

沖縄県委託事業

平成 28 年度 沖縄感染症研究拠点形成促進事業（創薬開発研究分野）

「ウイルスワクチンを安心安全に生産するための
先端遺伝子工学技術の開発」

委託業務成果報告書

（概要版）

平成 2 9 年 3 月

公益財団法人 沖縄科学技術振興センター

目次

第1章 事業の概要

1. 事業の目的と概要	1
(1) 事業の目的	1
(2) 事業の概要	1
(3) 業務内容および実施方法	1
2. 共同研究事業の実施計画	3
(1) 事業の実施計画	3
(2) 事業の実施体制	4
(3) 委託先における事業実施体制	5
3. 共同研究事業の内容	6
(1) 研究開発項目	6
(2) 再委託先における研究体制	7

第2章 事業の内容

1. 情報発信・連携促進等	9
(1) シンポジウムの開催	9
(2) 感染症ワクチン開発研究セミナーの開催	11
2. 共同研究事業の推進	12
(1) 研究成果の概要	13
研究開発項目【3-1】 「人工遺伝子の設計・合成とワクチン量産プロセスの開発」	
3-1-1. 「H5型及びH7型インフルエンザの2種混合ワクチン試作品の製造」	
3-1-2. 「ワクチン用人工遺伝子の配列設計法の開発」	
3-1-3. 「H9型インフルエンザワクチンの遺伝子設計と起動性の分析」	
3-1-4. 「日本脳炎ワクチンの試験製造と量産についての研究並びに遺伝子5型日本脳炎ワクチンの開発研究」	
3-1-5. 「デングウイルスワクチンの開発研究」	
研究開発項目【3-2】 「沖縄産カイコを新たなワクチン供給源とするための技術開発」	
3-2-1. 「ワクチン製造を目的とする沖縄産カイコの生産技術開発」	
3-2-2. 「沖縄産カイコを用いたワクチンの試験生産」	
研究開発項目【3-3】 「ワクチンの有効性と安全性の解析」	
3-3-1. 「日本脳炎ワクチンによる免疫応答の機能解析」	
3-3-2. 「デングワクチンの有効性と安全性の検証」	

3-3-3. 「ウイルスワクチンの構造・物性の解析と評価」	
3-3-4. 「ウイルス様粒子（VLP）生産と感染防御の病理学的解析」	
(2) 研究推進委員会	30
(3) ネットワークの構築	33
参考資料	
1. 本事業に関連する外部発表一覧	35
2. シンポジウム講演要旨	39

第 1 章 事業の概要

第1章 事業の概要

1. 事業の目的と概要

(1) 事業の目的

本事業は、ウイルスによる感染症に抗ずる対策として新規のバイオ技術によってウイルスワクチンを開発し、その成果を核として世界が注目する研究開発および産業の拠点を沖縄に形成させることを目的とする。

(2) 事業の概要

(事業概要)

ウイルス対策の新規バイオ技術によって、世界が注目する研究開発・産業拠点を沖縄に形成させることを目的とする。従来は対処困難だったウイルスに対し、安心安全な方法で迅速にワクチンを準備し、ウイルス対応を大幅に時間短縮させる技術を開発する。

今後想定される各種ウイルスによる危機に対しても汎用的に使うことのできる先端遺伝子工学技術を開発するとともに、関連分野の研究機関や民間企業の人的交流を活性化し、医薬品業界等が結集する感染症対策イノベーション創出の核を育成させる。

(研究概要)

病原性のウイルス自体を用いずにウイルス遺伝子情報の必要部分のみを基にワクチン生産用の人工的な遺伝子を作製し、カイコの蛹の体内でワクチン用タンパク質を発現させ量産するシステムの研究開発を行う。新型インフルエンザウイルス（H7型、H9型）及びフラビウイルス（デングウイルス、西ナイルウイルス、日本脳炎ウイルス）などの抗原部分の遺伝子に大量発現モチーフを設計、挿入した人工遺伝子を化学合成し、カイコ蛹の中で病原性を伴わない抗原タンパク質だけを生産させて顆粒状の物質として精製する。また、沖縄産カイコ（エリ蚕）の物質生産の特性を活用し、家蚕の場合とは異なる優れた性状のワクチン・タンパク質の創出やより高い生産性が可能になるような、新たなワクチン供給源とするための技術開発を行う。得られる産生物それぞれの物性・構造を解析するとともに免疫応答の機能解析を行い、ワクチンとしての有効性と安全性の評価を実施することにより、新型インフルエンザウイルスとフラビウイルスのワクチン量産システムを実証する。

