

令和5年度

成長型中小企業等研究開発支援事業

「カイコーバキュロウイルス発現系を用いた
経口ワクチンの製造基盤技術の開発」

研究開発成果等報告書

令和6年5月

担当局 九州経済産業局

補助事業者 一般財団法人九州オープンイノベーションセンター

目 次

第1章 研究開発の概要	
1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標	3
1-2 研究体制	4
(研究組織・管理体制、研究者氏名、協力者)	
1-3 成果概要	6
1-4 当該研究開発の連絡窓口	8
第2章 本論	
① 不活化方法の開発	9
② 製剤化技術の開発	11
③ 特性解析	12
④ 安全性の確認	16
⑤ 有効性の確認	17
最終章 全体総括	19

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

現在実用化されているワクチンの多くは、医療機関において注射接種するものが主流であり、医療体制やコールドチェーンが整っていない途上国等ではワクチン接種が困難である。2020年に世界的なパンデミックとなったCOVID19に関して言えば、ワクチン接種が開始された当初、医療体制が発達している日本においても、ワクチンの冷蔵輸送・保管や、接種する医療人材不足の課題があった。

本研究は、注射接種ではなく口から投与することで抗体価を上げる「経口ワクチン」の製造基盤技術を開発するものである。ワクチンの原料となる抗原タンパク質は、一般的には経口投与するとアミノ酸に分解されてしまうが、KAICO 株式会社（以下、KAICO）がバキュロウイルスによりカイコに発現させた一部のタンパク質において、経口投与でも抗体価を上昇させることができることがわかった。本技術を用いて、経口ワクチンの実用化を目指す。経口ワクチンが実用化できれば、低侵襲であることに加え、常温輸送・保管が可能であることから、例えばコールドチェーンが整っていないアフリカの奥地へも輸送することが可能となる。経口投与であることから注射器等の医療資材も不要であり、注射接種のための医療人材も不要であるため、注射型ワクチンと比較してメリットが大きい。

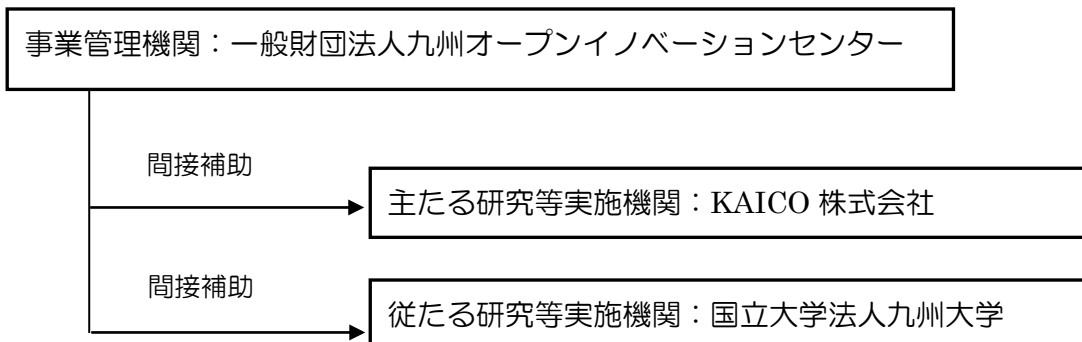
本研究では、ノロウイルス感染症に対する経口ワクチンの開発を行う。ノロウイルス感染症は、毎年世界で76億人以上が罹患し、発展途上国を中心に20万人が死亡していると推定されており、そのうち1/4が未来を担うはずの5歳児未満である。しかしながら現在、ノロウイルスワクチンの実用化例は、注射・経口ともにまだない。KAICO はノロウイルス感染症に対する経口ワクチンの原薬候補となる抗原タンパク質の生産に成功していることから、経口ワクチン開発の第一候補に設定した。

これらの背景から本研究では、ノロウイルス感染症に対する経口ワクチンの製造基盤技術の開発として、具体的には以下の項目を実施した。

- 抗原含量試験開発とバキュロウイルス不活化方法の開発
- カイコ蛹の粉末化方法及び粉末のカプセル充填方法の確立による製剤化技術の開発
- 抗原タンパク質の構造解析、物理化学的性質、成分分析、安定性評価等の特性解析
- アレルゲンに関する解析を中心とする安全性の確認
- 有効性評価のための試験開発とマウス試験による有効性の確認

