

L1211-3	大腸菌で発現した SARS-CoV-2 JN.1 株 RBD に対する 皮下及び鼻腔内投与による免疫応答評価				
	氏名	宮内 秀一朗	主査	黒田裕	副査

【背景】 SARS-CoV-2 は変異株の出現により依然として脅威であり、特に高い免疫回避能を持つ JN.1 株への対策が懸念されている。現行の mRNA ワクチン等は発症予防に有効だが、筋肉内投与では呼吸器粘膜での局所免疫(IgA)を誘導できないため、感染や伝播の阻止には限界がある。そのため、感染防御の第一線である上気道において免疫を誘導可能な、経鼻腔内投与ワクチンの開発が求められている。一方、抗原には安全性と安定性に優れるサブユニットワクチンが有用であり、中でも大腸菌発現系は低コストでの製造が可能である。大腸菌発現系には糖鎖修飾の欠如やフォールディングといった課題が存在するが、先行研究において、糖鎖修飾のない大腸菌由来 RBD が高い中和抗体を誘導できること、および天然構造に近い RBD の発現が可能であることが示されている。そこで本研究では、大腸菌で発現させた JN.1 株 RBD (JN.1-RBDwt) を用い、呼吸器粘膜における防御機構の構築を目指して、マウスモデルにおける皮下投与および経鼻腔内投与による免疫誘導能(IgG、IgA)を評価することを目的とした。

【手法】 大腸菌由来 JN.1-RBDwt の物性測定は動的光散乱(DLS)測定により粒子径を、静的光散乱(SLS)測定により散乱光強度を確認した。また、円偏光二色性(CD)測定により二次構造、 $T_m$  の評価を、トリプトファン蛍光測定から三次構造の評価を行った。そして、Jcl:ICR マウスに JN.1-RBDwt を皮下及び経鼻腔内に投与し、ELISA 法を用いて血清及び肺胞洗浄液(BAL)中の抗 JN.1-RBDwt IgG 及び IgA 抗体を測定した。

【結果・考察】 大腸菌由来 JN.1-RBDwt は各種物性測定の結果から、凝集のない単量体であり、理論値と整合する二次構造、秩序だった三次構造、及び  $T_m=57.4^\circ\text{C}$  の熱安定性を持つことが確認された。これらは、本タンパク質がランダムな構造ではなく、熱力学的に安定な特定の折り畳み構造を保持していることを示唆する。免疫応答実験では、3 回皮下投与群が最も高い血清 IgG 抗体価を示し、投与回数依存的な上昇が確認されたが、血清 IgA、粘膜 IgA は誘導されなかった。一方、皮下投与後に経鼻腔内投与を追加した群(併用群)では、血清 IgG 値は皮下単独群より低かったものの、肺胞洗浄液(BAL)中で IgA の誘導が確認された。BAL 中の IgG は血清からの移行が示唆されたが、IgA は経鼻腔内投与群でのみ検出されたことから、経鼻腔内ブーストが呼吸器局所免疫の誘導に寄与したと考えられる。一方で、経鼻腔内投与群の個体差が大きい点は、投与手技や条件の最適化が必要であると考えられる。

【結論】 大腸菌由来 JN.1-RBDwt は安定な立体構造を有し、皮下投与で血清 IgG を、経鼻腔内投与で呼吸器 IgA を誘導した。これにより、本抗原を用いた投与戦略が全身および局所免疫の両方を誘導し得ることが示された。

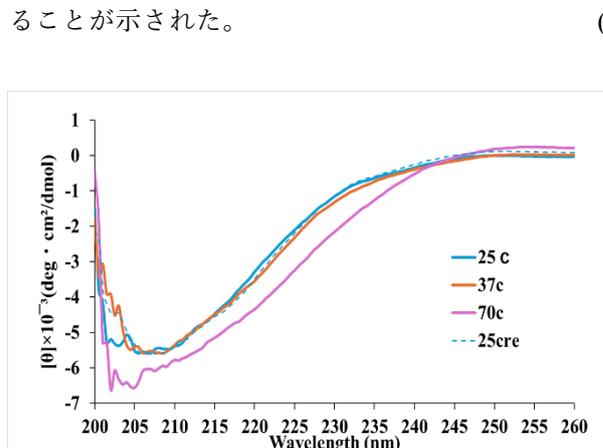


Fig.1 CD 測定結果

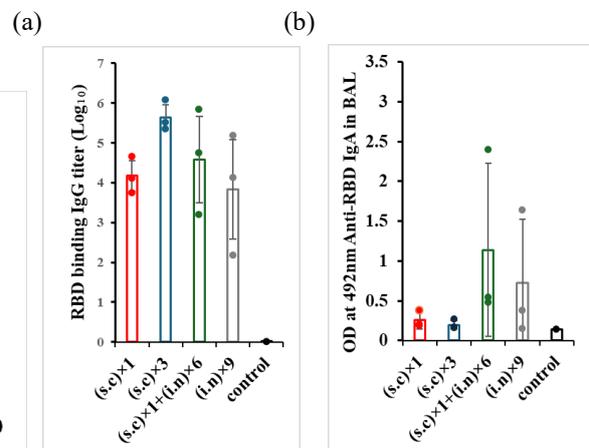


Fig.2 血清中抗 JN.1-RBD IgG 抗体価(a)及び BAL 中 IgA の OD 値(b)