(3) 業務内容および実施方法

本事業では、1. 事業マネジメント、2. 研究ネットワーク形成、3. 共同研究事業の3つを主な内容とする。

1. および2. としては、セミナー・シンポジウム（各1回／年）の開催による情報発信を行い、ネットワークの形成を促進する。

3. については次の3つの研究開発項目を分担課題とする。

研究開発項目【3－1】 「人工遺伝子の設計・合成とワクチン量産プロセスの開発」

3－1－1. 「H5型及びH7型インフルエンザの2種混合ワクチン試作品の製造」

3－1－2. 「ワクチン用人工遺伝子の配列設計法の開発」

3－1－3. 「H9型インフルエンザワクチンの遺伝子設計と起動性の分析」

3－1－4. 「日本脳炎ワクチンの試験製造と量産についての研究並びに遺伝子5型
日本脳炎ワクチンの開発研究」

3－1－5. 「デングウイルスワクチンの開発研究」

研究開発項目【3－2】 「沖縄産カイコを新たなワクチン供給源とするための技術開発」

3－2－1. 「ワクチン製造を目的とする沖縄産カイコの生産技術開発」

3－2－2. 「沖縄産カイコを用いたワクチンの試験生産」

研究開発項目【3－3】 「ワクチンの有効性と安全性の解析」

3－3－1. 「日本脳炎ワクチンによる免疫応答の機能解析」

3－3－2. 「デングワクチンの有効性と安全性の検証」

3－3－3. 「ウイルスワクチンの構造・物性の解析と評価」

3－3－4. 「ウイルス様粒子（VLP）生産と感染防御の病理学的解析」

2. 共同研究事業の実施計画

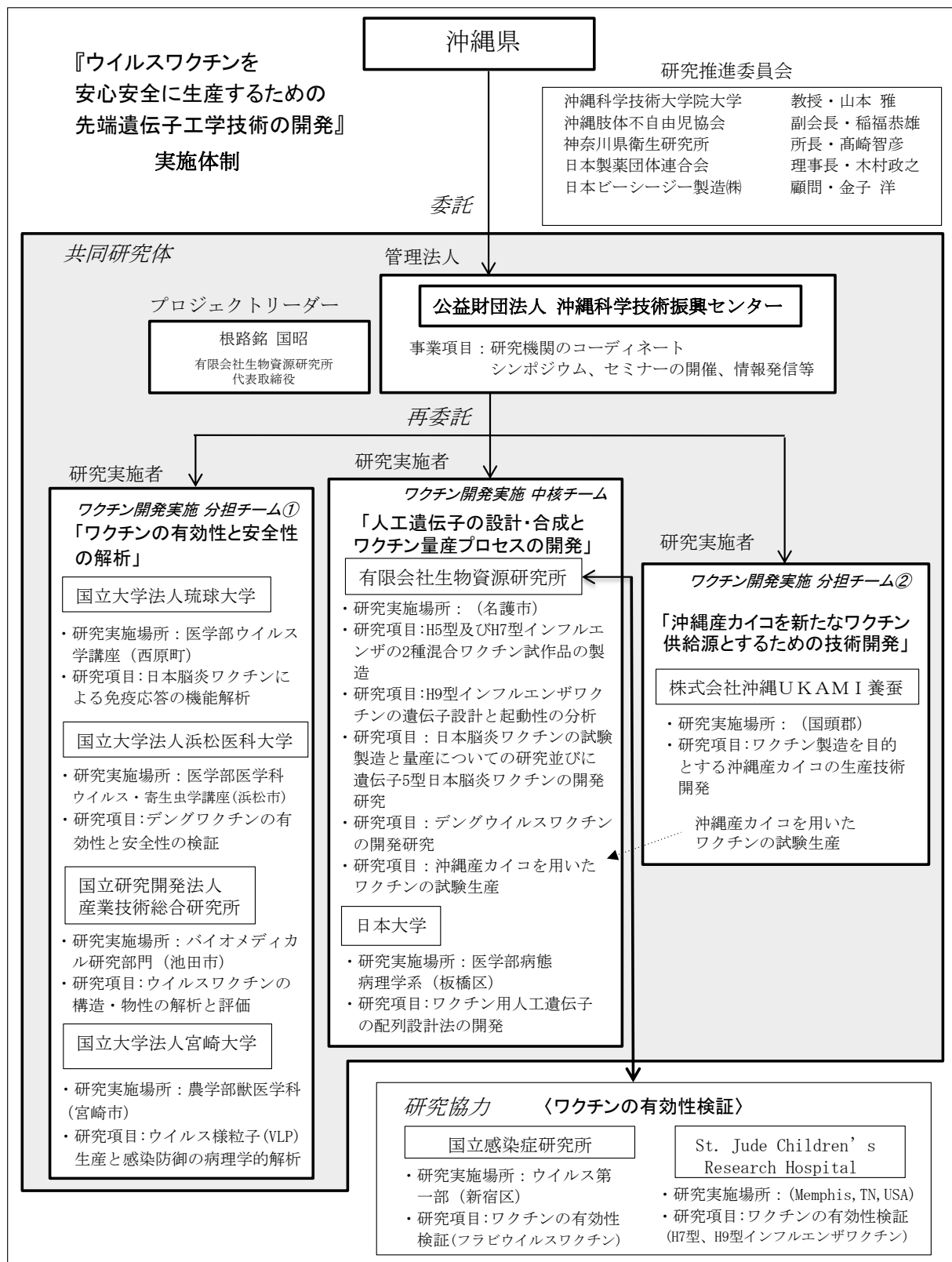
(1) 事業の実施計画

委託期間：平成28年4月1日 から 平成29年3月31日まで

研 究 項 目	平成28年度											
	平28年									平成29年		
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
研究開発項目【3-1】 「人工遺伝子の設計・合成と ワクチン量産プロセスの開 発」												
○データの整理												
研究開発項目【3-2】 「沖縄産カイコを新たなワク チン供給源とするための技 術開発」												
○データの整理												
研究開発項目【3-3】 「ワクチンの有効性と安全性 の解析」												
○データの整理												
研究推進委員会（2回）				○							○	
シンポジウム									○			
セミナー											○	
○報告書作成												

(2) 事業の実施体制

本事業では、公益財団法人沖縄科学技術振興センターを管理法人として、下記の体制で事業を遂行した。



(3) 委託先における事業実施体制

実施機関については、公益財団法人沖縄科学技術振興センターを管理法人として、3つの研究開発課題について、以下の研究機関で分担実施する。

中核研究所

有限会社 生物資源研究所 (沖縄県名護市字中山 893-2)

分担研究所

- ・学校法人日本大学 日本大学医学部 (東京都板橋区大谷口上町 30-1)
- ・株式会社 沖縄 UKAMI 養蚕 (沖縄県国頭郡今帰仁村字平敷 267-1-D)
- ・国立大学法人 琉球大学 (沖縄県中頭郡西原町字上原 207 番地)
- ・国立大学法人 浜松医科大学 (静岡県浜松市東区半田山一丁目 20 番 1 号)
- ・国立研究開発法人 産業技術総合研究所 関西センター (大阪府池田市緑丘1-8-31)
- ・国立大学法人宮崎大学 農学部 (宮崎県宮崎市学園木花台西 1 丁目 1 番地)

委託先：公益財団法人 沖縄科学技術振興センター

(主たる事業実施場所)

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 5-1

沖縄バイオ産業振興センター 215 号室

TEL : 098-921-2500 FAX : 098-921-4700

(その他の事業実施場所)