1-2 研究体制（研究組織・管理体制、研究者氏名、協力者）

2-1-1 研究組織及び管理体制



2-1-2 管理員、研究員及び補助員

【事務管理機関】 一般社団法人九州オープンイノベーションセンター

管理員

氏名	所属・役職
原 正	常務取締役
藤好 正明	技術振興部 技術振興部長
大石 祐子	技術振興部 課長
川口 留美	技術振興部 課長代理

【主たる研究等実施機関】 KAICO 株式会社

研究員

氏名	所属・役職
谷口 雅浩	研究開発責任者
佐々木 友樹	研究開発マネージャー
江崎 啓一	品質保証マネージャー
木山 将司	研究開発テクニカルスタッフ
飯山 結香	研究開発テクニカルスタッフ
中武 洋和	生産開発マネージャー
境 恵子	品質保証スタッフ
山田 大智	研究開発テクニカルスタッフ
中原 洋	研究開発ゼネラルマネージャー
福田 繭	研究開発テクニカルスタッフ
木村 歩子	研究開発テクニカルスタッフ

【従たる研究等実施機関】 国立大学法人九州大学

研究員・補助員

氏名	所属・役職
日下部 宜宏	大学院農学研究院資源生物科学部門昆虫ゲノム科学研究室 教授
門 宏明	大学院農学研究院資源生物科学部門昆虫ゲノム科学研究室 准教授
李 在満	大学院農学研究院資源生物科学部門昆虫産業創生学研究室 准教授
増田 亮津	大学院農学研究院資源生物科学部門昆虫ゲノム科学研究室 特別研究員
富島 隆行	大学院農学研究院資源生物科学部門昆虫ゲノム科学研究室 テクニカルスタッフ
柿野 耕平	大学院農学研究院資源生物科学部門昆虫ゲノム科学研究室
海老原 健	同上
谷 菜月	同上
米澤 徳隆	同上
足立 朋範	同上
小川 竜矢	同上
中桐 槇也	同上
鶴見 祐土	同上

2-1-3 協力者（アドバイザー）

氏名	所属・役職
宮田 健	国立大学法人鹿児島大学 農水産獣医学域農学系 農学部 食料生命 科学科 准教授
山口 泰久	株式会社 FFG ベンチャービジネスパートナーズ 取締役副社長
福田 裕士	リアルテックホールディングス株式会社 グロースマネージャー
朝山 雄太	株式会社ユージェナ R&D 企画室 室長

1-3 成果概要

① 不活化方法の開発

①-1 抗原含量試験の開発

カイコやバキュロウイルス由来成分を含むサンプル中の抗原タンパク質を特異的に定量する ELISA 測定系を確立し、その性能を添加回収試験で評価して、開発を進める上で十分な性能を有することを確認した。

①-2 不活化方法の開発

製造工程中でバキュロウイルスを不活化する方法を開発した。文献報告等を中心に安全性上のリスクが低いと考えられる約 30 通りの方法をリストアップし、ウイルスの不活化と抗原タンパク質の安定性を評価して、不活化剤 A による不活化工程を確立した。

② 製剤化技術の開発

②-1 アジュバントの必要性の確認

試験動物が入手困難な事やテーマ重要度を考慮し、アジュバントの必要性の確認は⑤-2 の小動物での免疫原性試験内で評価することとした。

②-2 製剤化方法の開発サナギの殻の除去方法とカプセル充填可能な処方検討を行い、製剤化方法を開発した。サナギの殻はメッシュにより除去可能であり、カプセル充填する際の賦形剤の組成を確立し、試作品の製造を実施した。

③ 特性解析

③-1 構造解析

精製した抗原タンパク質の N 末アミノ酸配列の解析、円偏光二色性(CD)分析、フーリエ変換型赤外吸収スペクトル解析を実施し、遺伝子配列から想定される結果であった。

③-2 物理化学的性質

精製した抗原タンパク質の MALDI-TOF-MS で分子量を測定し、アミノ酸配列から想定される分子量であった。

③-3 抗原性(力価)

試作ワクチンの免疫原性および容量反応性を確認した。抗原含量試験と免疫原性試験の相関の追加検証を補完研究に引き継ぐ。

③-4 成分分析

抗原未発現サナギと抗原発現サナギの成分比較を目的として、2次元電気泳動の条件検討および、成分検出のための動物由来抗血清を取得した。2次元電気泳動は各タンパク質の分離度をより向上させるための条件検討を補完研究に引き継ぐ。動物由来血清の取得では、血清から精製したIgGを使用して、2次元電気泳動後のWestern Blottingとカイコサナギおよびバキュロウイルス由来物質のELISAによる定量系の確立を補完研究に引き継ぐ。

③-5 安定性

凍結乾燥カイコサナギ粉末状態での抗原の安定性を27度で評価した。0週から12週までは抗原の安定性が確認できたが、24週でこれまでで最も低い値を示した。次点以降の評価および、60度での安定性評価を補完研究に引き継ぐ。

