抗原をコードする合成DNAコンストラクトで構成されています。細胞への構築物の効率的な取り込みのために、注入の後にエレクトロポレーションが必要です。細胞への取り込み後、ワクチン抗原はDNA構築物から発現されます。mRNAベースのワクチンは、最初のステップ（DNA構築物の核移行とmRNAへの転写）がバイパスされることを除いて、DNAワクチンと同じ原理で機能します。自己複製RNAワクチンは、細胞あたりにより多くのワクチン抗原が発現されるため、低用量で防御免疫を誘導する可能性が高い¹²。mRNAは非常に安定していないため、これらの構築物は分解を防ぐために修飾されたヌクレオシドを含んでいます。細胞へのmRNAの侵入を可能にするために担体分子が必要です。脂質ナノ粒子が最も一般的に使用されます。核酸ベースのワクチンは体液性および細胞性免疫応答を誘発しますが、複数回の投与が必要です。

※Nature:デビーファンリエル&エミー・ド・ウィット
<https://www.nature.com/articles/s41563-020-0746-0>

日本の合成生物学を利用した物質生産の現状Conventional DBT (L) ゲノム・デザイン・サイクル (GDC) プラットフォーム



世界標準である合成生物プログラム言語を導入してこなかった遅れからConventional DBTの状態になっており、世界のBiofoundryから大きく乖離した。

学習 (Learn)

SBML ~~Systems Biology Markup Language~~

人工知能 (AI) ?
ディープラーニング?
機械学習?
アルゴリズム?

SBOLで回路設計するれ、目的物質をデザインする設計ツールによりシミュレーションを実施し最適化させる。設計ツールが違ってても標準化されているためデータベースも共有されていく。しかし、日本のインフラは必ずしもそうっていない。

日本のGDCから派生したConventional DBT (L) は、欧米のAdvanced DBTLと同じではない。

- 設計 (Design) : プログラミング言語の標準化**
- 構築 (Built) : 合成DNA (部材) の供給体制、サプライチェーン**
- 試験 (Test) : 実験ロボットまほろの導入によるベンチワークの高度化 (HTS)**
- 学習 (Learn) : Synbio (合成生物学) に必要なAI及びアルゴリズム**
- 億単位のデータポイント / データリポジトリから代謝物質の構造予測等**

ワクチン・治療薬の開発
のルール整備
の不充分性

COVID-19ワクチン開発に向けた国際的な動向と遺伝子組換え生物等の使用規制

【国際協調】

2017年ダボス会議において、ドイツ、日本、ノルウェーのほか、ビル・アンド・メリンダ・ゲイツ財団などの出資により発足した官民連携パートナーシップによる感染症流行対策イノベーション連合(CEPI; Coalition for Epidemic Preparedness Innovations)は、新型コロナウイルスの発生から1年足らずで、米ファイザー・独ビオンテックのほか、米モデルナが採用したmRNAワクチン開発の迅速化に貢献した。ワクチン開発のトップランナーであるGSKがアジュバンド抗体技術を提供したことで、SANOFIと連携し、Gaviワクチンアライアンスをはじめ、米国ワープスピード戦略の支援まで巻き込んで、**合成生物学バイオベンチャーや製造企業、臨床病院拠点が一体となり開発に向けたイノベーションが起きた**結果とされている。CEPIは、今後のパンデミックにそなえるため、5カ年計画で、総額35億ドルの開発資金を目指し、各国政府のほか、国際的な保健機関などが投資を行いう必要があるとしている。



欧米の遺伝子組換え生物等の使用規制の現状・動向

【米国】

政府のワクチン開発に関する策としては 2020年にオペレーション・ワープ・スピード(Operation Warp Speed)が立ち上げられた。これは COVID-19ワクチン、治療法、診断法(医療対策)の開発、生産、流通の加速を目的とする国家プログラムで合衆国の研究機関である疾病対策センター(CDC)、国立衛生研究所(NIH)、生物医学先端研究開発局(BARDA)、食品医薬品局(FDA)、国防総省(DOD)、農務省(USDA)、エネルギー省(DOE)、退役軍人省(VA)の連邦政府機関と民間企業等が総力を結集してワクチンの開発に取り組むというものである。