—

3. 共同研究事業の内容

(1) 研究開発項目

研究開発項目【3-1】 人工遺伝子の設計・合成とワクチン量産プロセスの開発

3-1-1. 「H5型及びH7型インフルエンザの2種混合ワクチン試作品の製造」

実施機関：有限会社 生物資源研究所

3-1-2. 「ワクチン用人工遺伝子の配列設計法の開発」

実施機関：学校法人日本大学 日本大学医学部

3-1-3. 「H9型インフルエンザワクチンの遺伝子設計と起動性の分析」

実施機関：有限会社 生物資源研究所

3-1-4. 「日本脳炎ワクチンの試験製造と量産についての研究並びに遺伝子5型
日本脳炎ワクチンの開発研究」

実施機関：有限会社 生物資源研究所

3-1-5. 「デングウイルスワクチンの開発研究」

実施機関：有限会社 生物資源研究所

研究開発項目【3-2】 沖縄産カイコを新たなワクチン供給源とするための技術開発

3-2-1. 「ワクチン製造を目的とする沖縄産カイコの生産技術開発」

実施機関：株式会社 沖縄 UKAMI 養蚕

3-2-2. 「沖縄産カイコを用いたワクチンの試験生産」

実施機関：有限会社 生物資源研究所

研究開発項目【3-3】 ワクチンの有効性と安全性の解析

3-3-1. 「日本脳炎ワクチンによる免疫応答の機能解析」

実施機関：国立大学法人 琉球大学 大学院医学研究科

3-3-2. 「デングワクチンの有効性と安全性の検証」

実施機関：国立大学法人 浜松医科大学

3-3-3. 「ウイルスワクチンの構造・物性の解析と評価」

実施機関：国立研究開発法人 産業技術総合研究所

3-3-4. 「ウイルス様粒子（VLP）生産と感染防御の病理学的解析」

実施機関：国立大学法人宮崎大学 農学部

(2) 再委託先における研究体制

実施責任者（プロジェクト・リーダー）

根路銘 国昭

有限会社 生物資源研究所 所長 兼 代表取締役

本事業の再委託先 7 機関については、下記に記す。 （研究開発項目順）

再委託先 1：有限会社 生物資源研究所

（主たる研究実施場所）

〒905-0004 沖縄県名護市中山 893-2

有限会社 生物資源研究所

再委託先 2：学校法人日本大学 日本大学医学部

（主たる研究実施場所）

〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町 30-1

学校法人日本大学 日本大学医学部

再委託先 3：株式会社 沖縄 UKAMI 養蚕

（主たる研究実施場所）

〒 905-0423 沖縄県国頭郡今帰仁村字平敷 267-1-D

株式会社 沖縄UKAMI養蚕 事務所

（その他の研究実施場所）

沖縄県国頭郡今帰仁村字今泊 3933 （旧兼次中学校 2 階教室）

株式会社 沖縄 UKAMI 養蚕 養蚕場

再委託先 4：国立大学法人 琉球大学

（主たる研究実施場所）

〒 903-0215 沖縄県中頭郡西原町字上原 207 番地

琉球大学医学部 基礎研究棟8階ウイルス学講座実験室および同附属動物実験施設

再委託先 5：国立大学法人 浜松医科大学

（主たる研究実施場所）

〒431-3192 静岡県浜松市東区半田山一丁目 20 番 1 号

国立大学法人 浜松医科大学 医学部 ウイルス・寄生虫学講座

再委託先 6：国立研究開発法人 産業技術総合研究所

(主たる研究実施場所)

〒563-8577 大阪府池田市緑丘 1-8-31

国立研究開発法人産業技術総合研究所関西センター 高分子化学実験棟

(その他の研究実施場所)

国立研究開発法人産業技術総合研究所 つくばイノベーションアリーナ推進センター共用
施設運営ユニット共用施設ステーションが運営する次の事業所の電子顕微鏡施設

- ・ 〒563-8577 大阪府池田市緑丘 1-8-31 関西センター 関西産学官連携研究棟
- ・ 〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 つくばセンター第 6 事業所 6-9 棟
- ・ 〒305-8565 茨城県つくば市東 1-1-1 つくばセンター第 5 事業所 5-1 棟
- ・ 〒305-8562 茨城県つくば市東 1-1-1 つくばセンター第 5 事業所 54-3 棟

再委託先 7：国立大学法人宮崎大学 農学部

(主たる研究実施場所)

〒889-2192

宮崎県宮崎市学園木花台西 1 丁目 1 番地

国立大学法人宮崎大学 農学部

第2章 事業の内容

第2章 事業の内容

1. 情報発信・連携促進等

(1) シンポジウムの開催

(1) - 1 シンポジウムの概要

沖縄感染症研究拠点形成促進事業は、沖縄県から受託している事業であり、平成 27 年度からスタートしている。

当該シンポジウムは、本事業の一般県民に向けた情報発信及び研究成果発表並びに、本研究領域の研究者や医療関係者のネットワークの構築を図り今後の沖縄での本研究をより充実発展させることを目的に開催しており、昨年度に引き続き今回は2回目の開催であった。

シンポジウムは、特別講師として山口大学大学院 教授 鶴田良介氏を招聘した特別講演を実施し、その後、本事業のプロジェクトリーダー根路銘国昭氏による基調講演、及び本研究に携わる共同研究者の講演を行った。また、シンポジウム資料の配布に併せて、事業紹介チラシを配布し、本事業の情報発信を行った。

当日のシンポジウム参加者は 63 名であり、参加者の内訳は研究・教育機関が最も多く 31 名（49.2%）、次いで一般参加者 14 名（22.2%）であった。県外からの参加もあり、本研究の関心の高さが伺えた。

また、県内2新聞社からも記者が訪れ、プロジェクトリーダーである根路銘国昭氏が取材に応じた。

シンポジウムの講演要旨および新聞記事については、「参考資料」に掲載する。

(1) - 2 シンポジウムの内容

「シンポジウム ～ 21 世紀のシルクロードは沖縄から ～」

1. 日 時：平成 28 年 12 月 16 日（金）13：00～16：00
2. 会 場：ロワジールホテル那覇 スパタワー3 階「ていだ」
3. 主 催：公益財団法人 沖縄科学技術振興センター
4. 後 援：沖縄県、国立大学法人 琉球大学
5. 参 加 者：63 名