④ 安全性の確認

④-1 単回・反復投与毒性試験

本事業では試験群、委託先の仮決定まで行った。試験は補完研究で実施する。

④-2 アレルゲン解析

カイコにはアレルゲンが含まれることが知られていることから、アレルゲン候補物質についてリスク分析を行った。いずれもカイコアレルギーを有するヒトの血中IgEと反応することが報告されているが、臨床症状との関連は明らかにされていない。いずれの候補物質も製造工程中の工夫でリスクを低減することができるため、その方法について補完研究で検討を実施する。

⑤ 有効性の確認

⑤-1 有効性評価のための試験方法の開発

有効性の評価試験系として抗体ELISA試験とHBGA結合阻害試験を立ち上げた。いずれの試験系も抗原未投与のマウス血清では反応性を示さず、精製抗原を筋肉注射したマウス血清では反応性を示し、さらに容量反応性も有することを確認した。

⑤-2 小動物での薬効試験

ワクチン候補品の免疫原性を確認することを目的として、マウスでの経口投与による免疫原性試験を実施した。ワクチン候補品の経口投与により、血清IgG/IgA抗体価、HBGA結合阻害活性および腸管洗浄液のIgA抗体価が上昇した。

1-4 当該研究開発の連絡窓口

所 属：KAICO 株式会社

住 所：福岡県福岡市西区九大新町 4-1

氏 名：熊崎 有希

電 話：092-707-4016

e-mail：kumazaki@kaicoltd.jp

第2章 本論

① 不活化方法の開発

①-1 抗原含量試験（ELISA 法）の開発

【目標】

本開発を進めるにあたり、有効成分である抗原の定量試験の開発は必須であった。本事業では未精製の経口ワクチンを開発することから、その定量系にはカイコやバキュロウイルス由来成分を含むサンプル中で抗原タンパク質を特異的に検出することが求められる。このような条件を満たす測定系として酵素結合免疫吸着測定法（Enzyme-linked immuno-sorbent assay；以下、ELISA）を選定し、開発に使用できる性能の測定系を確立することを目的とした。

【達成度、達成根拠】

文献報告等を参考にした条件検討を通して確立した試験方法を用いて、その性能評価として添加回収試験を実施した。添加回収試験では、抗原発現サナギの懸濁液を希釈する際に標準品を添加したサンプルを準備し、未添加サンプルとの測定値の差の理論値に対する比率を回収率として計算した。添加回収試験の結果を表①-1 に示す。測定値の標準偏差、回収率ともに良好な結果であり、本試験法を持って開発を進めることが可能であると判断した。

表①-1：回収率

	測定値 (mg/mL)	相対標準偏差 (%)	回収量 (mg/mL)	回収率 (%)
未添加	1.8	10.9		
+1.25mg/mL	2.8	15.9	1.0	78.4
+2.5mg/mL	4.2	13	2.4	96.2
+3.75mg/mL	5.5	8.8	3.7	99.1
未添加	1.7	15		
+2.5mg/mL	3.9	12.6	2.2	89.7
+5.0mg/mL	6.3	12.2	4.7	93.8
+7.5mg/mL	9.2	9.4	7.6	100.8
未添加	0.9	38.6		
+12.5mg/mL	12.5	15.7	11.6	92.8
+25mg/mL	24.1	0.8	23.2	92.8
+37.5mg/mL	41.3	10.3	40.3	107.5

①-2 不活化方法の開発

【目標】

本開発品には組換えバキュロウイルスが含まれるため、製造工程中でのウイルス不活化が必須であった。製造工程に精製工程がなく、工程中で添加したものが最終製剤に残留することから、不活化方法には医薬品としての安全性のリスクの低い方法が期待される。ウイルスが不活化され、抗原タンパク質の失活・分解が許容範囲内であつた安全性上のリスクの低い不活化方法を開発することを目標とした。

【達成度、達成根拠】

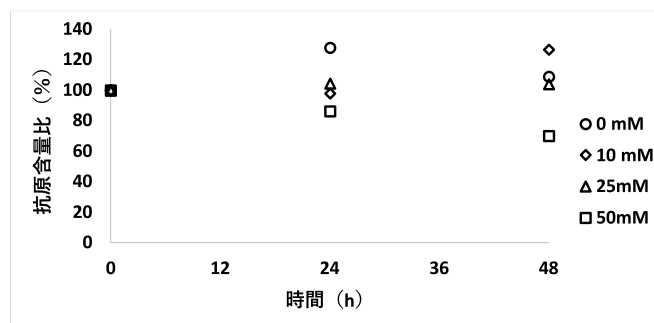
文献報告等を中心に情報を収集し、安全性上のリスクが低いと考えられる約 30 通りの方法をリストアップし、それぞれについて検証を行った。不活化処理は、組換えバキュロウイルスを感染させたカイコサナギまたはその懸濁液に対して実施した。ウイルスの不活化はプラークアッセイで感染可能なウイルスの残存を評価し、抗原タンパク質の安定性は①-1 で開発した ELISA 法で評価した。