さらにFDAは、2020年ガイダンス「COVID-19を予防するためのワクチンの緊急使用許可(EUA: Emergency Use Authorization)を発行した。緊急使用許可のもと、Pfizer/BioNTech mRNA vaccine が2020年12月10日に、Moderna mRNA vaccine がその8日後に使用許可された。そして 2020年2月27日にJanssen COVID-19 Vaccine が3番目のワクチンとして許可された。ベクターに関しては、緊急使用許可が認められるCOVID-19ワクチンに用いられるものは、これまで安全性が十分に証明されている既存のもののみが認可の対象になり、新たなウイルスや技術の開発はこれまで通りの新薬開発プロセスなど、FDAの定める規制に従う事になっている。

【欧州】

欧州連合理事会/欧州理事会はEUにおけるCOVID-19に対するワクチンの開発と展開をスピードアップすることを目的とした規制を採択した。この法律は、環境への意図的な放出と遺伝子組み換え生物(GMO)の封じ込め使用に関する、EU法で義務付けられている以前の環境リスク評価から COVID-19ワクチンの臨床試験を一時的に適応から除外することを規定している。さらに、この一時的な適応除外は、加盟国がCOVID-19を治療または予防することを目的としたGMOを含む、またはそれからなる医薬品を、医薬品法で定義された特定の例外的かつ緊急の状況で使用することを許可する場合にも適用されることを明確にしている。

欧州医薬品庁(EMA)もGMOに関するガイドラインを発表した。この規制は、COVID-19パンデミックの際に、GMOを含むCOVID-19ワクチンまたは治療法を、これまで必須とされている環境リスク評価から一時的に除外することを規定している。これにより、臨床試験の実施をスピードアップすることを目的としている。

日本の遺伝子組換え生物等の使用規制の現状・動向

日本ではカルタヘナ法において、遺伝子治療等の LMO を用いた治験あるいは臨床研究の実施に際しては、治験薬の製造に先立ち、組換えウイルスベクター製造や遺伝子導入を行う製造拠点では第二種使用等の大臣確認が必要であり、遺伝子治療を行う医療機関においては事前に第一種使用等の大臣承認が必要となる。ただし、日本での第一種使用規程の承認申請に際しては、先行する海外での使用成績を活用できる。

第一種使用等において、治療を行った患者自身にも及ぶため、当該患者の個室管理や患者からの排泄物・分泌物（尿、糞便、血液なども対象となり、第三者への伝播や環境への影響を評価しておくことが必要となる。

ex vivo 遺伝子治療では、遺伝子改変したヒト細胞をヒトに投与するが、この遺伝子を組み込まれたヒト細胞自体はカルタヘナ法における遺伝子組換え生物に該当しないため、遺伝子導入にウイルスベクターを使用してもカルタヘナ法が適用されない。ただし、製造工程でのウイルスクリアランスが十分ではなく、製品中にウイルスベクターが残存している可能性が否定できない場合には、ウイルスベクターの混入があるものとして扱い、第一種使用となり第一種使用等の大臣承認を受けなければいけない。また、ウイルスベクターを用いずにゲノム編集技術等を用いてヒト細胞に遺伝子導入を行った場合は、第一種使用等の大臣承認は不要となる。

現在、当該遺伝子治療用製品等が再生医療等製品に該当するか否かに関わらず、遺伝子組換えを行ったウイルス等を不活化せずに用いる製品については、遺伝子組換え生物等含有製品に該当する。治験を行う場合や、製造販売後に医療機関で使用する場合、カルタヘナ法の第一種使用等の承認申請手続の対象になる。ただし、製品がカルタヘナ法の対象となるかどうかの判断も重要であり、PMDAのカルタヘナ法関連事項相談を利用して、カルタヘナ法への該当性を相談・確認することが推奨されている。

医薬品として用いない LMO の製造、調製、LMO の効力を裏付ける又は安全性を確認するための非臨床試験が研究開発段階での第二種使用等に該当する。**実用化段階での製造、治験薬・医薬品を国内で製造する場合やその品質管理を目的として繰り返し実施する品質試験を国内で行う場合等、実用化に関わるものや商業生産に関わるものが産業利用段階での第二種使用等に該当する。研究開発段階／産業利用段階のいずれかに該当するか判断が難しい場合には、カルタヘナ関連相談などを利用してPMDAと相談することができる。逐次、PMDAとの相談が必要となっており、そのための治験の遅れが課題になりつつある。Viral Shedding データの長期収集などのガイドラインが必要性が顕在化している。**