(1) - 3 シンポジウムのプログラム

- 13:00-13:05 主催者挨拶 公益財団法人 沖縄科学技術振興センター
理事長 平良 初男
- 13:05-13:10 来賓挨拶 沖縄県企画部 科学技術振興課長 長濱 為一
- 13:10-13:50 特別講演「救急医療と（ウイルス）感染症」
鶴田 良介
〔山口大学大学院医学系研究科 救急・総合診療医学講座 教授〕
- 13:50-14:10 基調講演「ワクチン研究事業の総括」
根路銘 国昭〔有限会社 生物資源研究所 所長〕
- 14:10-14:30 休 憩
- 14:30-14:40 「ワクチンの遺伝子設計及びデングウイルスワクチンの研究」
黒田 和道〔学校法人 日本大学 日本大学医学部 准教授〕
- 14:40-14:50 「新型ハイブリッドインフルエンザウイルスワクチンの設計法に関する研究」
前川 憲一〔有限会社 生物資源研究所 研究員〕
- 14:50-15:00 「新型ハイブリッドインフルエンザウイルスワクチンの評価法に関する研究」
小滝 徹〔有限会社 生物資源研究所 研究員〕
- 15:00-15:10 「現行(G3 型)及び再興 (G5 型) 日本脳炎ウイルスワクチンの研究」
松田 沙耶香〔有限会社 生物資源研究所 研究員〕
- 15:10-15:20 「日本脳炎ワクチンの免疫応答」
只野 昌之〔国立大学法人 琉球大学 大学院医学研究科 准教授〕
- 15:20-15:30 「デングウイルスワクチンの発現」
鈴木 哲朗〔国立大学法人 浜松医科大学 医学部医学科 教授〕
- 15:30-15:40 「インフルエンザ及び日本脳炎 VLP ワクチンの粒子構造と組織病理学的研究」
山口 良二〔国立大学法人宮崎大学 農学部獣医学科 教授〕
- 15:40-15:50 「開発ワクチンの構造解析」
川崎 一則〔国立研究開発法人 産業技術総合研究所 主任研究員〕
- 15:50-15:55 「ワクチン開発に用いるカイコ素材の検討」
仲宗根 豊一〔株式会社 沖縄 UKAMI 養蚕 代表取締役〕

(2) 感染症ワクチン開発研究セミナーの開催

(2) - 1 セミナーの概要

本事業に関連して、情報発信および研究者のネットワークの形成を目的として、「感染症ワクチン開発研究セミナー ～豊かな可能性を秘めるカイク由来ワクチン～」を開催した。

セミナーの講師として、本事業のプロジェクトリーダーである有限会社 生物資源研究所 所長 根路銘国昭 氏、同研究所 前川憲一氏、松田沙耶香氏、本事業の共同研究者である 浜松医科大学 医学部 ウイルス寄生虫学講座 教授 鈴木哲朗 氏 の講演に加え、本事業の研究協力機関である St. Jude Children's Research Hospital から Dr. Robert G. Webster (ロバート・ウェブスター氏) を招聘した。

当日は当該事業の研究実施者はもとより、県内の大学教職員・研究者、自治体、病院、企業等、合計 55 名が参加し、研究者間の交流の場を提供することができた。参加者の内訳は研究・教育機関が 30 名 (54.5%) と最も多く、次いで自治体の 9 名 (16.4%) であった。

(2) - 2 セミナーの内容

1. タイトル：「感染症ワクチン開発研究セミナー
～ 豊かな可能性を秘めるカイク由来ワクチン ～」
2. 日 時：平成 29 年 2 月 10 日 (金) 14:00～17:00
3. 会 場：パシフィックホテル沖縄 2 階「カネオヘ」
4. 主 催：公益財団法人 沖縄科学技術振興センター
5. 参 加 者：55 名

(2) - 3 セミナーのプログラム

- 14:00-14:05 開会挨拶 沖縄県企画部 科学技術振興課長 長濱 為一
- 14:05-15:15 Robert G. Webster (St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA)
“The possibility of future pandemic caused by avian influenza viruses”
(未来におけるトリインフルエンザ大流行の可能性)
- 15:15-15:55 根路銘 国昭、前川 憲一、松田 沙耶香 (生物資源研究所・沖縄)
“Vaccine measures to pandemic viruses”
(大流行ウイルスに立ち向かうワクチン対策)
- 15:55-16:05 休 憩
- 16:05-16:45 鈴木 哲朗 (浜松医科大学・静岡)
“The threat of dengue epidemic”
(デング熱流行の脅威)
- 16:45-17:00 総合討論

2. 共同研究事業の推進

本事業では、感染症対策のための具体的な研究開発課題として、「ウイルスワクチンを安心安全に生産するための先端遺伝子工学技術の開発」を研究テーマとして、以下の3つの研究開発課題について共同研究を行っている。各研究開発課題における平成28年度研究成果の概要、及び研究成果の詳細について、以下に示す。

研究開発項目【3-1】 「人工遺伝子の設計・合成とワクチン量産プロセスの開発」

- 3-1-1. 「H5型及びH7型インフルエンザの2種混合ワクチン試作品の製造」
- 3-1-2. 「ワクチン用人工遺伝子の配列設計法の開発」
- 3-1-3. 「H9型インフルエンザワクチンの遺伝子設計と起動性の分析」
- 3-1-4. 「日本脳炎ワクチンの試験製造と量産についての研究並びに遺伝子5型日本脳炎ワクチンの開発研究」
- 3-1-5. 「デングウイルスワクチンの開発研究」

研究開発項目【3-2】 「沖縄産カイコを新たなワクチン供給源とするための技術開発」

- 3-2-1. 「ワクチン製造を目的とする沖縄産カイコの生産技術開発」
- 3-2-2. 「沖縄産カイコを用いたワクチンの試験生産」

研究開発項目【3-3】 「ワクチンの有効性と安全性の解析」

- 3-3-1. 「日本脳炎ワクチンによる免疫応答の機能解析」
- 3-3-2. 「デングワクチンの有効性と安全性の検証」
- 3-3-3. 「ウイルスワクチンの構造・物性の解析と評価」
- 3-3-4. 「ウイルス様粒子（VLP）生産と感染防御の病理学的解析」

(1) 研究成果の概要

研究開発項目の本年度の成果については、機関ごとに以下に述べる。

【3-1】人工遺伝子の設計・合成とワクチン量産プロセスの開発

本研究は、新型インフルエンザウイルス（H7 型、H9 型）及びフラビウイルス（日本脳炎ウイルス、デングウイルス）などに対するワクチン生産用人工遺伝子の開発戦略を策定し、それぞれの人工遺伝子の設計・合成、並びにカイコ蛹の発現系を用いたワクチンの量産プロセスを開発し、各ワクチン試作品を製造する。