約 30 種類の不活化方法の中から、不活化剤 A の添加によりウイルスの不活化と抗原タンパク質の安定性が確認された（表①-2、図①-1）。

以上の結果から、以降の開発では不活化剤 A による不活化方法を採用した。

表①-2：ウイルスの残存（単位：pfu/mL）

	0 mM	10 mM	25 mM	50 mM
24h	7.6×10^5	2.3×10^4	未検出	未検出
48h	5.3×10^5	5.0×10^3	未検出	未検出
72h	5.7×10^5	3.0×10^2	未検出	未検出



図①-1：抗原の安定性

② 製剤化技術の開発

②-1 アジュバントの必要性の確認

【目標】

製剤化前の抗原発現サナギ粉末を投与したカニクイザルの血清で抗体が陽性となった場合にはアジュバントは不要と判断し、陰性となった場合にはアジュバントが必要と判断することとした。アジュバントの検討では、抗原発現サナギ粉末飲みを投与したマウスと比較して、血清中の抗体価が高くなるアジュバントを採用する計画とした。

【達成度、達成根拠】

試験動物が入手困難な事やテーマ重要度を考慮し、アジュバントの必要性の確認は⑤-2の小動物での免疫原性試験内で評価することとした。

②-2 製剤化方法の開発

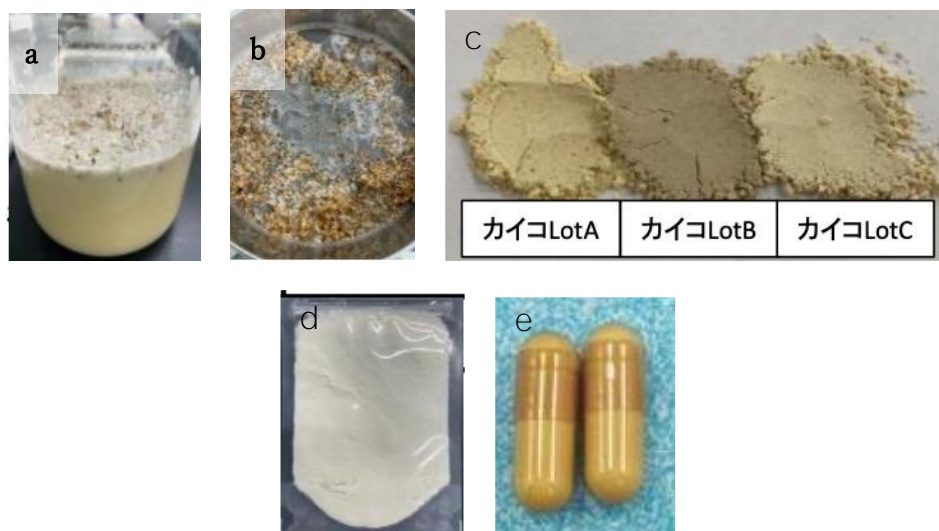
【目標】

製剤化に向けて、二つの課題があった。一つはサナギの殻を均一に粉砕することが困難なことで、もう一つは最終製剤の剤型を選択することであった。これら二つの課題を解決することを目標とした。

【達成度、達成根拠】

サナギ粉末中に大きさの異なる殻の破片が目視でも観察できた。これは製剤の均一性の担保の観点から重大な懸念点であり、均一化または殻の除去を検討することとした。均一な粉砕は技術的な困難があったが、殻の除去はカイコサナギ懸濁液をメッシュに通すことで達成できた(図②-1a,b)。この方法により目視ではパウダー中の殻が確認できない程度まで除去が可能であった。本事業ではメッシュによる殻の除去工程を採用することとした。

最終製剤の剤型を選択では、3ロットのカイコサナギを粉砕したところ、ロット間で色味に違いがあった(図②-1c)。錠剤にした場合にはこの色味の違いが製剤の色に反映されるリスクがあったため、剤型はカプセル剤を選定した。また、カイコ粉末のみの状態ではカプセル充填ができなかったため、賦形剤を添加する処方検討を実施してカプセル充填可能な処方を決定した。試作品として製造した粉末(賦形剤あり)を図②-1dに、充填したカプセル剤を図②-1eに示す。



図②-1：殻の除去検討

③ 特性解析

③-1 構造解析

【目標】

カイコに発現させた抗原タンパク質が目的としているタンパク質と一致していることをタンパク質の構造という観点から確認することを目的とした。

【達成度、達成根拠】

精製タンパク質を用いた N 末アミノ酸配列解析でタンパク質の一次構造を、円偏光二色性分析（以下、CD 分析）とフーリエ変換型赤外吸収スペクトル分析（以下、FT-IR 分析）でタンパク質の二次構造を評価した。一次構造の評価では全アミノ酸配列解析、アミノ酸組成分析なども計画しており、補完研究にて実施していく。