さらに、同じ手法を用いて、H9 型インフルエンザ、現行ワクチンと同じ遺伝子 III 型の日本脳炎ワクチン、及び遺伝子 V 型の日本脳炎ワクチンに加え、デングウイルスワクチンの基本的な研究と実用ワクチン開発の可能性についても研究を進め、ワクチン量産プロセスを確立する。

これと平行して、ワクチン生産と使用についての「国際的な標準化」についても、免疫試験とタンパク分析によって検討する。

3-1-1. 「H5 型及びH7 型インフルエンザの2 種混合ワクチン試作品の製造」

有限会社 生物資源研究所

1. 目 的

本研究は、「H5 型・H7 型 インフルエンザ 2 種混合ワクチン」開発を目的とし、先ず昨年度の研究成果、及び既に構築されているウイルス株ストックの調査により、2 種混合ワクチンとして使用するのに最適な H7 型ワクチン生産用ウイルス株を選定し、人工遺伝子の設計・合成、並びにカイコ蛹発現系での解析を行い、2 種混合ワクチン開発の可能性について検討する。

2. 3 年間の全体計画

昨年度の研究で H5 型及び H7 型の各インフルエンザワクチンの生産は、人工設計・合成遺伝子とカイコの組み合わせにより、その大量生産に成功している。

本年度以降は、これらのワクチンについて、適正な免疫応答とワクチン量の適正な配置による「H5 型・H7 型インフルエンザ 2 種混合ワクチン」の可能性について検討し、さらに、H5 型と H7 型の単純な組み合わせによるものと、ゲノムレベルでの、H5 型と H7 型のハイブリッド遺伝子の組み合わせの実施による「2 種混合ワクチン」の有効性について検討する。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

- 1) 本年度は、H7 型インフルエンザワクチン株としては、有望な弱毒ウイルスである A/duck/Korea/A76/2010(H7N7)と、既にアメリカ合衆国等でワクチン株として開発されている A/Anhui/1/2013(H7N9)を選び、人工遺伝子の設計・合成、並びにカイコ蛹の発現系

での解析を行った。

- 2) また、本事業で対象としている新型インフルエンザウイルス（H5 型、H7 型、H9 型）の内、H5 型(H5-Fukushima)と H7 型(H7-Anhui)トリインフルエンザウイルスについて、二価インフルエンザ VLP ワクチンの設計、並びに 二価インフルエンザ VLP ワクチンの E タンパク発現確認に成功し、その試作品製造への道が大きく拓かれた。

4. 考察（今後の課題と展望等）

上述の成果により、本二価（H5-H7）インフルエンザ VLP ワクチンは、パンデミックに備えたワクチン開発に向け、大きく進歩した。

今後は、適正な免疫応答とワクチン量の適正な配置による「H5 型-H7 型 インフルエンザ 2 種混合ワクチン」の可能性について検討する。

3-1-2. 「ワクチン用人工遺伝子の配列設計法の開発」

学校法人 日本大学 日本大学医学部

1. 目 的

本研究は、ワクチンとして用いるウイルスタンパク質抗原を、カイコにおいて高い効率で産生させるための人工遺伝子設計法の確立を目的とする。そのために高効率産生に必要な遺伝子構造を明らかとし、その構造を備えた新たに設計した人工遺伝子が、効率良く発現されることを確認する。

2. 3年間の全体計画

これまでの研究により、多くのウイルスタンパク質をカイコで産生させることができた。ただ、その産生効率には明らかな差があることが明らかとなった。最も高い産生効率を示したインフルエンザウイルス A/duck/Fukushima/16/2011(H5N1)株の HA タンパク質(Fukushima-HA)と低産生を示したウイルスタンパク質に関し、転写翻訳過程の比較を行うことで、高産生の原因を明らかとする。その結果に従い、高産生に必要な遺伝子構造を見出す。この遺伝子構造を利用することで、種々のワクチン抗原候補ウイルスタンパク質に関し、それらを高産生するための人工遺伝子の設計が可能となる。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

前年度の解析により、カイコ細胞へのコドン最適化を行った Fukushima-HA と最適化を行う前の野生型 Fukushima-HA とのカイコ細胞での発現比較で、コドン最適化が mRNA 量を増大させることが示され、コドン最適化が翻訳レベルで寄与するとの従来の仮説と異なる結果が得られた。この点の解明をさらに進めるために、ポリヒドロリンプロモーター制御下の遺伝子の発現を、組換え体バキュロウイルスを用いないで解析する、一過性 *in vitro* 発現系を確立した。また、インフルエンザウイルスにおけるコドン使用頻度の特徴の解析を行った。

インフルエンザウイルスの H5 型と H7 型との混合ワクチン用人工遺伝子の配列設計を行った。さらに、再興（日本脳炎ウイルス GV 型）および新興ウイルスの（ジカウイルス）ワクチン用人工遺伝子のための配列設計を行った。これらの遺伝子は、カイコ細胞で順当に発現された。

4. 考察（今後の課題と展望等）

コドン最適化が mRNA 量に影響するという知見は、今後本事業で開発するワクチン用タンパク質の発現を増強させるための手法の樹立に向けての道筋を拓いた。mRNA 量の変化は、転写量の変化、あるいは、mRNA の安定性の変化、どちらかによりもたらされと考えられる。コドン最適化の効果に関する最近の報告では、mRNA の安定性への影響が注目されている。我々の解析においても、それを示唆する結果が得られている。このような解析を進めることで、ワクチンタンパク質を安定的に高産生させられる遺伝子の設計が可能となると考えられる。本事業では、カイコを用いたワクチン用タンパク質の産生過程の確立が重要な柱となっている。この

産生過程には多くのステップがあり、それぞれを最適化する必要がある。各ステップでの問題点の中には、タンパク質の発現効率と密接に関係している(例えば、精製過程)ものがある。発現効率の最適化は、本プロジェクトの目標達成のために最重要な課題の一つである。来年度内に基本的遺伝子設計法の樹立を目指す。

3-1-3. 「H9型インフルエンザワクチンの遺伝子設計と起動性の分析」

有限会社 生物資源研究所

1. 目 的

パンデミック（世界流行型）インフルエンザウイルスは H5、H7 並びに H9 型トリインフルエンザウイルスであるが、多くの関係者の間で、その中のどの亜型が次の新型として主役となるか、が今日の大きな関心事となっている。その近未来の危機に備えて、我々は、既に H5 型と H7 型インフルエンザワクチンをカイコで量産するシステムをカイコの宿主で確立した。その戦略線上で、H9 型インフルエンザワクチンを開発する。

2. 3年間の全体計画

本研究は、中国でヒトとトリの間で流行する可能性が有るウイルス株を選定し、その HA 遺伝子の塩基配列の中にカイコの遺伝子型コドンを挿入する。それを受けて、H9 型インフルエンザワクチンを生産するキメラ DNA を設計・合成し、これによってカイコの細胞と蛹で合成される HA タンパク質の生物学的、免疫学的、物理化学的 並びに形態学的な分析を実施し、ワクチンとしての性状を明らかにする。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

1) H9 型インフルエンザウイルスワクチン用人工遺伝子の合成

H9 型インフルエンザウイルスのワクチン用人工遺伝子を設計し合成した。

2) H9 型インフルエンザウイルスワクチン用タンパク質の発現確認

H9 型インフルエンザウイルスのワクチン用人工遺伝子をバキュロウイルスに導入し、H9-バキュロウイルスを作出した。この H9-バキュロウイルスをカイコ培養細胞に感染させ、Western blot 法と蛍光免疫染色法による解析により、H9 型 HA 遺伝子の発現を確認した。

3) 更に、「3 価インフルエンザ VLP ワクチンの設計法」を開発し、その設計によるタンパク発現を検討中である。

4. 考察（今後の課題と展望等）

上述の成果により、今後は、H9 型インフルエンザウイルスの HA 遺伝子を分析し、これによって作られる免疫物質を分析した上で、その免疫学的特徴がワクチンとしての条件に合致するかどうかを検討する。具体的には、免疫応答が強いかどうか、広域な応用エピトープを持っているかを、米国の共同研究者（研究協力機関: St. Jude Children's Research Hospital）と一緒に分析する。

3-1-4. 「日本脳炎ワクチンの試験製造と量産についての研究並びに遺伝子Ⅴ型日本脳炎ワクチンの開発研究」

有限会社 生物資源研究所

1. 目的

日本脳炎ウイルスのワクチン用タンパクである E タンパクをコードする遺伝子の先に PreM 遺伝子を結合させ、これにカイコの遺伝子コドンを挿入したキメラ DNA を設計・合成し、日本脳炎ワクチン用の E タンパクをカイコで量産し、日本脳炎ワクチンを開発する。

2. 3年間の全体計画

昨年度の研究により、日本脳炎ワクチン用タンパクである E タンパクをコードする遺伝子の先に PreM 遺伝子を結合させ、これにカイコの遺伝子コドンを挿入したキメラ DNA を設計・合成したところ、予想通り、現行ワクチンと同じ遺伝子Ⅲ型日本脳炎ウイルスのワクチン用 E タンパクをカイコで生産させることに成功し、この形態学的特徴と免疫応答について分析を行った。

しかし、ワクチン用 E タンパクの生産量は決して期待できるものではなかったため、平成 28 年度以降は、ワクチン生産用の DNA を徹底的に調査・分析した上で、日本脳炎ワクチンの量産体制を確立することに目標を置き、それを経て、ワクチン試作品を製造する。

さらに、日本脳炎ワクチンの領域で、近年アジア地域での再流行が危惧されている遺伝子Ⅴ型の日本脳炎ワクチン開発についても検討する。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

1) 昨年度後半に新しく導入したトランスファーベクターによって、真に日本脳炎ウイルスタンパクの増産が達成できたか否かを調査した。また、免疫応答が、現在使用されている日本脳炎ワクチンに匹敵するものであるか否か、さらに実用ワクチンとして、性状、安全性、有効性の面からも調査した。その結果、新しいトランスファーベクターの導入により、日本脳炎ウイルスタンパクの増産が達成でき、現行日本脳炎ワクチンを上回る免疫応答が確認できた。さらに、性状、有効性の面からも、高い評価が得られた。

2) 次に、再びアジア地域での流行が危惧される遺伝子Ⅴ型の日本脳炎ウイルスについて、E タンパク生産用のキメラ DNA を設計・合成し、このタンパクのカイコに於ける生産量を調査し、将来における 2 種混合日本脳炎ワクチンの可能性についても調査した。

(1) ワクチン用遺伝子の設計・合成

(2) ワクチン用 VLP の精製

GV 型ウイルスタンパク質発現用バキュロウイルスを作出し、カイコ蛹で人工遺伝子を発現させて作製した試料から、精製工程に於いて GV 型日本脳炎ウイルスの抗原タンパク質の VLP 分画を得た。

(3) ワクチン VLP の免疫原性

VLP をウサギに免疫して作製した免疫血清は、天然の GV 型日本脳炎ウイルス (Muar 株) に対して非常に高い増殖抑制効果が確認された。

4. 考察 (今後の課題と展望等)

上述の成果より、新興・再興ウイルス感染症に対する本ワクチン製造プロセスの有効性が証明された。今後は、現在 進行中の 2 種混合日本脳炎ワクチン開発の可能性についても調査する。

3-1-5. 「デングウイルスワクチンの開発研究」

有限会社 生物資源研究所

1. 目 的

デングウイルスワクチン用遺伝子が発現したか否かを、先ず 哺乳動物細胞で、蛍光抗体法とウエスタンブロット法で確認した上で、産生された同タンパク質の物理化学的性状と免疫応答を、他のフラビウイルスを加えて比較検討する。

2. 3年間の全体計画

デングウイルスワクチン用遺伝子の DNA 設計・合成を経て、カイコでの E 遺伝子タンパク生産の確認の後、同タンパクの物理化学的性状を明らかにする。同時に、哺乳動物細胞でのデングウイルスワクチン用タンパク生産も試みる。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