N 末アミノ酸配列解析は、試料を PVDF 膜に吸着させて N 末端より 10 サイクルのアミノ酸配列分析をプロテインシーケンサーで実施した。測定結果を表③-1 に示す。この結果から得られた N 末アミノ酸配列は「MKMASNAANP」であり、遺伝子配列から予想される N 末アミノ酸配列と一致していた。

表③-1：N 末アミノ酸配列解析

サンプルの配列	MKMASNDANP
予測配列	MKMASNDANP

CD 分析は円二色性分散計（日本分光、J-1500）で測定した。FT-IR 分析は試料を重水へと溶媒置換し、速やかに赤外分光光度計で測定した。CD 分析と FT-IR 分析の結果を表③-2 に示す。CD 分析結果は類似の条件での測定結果と同等の値であった。2 種類の測定で平面構造が多い傾向が一致していた。

表③-2：二次構造の解析結果

	Helix (%)	Strand (%)	Turn (%)	Others (%)
CD 分析	6.7	34.9	13.7	44.8
FT-IR 分析	4.1	66.0	23.8	6.1

③-2 物理化学的性質

【目標】

カイコに発現させた抗原タンパク質が目的タンパク質であることを物理化学的性質から確認することを目的とした。これまでに SDS-PAGE や Western blot にて確認してきたことに加えて、精製した抗原タンパク質の分子量を MALDI-TOF-MS で測定した。

【達成度、達成根拠】

脱塩並びに濃縮を行った試料を用いて測定を実施した。クロマトグラムは単一ピークを示し、分子量は 58.2 kDa であった。アミノ酸配列から予想される分子量が 59.0 kDa であることから、同等の分子量であると判断した。

図③-3：MALDI-TOF-MS による分子量測定結果

測定値	理論値	差
58.2 kDa	59.0 kDa	0.8 kDa

③-3 抗原性（力価）

【目標】

カイコに発現させた抗原タンパク質の免疫原性を確認することを目的とした。

【達成度、達成根拠】

①-1 で開発した方法で測定した抗原含量をもとに投与抗原量を設定し、⑤-2 に示す方法によりマウスでの免疫原性を評価した。試作ワクチンが免疫原性および容量反応性を有することが確認できた。抗原含量試験と免疫原性試験の相関の追加検証を補完研究に引き継ぐ。

③-4 成分分析

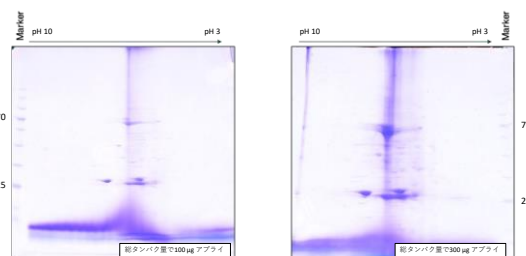
【目標】

抗原未発現サナギと抗原発現サナギの成分比較を行い、それぞれの成分について分析を行うことを目標とした。

【達成度、達成根拠】

2次元電気泳動の条件を検討し、成分検出のための動物由来抗血清を取得した。

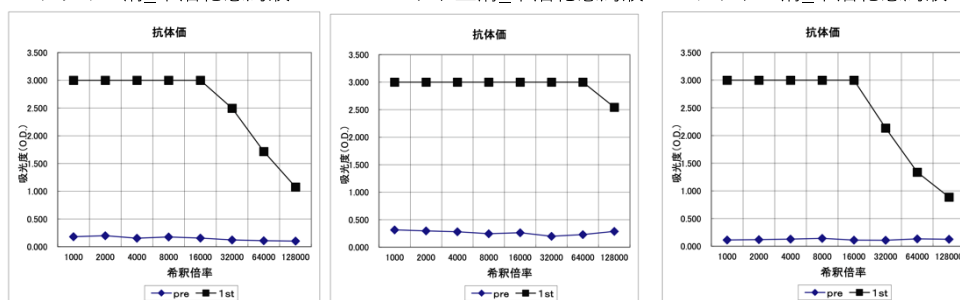
2次元電気泳動では、抗原未発現サナギ懸濁液をサンプルとし、アブライ抗原量を変えて泳動を実施した。泳動結果を図③-3 に示す。現在各タンパク質の分離度をより向上させる検討の途中であり、補完研究に引き継いで検討を進める。