- 1) 新規法によるデングウイルスワクチン用人工遺伝子のバキュロウイルスへの導入
- 2) 日本脳炎ウイルスワクチンの系を利用したフラビウイルスワクチン作製系の開発
- 3) ジカウイルスワクチン用抗原タンパク質の発現

緊急な対応が要請されている、デングウイルスに類縁のジカウイルスワクチン用タンパク質生産に関する一連の実験を実施し、カイコ蛹でのジカウイルス E タンパク質発現・生産を確認した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

以上の成果により、新興・再興フラビウイルス感染症への対策の確立と本ワクチン作製システムの有効性が確認された。今後は、発現が確認されたジカウイルス VLP についての詳細な解析と、開発したフラビウイルスワクチン作製系の検証実験を進める必要がある。

【3-2】沖縄産カイコを新たなワクチン供給源とするための 技術開発

3-2-1. 「ワクチン製造を目的とする沖縄産カイコの生産技術開発」

株式会社 沖縄 UKAMI 養蚕

1. 目的

カイコ蛹でワクチン生産を行う上で、ワクチン用タンパク質の生産量が優れたカイコ蛹を供給するための飼育技術を確立する。従来の繭および繭製品の生産のために自社で開発してきた飼育方法によるエリ蚕が、本事業において家蚕と同様に、あるいは家蚕を上回る効率でワクチン用タンパク質を生産するための蛹の供給源となることを検証する。加えて、エリ蚕の飼育条件における未検討要素の追究を行い、物質生産能力をさらに高めた蛹の供給を可能にして、ワクチン用タンパク質の生産性向上に貢献する。

2. 3年間の全体計画

カイコ蛹におけるワクチン用タンパク質の生産性を、従来用いられてきた家蚕と沖縄産のエリ蚕の間で比較するため、バキュロベクターによる人工遺伝子導入の実験に適合した体長、体重、健康状態の蚕蛹を、両種のカイコについて飼育し提供する。物質生産能力をさらに高めた蛹の供給を可能にするために、改良された飼育条件を確立する。そのために人工飼料飼育、飼育環境管理、飼育密度の検討を行う。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

従来の繭および繭製品生産のために開発してきた飼育方法によるエリ蚕が、本事業において家蚕と同様にワクチン用タンパク質を生産するための蛹の供給源となることの検証に取り組んだ。バキュロベクターによる人工遺伝子導入実験での比較検討に使用可能な家蚕とエリ蚕を飼育し、それぞれの蛹を有限会社生物資源研究所に供給した。

加えて、生産能力をさらに高めた供給を可能にするために最適な人工飼料組成と飼育条件を検討した。人工飼料に、50%のヒマ生葉ペーストを混入させることにより、ヒマ葉育蚕と同等の生体成長量が得られることに成功した。ヒマ葉育蚕の飼育温度より 1~2℃高めの設定によって、飼料消化率および成長率が高くなった。湿度についても検討し最適な飼育条件を決定した。照明時間を検討し、常時点灯よりも作業時以外は点灯しないほうが、成長率が安定することを見出した。また、エリ蚕幼虫の安定供給に必要な条件である 4 齢~5 齢幼虫の飼育密度 0.1 m²あたり 200 頭程度を達成した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

生物資源研究所に人工遺伝子によるワクチン生産に用いるためにエリ蚕の蛹の飼育と供給を行った。今年度の実験では、H5 型インフルエンザに加えて H9 型インフルエンザの抗原タンパク質をエリ蚕蛹で発現することが達成された。

このことによって、今後様々な種類のウイルス用ワクチン抗原の生産にエリ蚕の蛹が貢献する可能性を拓くことができた。

3-2-2. 「沖縄産カイコを用いたワクチンの試験生産」

有限会社 生物資源研究所

1. 目 的

昨年度の研究で、沖縄産カイコを用いた、組換えバキュロウイルスでのワクチン生産の可能性が明らかにされたので、本年度は、カイコ幼虫と蛹について、インフルエンザ H5、H7、H9 型ウイルスワクチン、さらに日本脳炎ワクチンの生産量の比較研究を実施し、将来の沖縄産カイコのワクチン生産についての可能性を明らかにしていく。

2. 3年間の全体計画

沖縄産カイコ（エリ蚕）は、従来用いてきた家蚕に比べて生育期間が短く、幼虫・蛹の体が大きく、また、絹の生産量が数倍多いことが明らかになっている。エリ蚕の蛹をワクチン生産に利用できる場合には、ワクチン生産プロセスの開発を一気に加速できる可能性が見込まれる。エリ蚕の蛹を使って、これまで使用してきた家蚕を上回る効率で、(1) ワクチン用人工遺伝子をバキュロベクターで導入できるか否か、また、(2) ワクチン用タンパク質を発現できるか否かを、家蚕との比較実験に於いて検証し、従来法を上回る「生産性の高いワクチン量産システムの構築」を目指す。また、家蚕の場合とは異なる優れた特性のワクチン・タンパク質創出の可能性を検討する。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

エリ蚕を用いての H5 型及び H7 型インフルエンザワクチン用タンパク質の発現を、「3-1-1. H5 型及び H7 型インフルエンザの 2 種混合ワクチン試作品の製造」に含めて実施した研究成果より、沖縄産エリ蚕は H5 型インフルエンザワクチンに続き、H5 型及び H7 型 2 種混合ワクチンのワクチン用タンパク質発現に成功したことが Western blot 法解析でのバンド産生により確認され、ワクチン用タンパク質生産に活用できる可能性が示された。

4. 考察（今後の課題と展望等）

今後は、実験の範囲を広げ、「3-1-4 日本脳炎ワクチンの試験製造と量産についての研究並びに遺伝子 5 型日本脳炎ワクチンの開発研究」並びに「3-1-5 デングウイルスワクチンの開発研究」に含めて、日本脳炎ウイルス、ジカウイルスについてのワクチン用タンパク質発現・量産の検証実験を実施する。

【3-3】ワクチンの有効性と安全性の解析

3-3-1. 「日本脳炎ワクチンの有効性と安全性の検証」

国立大学法人 琉球大学 大学院医学研究科

1. 目的

本事業で開発される試作日本脳炎ワクチンを実験用小動物に接種し、その免疫応答と日本脳炎ウイルス接種に対する耐過性を検討することにより、ワクチンとしての有効性の解析を行う。