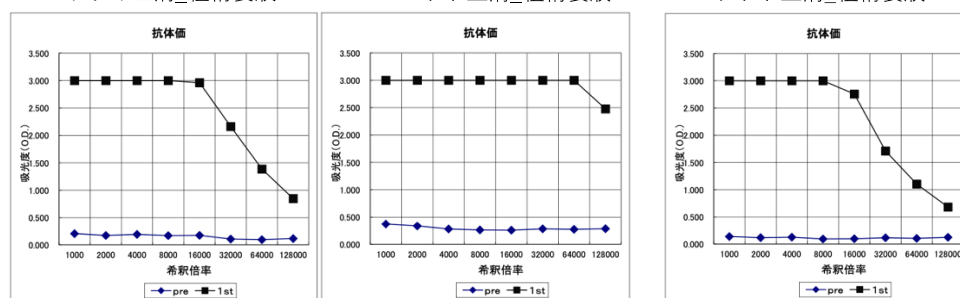
図③-1：2次元電気泳動図

動物由来血清の取得では、抗原が導入されていないバキュロウイルスを感染させたサナギ不活化懸濁液および粗精製液をサンプルとし、ウサギ、モルモット、ラットの3種類の動物から採血し、IgGを精製した。得られた動物ごとの血清のELISAでの抗体価測定結果を図③-4に示す。ウサギ、モルモット、ラットのいずれの動物種でも十分な抗体価の血清が取得できた。血清から精製したIgGを使用して、2次元電気泳動後のWestern Blottingとカイコサナギおよびバキュロウイルス由来物質のELISAによる定量系の確立を補完研究にて進める。

<ウサギ血清_不活化懸濁液> <モルモット血清_不活化懸濁液> <ラット血清_不活化懸濁液>



<ウサギ血清_粗精製液> <モルモット血清_粗精製液> <ラット血清_粗精製液>



図③-2：抗体価測定結果

③-5 安定性

【目標】

凍結乾燥カイコサナギ粉末を60℃で2年間保管した後に抗原含量の低下が10%以下を目標として、抗原の安定性を評価した。

【達成度、達成根拠】

凍結乾燥カイコサナギ粉末を27度に設定したインキュベーターに静置し、0、2、4、8、12、24週の時点で①-1で開発したELISA法で抗原の含量を評価した。12週までは抗原の安定性が確認できたが、24週でこれまでで最も低い値を示した。24週時点での安定性については次点での評価結果を含めて考察する必要がある。次点以降の評価および、60度での安定性評価を補完研究に引き継ぐ。

④ 安全性の確認

④-1 単回・反復投与毒性試験

【目標】

ワクチンの非臨床試験では安全性に関する試験が必須とされている。カイコを使った経口薬が存在しないことから、最初の安全性評価として単回投与毒性試験を実施し、そ

の結果をもとにして反復投与毒性試験を実施する計画であった。各試験において、被験薬に起因した死亡及び一般状態の変化がないこと、またはあっても回復することを目標とした。

【達成度、達成根拠】

本事業ではいずれの試験も実施せず、試験群、委託先を仮決定した。試験は補完研究で実施する。

④-2 アレルゲン解析

【目標】

カイコにはアレルゲンが含まれることが知られている。本開発品では、すべてのカイコ由来成分が経口投与されることから、アレルゲンに対する方策を考えるために、リスクアセスメントを実施した。

【達成度、達成根拠】

当初計画していた特定のアレルゲンになりうるタンパク質の有無ではなく、アレルゲンを含むカイコサナギ全ての成分の解析（③-4 に該当）を優先することとした。アレルゲンに関するリスクアセスメントの結果、いずれの候補物質もカイコアレルギーを有するヒトの血中 IgE と反応することが報告されているが、臨床症状との関連は明らかにされていない。また、いずれの候補物質も製造工程中の工夫でリスクを低減することができるため、その方法について補完研究で検討を実施する。

本事業では、優先度の高い甲殻類由来タンパク質の測定を実施し、サナギ 1g あたり 17 μ g 程度が検出された。

図④-1：アレルゲン候補物質

No.	アレルゲン名	タンパク質名	MW
1	Bomb m 1	Arginine kinase	42 kDa
2	Bomb m 3	Tropomyosin	38 kDa
3	Bomb m 4	30kDa Hemolymph Lipoprotein	30 kDa
4	Bomb m 5	30kDa Lipoprotein	29 kDa
5	Bomb m 6	Hemolymph Lipoprotein 3	28 kDa

⑤ 有効性の試験

⑤-1 有効性評価のための試験方法の開発

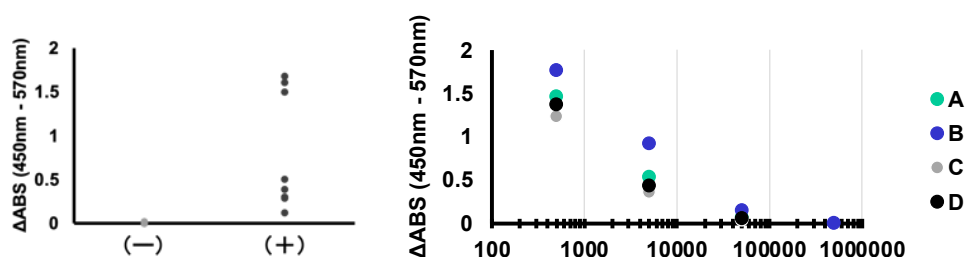
【目標】

ノロウイルスは感染実験ができないことから、組織血液型決定抗原(Histo-blood group antigen: HBGA)に対するウイルス抗原の結合阻害活性の評価が有効性試験の一つとして実施されている。本事業でも抗体 ELISA 試験による抗体価での有効性評価に加えて、HBGA 結合阻害試験を立ち上げた。いずれの試験でも特異性と容量反応性があり、容量反応性は重相関係数が0.9以上であることを目標値とした。

【達成度、達成根拠】

<抗体 ELISA 試験>

精製抗原を筋肉注射したマウス血清と未投与のマウス血清をサンプルとして、試験方法を検討した。それぞれの血清で試験を実施したところ、未投与のマウス血清では発色が認められなかったが、精製抗原を筋肉注射したマウス血清では発色が認められた。また、精製抗原を筋肉注射したマウス血清では容量反応性も確認され、重相関係数が0.9以上となった。測定結果を図⑤-1に示す。以上の結果から、本試験方法を評価試験として実施することに決定した。

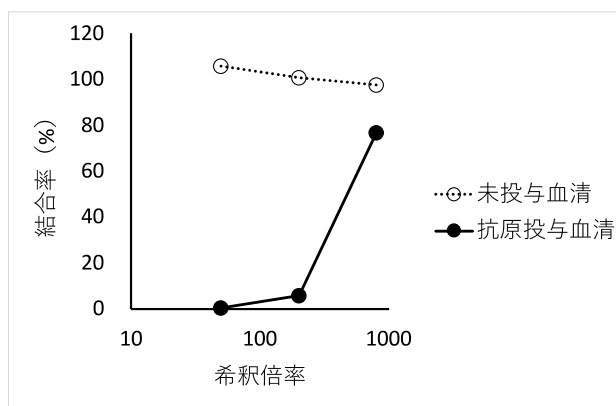


図⑤-1：抗体 ELISA 試験

<HBGA 結合阻害試験>

精製抗原を筋肉注射したマウス血清と未投与のマウス血清をサンプルとして、試験方法を検討した。最初に、精製抗原の HBGA への結合の容量反応性を確認した。次にそれぞれの血清で試験を実施したところ、未投与のマウス血清には結合阻害活性が認められなかったが、精製抗原を筋肉注射したマウス血清では結合阻害活性が認められ、容量反応性も確認された。測定結果を図⑤-2に示す。

なお、測定系の数値化の方法が当初想定していた検量線による換算ではないため「重相関係数が0.9以上」は目標から除外した。以上の結果から、本試験方法を評価試験として実施することに決定した。



図⑤-2：HBGA 結合阻害活性

⑤-2 小動物での薬効試験

【目標】

試作ワクチン投与群の血清にHBGA結合阻害活性があり、抗体が陽性であることを目標とした。また、投与量は【4. 安全性の確認】で毒性が出ない量とした。

【達成度、達成根拠】

試作ワクチン投与をマウスに経口投与すると、血中 IgG、IgA、腸管洗浄液中の IgA が上昇した。血清については HBGA 阻害活性試験を実施し、結合阻害活性を確認した。本結果から、試作ワクチンにアジュバントを添加する必要性は低いと判断した。

注射剤で初回接種を行ったマウスに対する経口投与での追加接種の効果や、有効成分由来の分解物、投与スケジュール・投与用量についての詳細な検討を補完研究にて実施する。

第3章 全体総括

本事業では、ノロウイルス感染症に対する経口ワクチンの研究開発を通じた経口ワクチンの製造基盤技術開発を目的とし、研究開発を進めた。本事業の実用化には、製薬企業との連携およびライセンスアウトが必要であるため、これらの実現に向けた取り組みとして、薬事承認機関である医薬品医療機器総合機構（以下、PMDA）への相談を実施している。実際に本事業の中では、R5年1月及びR5年6月の2回にわたるPMDAへの事前相談を通して開発戦略の妥当性を検証した結果、安全性・有効性評価に加えて、「1. 原料管理」と「2. 未精製経口ワクチンのリスク・ベネフィット検証」に関する課題の優先順位を変更するに至った。

本事業の具体的な研究開発は①製法構築と②試作ワクチンの評価の2つに大別される。①製法構築は事業内で開発が完了したが、②試作ワクチンの評価は本事業で未達の項目があり、補完研究にて継続して評価していく。

①製法構築では、ウイルス不活性化工程と製剤化工程を開発し、試作品の製造まで完了した。この開発の中で、必須の評価系の一つである、未精製サンプル中の抗原タンパク質の定量系を確立し、その性能が十分であることを確認した。本項目は当初の計画を全て達成し、本事業内での開発が完了した。

②試作ワクチンの評価では、抗原タンパク質の特性解析として、タンパク質の構造解析、物理化学的性質の解析を行い、発現した抗原タンパク質が導入した遺伝子配列から想定されるものであることを確認した。タンパク質の構造解析ではアミノ酸配列の解析などで継続した評価が必要であり、補完研究に引き継いで実施していく。また、試作ワクチンの抗原性（力価）、成分分析、安定性評価は、前述のPMDAへの事前相談で優先順位が変更された項目を含むこともあり、評価系の構築や評価が途中のため補完研究に引き継いで実施する。

試作ワクチンの安全性に関する試験では、5種類のアレルゲンについてリスク分析を行った。いずれの候補物質についても製造工程中の対策によりリスクを低減することが可能と考えられた。実用化に必須のGLP安全性試験については補完研究に引き継いで実施する。

有効性に関する試験では、マウスでの経口投与による免疫原性試験を実施し、血清IgG/IgA抗体価、HBGA結合阻害活性および腸管洗浄液のIgA抗体価の上昇を確認した。

今後の補完研究については、R4年度から本事業と並行して実施してきたAMED-SCAR DA事業「カイコ昆虫モダリティによる低価格な国産組換えワクチンに関する研究開発」内で実施していく計画である。これまで本研究とは別事業として実施してきたが、ノロウイルス

ス感染症を対象としていることなど、開発内容や原料の品質規格構築等に共通する部分が多いため、AMED-SCARDA 事業に統一することでより効率的な開発実務が可能となる。並行して、経口ワクチン開発に関心を示す製薬企業との交渉を開始しており、同社へのライセンスアウトを目指す中で必要に応じて KAICO 社内での補完研究を実施していく。

【アドバイザーからの講評】

国立大学法人鹿児島大学 農水産獣医学域農学系 農学部 食料生命科学科 准教授

宮田 健

本研究開発において重要な点は、品質が十分に担保された抗原の確保とバキュロウイルスの不活化である。この二点の関係は、不活化効率を高めると抗原としての性能に影響する可能性があり、非常に難しい課題であった。この両立をクリアする条件を見出し、確実な抗原の精製方法を確立したことは、経口ワクチン開発において重要な成果と言える。

さらに、ワクチンとしての有効性検証において、小動物での抗原特異的抗体産生増強能が認められたことから、カイコで作出した抗原の経口ワクチンとしての潜在性が実証された。一方で、アレルギーの詳細な安全性検証や最適な抗原性を発揮する投与条件については、まだ検討すべき課題が残されている。これらは補完研究によって検証される予定であり、その結果を踏まえて実用化に向けた研究開発がさらに発展することが期待される。

株式会社 FFG ベンチャービジネスパートナーズ 取締役副社長

山口 泰久

経口ワクチンの実用化という目標に対しては、課題山積であるが、PMDA への事前相談を行いながら課題に優先順位をつけて、課題をクリアするための適切な人員配置や体制強化を行ってきた点は評価できる。今後事業化を目指していくためには、PMDA からの指摘事項に対して、経済合理性の観点からだけでなく医学的なメリットを示しつつどのように回答していくかが重要になるため、外部専門人材も活用しながら引き続き取り組んでいただきたい。

リアルテックホールディングス株式会社 グロースマネージャー

福田 裕士

2 年間で 2 回の PMDA 事前相談を実施しており、PMDA からの指摘事項に対しても、

課題を 1 つずつ解決しながら粛々と事業を進めていることについて評価できる。研究開発の推進や体制強化と並行して、パートナー候補となりえる製薬会社との交渉も始めていくことも研究成果が事業化に繋がると思うので、引き続き取り組んでいただきたい。

株式会社ユーグレナ R&D 企画室 室長

朝山 雄太

経口ワクチンの薬事承認は厳しい道のりであることを理解したうえで、PMDA からの指摘事項を真摯に受け止めて研究開発進められている事を評価する。抗原タンパク質であるノロウイルス VLP が未精製であることが、PMDA に受け入れられるかを懸念していたが、事前相談の結果、今後のデータ次第では検討の余地があることがわかり、経済合理性の面からも訴求していくことができるのではないかと考える。今後もぜひ頑張ってください。