2. 3年間の全体計画

まず試作ワクチンを投与された動物の血清中に、日本脳炎ウイルスに対する特異抗体が誘導されるか否かを検討する。抗体の検出は主に ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)法もしくは中和試験にて行う。

有効性の解析のために、試作ワクチンを接種した実験動物へのチャレンジ・テストも行う。日本脳炎ウイルスがマウスへ致死感染を起こす実験条件が明らかにされており、マウスの生死を指標として日本脳炎ウイルスの感染あるいは発症防御免疫誘導の検討が可能である。コントロール実験として、現行の不活化日本脳炎ワクチンでのチャレンジ・テストも併せて行い、試作ワクチンと現行ワクチンの有効性の優劣を比較する。

マウスに対する液性免疫応答（特に中和抗体産生）の誘導、および日本脳炎ウイルスの致死感染に耐過するのに必要な試作ワクチンと現行ワクチンの接種量を比較検討し、試作ワクチンの可能性を明らかにする。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

幾つかの系統のマウスへの日本脳炎ウイルス接種実験を複数のウイルス株で行い、試作ワクチン評価の際の致死感染モデルに適したマウス系統とウイルス株の組み合わせを検討したところ、Balb/c マウスと日本脳炎ウイルス JaGAr01 株の組み合わせで致死感染が認められた。また、マウスモデルにおける試作ワクチン評価の際に用いる陽性コントロールとしての市販ワクチンについて適切な接種量及び接種回数を検討した。5 ないし 7.5 倍希釈した市販ワクチンを 2 ないし 3 回接種すればマウス体内に抗体が産生されることが確認された。カイコ蛹の系で生産された試作日本脳炎ワクチンを実際にマウスに接種し、抗体が産生されることを間接 ELISA で確認した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

マウスを用いたワクチン評価の手法が確立された。また、カイコ蛹の系で作成された試作日本脳炎ワクチンを接種したマウスの血清中に固相抗原に不活化精製日本脳炎ウイルスを用いる間接 ELSA で抗体が検出された。

最終年度は試作ワクチンを接種したマウスへの日本脳炎ウイルスの致死感染で感染防御あるいは発症防御について検討を行う。

マウスへの接種実験によって試作ワクチンは市販ワクチンと比較して抗体産生能において遜色が認められなかった。今後は試作ワクチンの接種量や接種回数等についても検討する予定である。

3-3-2. 「デングワクチンの有効性と安全性の検証」

国立大学法人 浜松医科大学

1. 目 的

研究課題3においては、研究課題1及び2によって得られる各種ワクチン試作品のそれぞれについて、免疫応答の機能解析と構造・物性を解析することにより、ワクチンとしての有効性と安全性の評価を行い、新型インフルエンザウイルスとフラビウイルスのワクチン製造技術を実証する。H7 型および H9 型のインフルエンザワクチンの検証は、St. Jude Children's Research Hospital の研究協力によって実施し、西ナイルワクチンについては国立感染症研究所ウイルス第一部の研究協力によって実施する。本研究共同体の分担研究においては、日本脳炎ワクチンによる免疫応答の機能解析を琉球大学医学部が行い、デングワクチンの有効性と安全性の検証を浜松医科大学医学部が行う。

2. 3年間の全体計画

本事業で開発、試作されるデングワクチン候補を実験用小動物（マウス、コモンマーモセット）に接種し、ワクチンとしての有効性、安全性を評価する。有効性評価としてまず抗体誘導能を調べる。接種後経時的に血中の抗デングウイルス IgM 及び IgG 抗体を測定する。また、ワクチン抗原による感染防御効果を調べる。安全性評価として、ワクチン抗原の単回投与後に急性毒性試験を行う。

組換えバキュロウイルス等によって生産されるデングウイルス抗原による抗体誘導能、感染防御能、安全性を評価することによって、デングウイルス各血清型に有効性を示し安全性の高いワクチン候補を取得することを目指す。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

前年度、バキュロウイルス/昆虫細胞系に比べ哺乳動物細胞でのデングウイルスタンパク質の一過性発現系でより高い抗原発現が観察されたため、本年度、デングウイルス prM-E 遺伝子を組み込んだ発現プラスミドをヒト培養細胞へ導入し、デングウイルス様粒子を持続的かつ安定に産生する細胞株を樹立した。デングウイルス前駆体タンパク質の切断また培養上清へのウイルス様粒子の放出をウェスタンブロット法で確認した。同細胞株の培養上清を回収し、限外濾過とショ糖密度勾配遠心法によりデングワクチン抗原となるウイルス様粒子を精製した。得られた粒子の立体構造をネガティブ染色と透過型電子顕微鏡観察により明らかにした。

4. 考察（今後の課題と展望等）

カイコ蛹でのデングワクチン抗原の産生・有効性等の評価に先立ち、ウイルス様粒子標品を用いたワクチン評価系の構築が急務である。そのため、哺乳動物細胞株を使ったデングウイルス様粒子の持続産生系を樹立し、培養上清からの粒子調製に成功した。デングワクチン評価系の作出に目処が立てることができた。また、ウイルス様粒子の産生・精製効率をさらに高めることにより本発現技術もワクチン産生系として有用となる可能性も考えられる。

3-3-3. 「ウイルスワクチンの構造・物性の解析と評価」

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

1. 目 的

本事業の開発においてワクチン用の抗原タンパク質をカイコ蛹で作製した際に、タンパク質分子がとる構造体の形状やサイズを解析することにより、ワクチンとしての免疫誘導の機序を考え、ワクチンの再設計をするための指針を得る。微細構造を評価するために電子顕微鏡による観察を実施し、ワクチン構造のサイズを評価するために粒子計測を実施する。

2. 3年間の全体計画

ネガティブ染色法、急速凍結レプリカ法、クライオ電子顕微鏡法などの生物試料用の電子顕微鏡観察技術を用いて、ワクチン試作品の分子集合体構造、膜構造を明らかにするとともに、光散乱法などの粒子計測によって、ワクチン試作品中の物質のサイズ分布を明らかにし、生産プロセスの設計への指針を提供する。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

カイコ蛹で作製したワクチン用の抗原タンパク質の微細構造を電子顕微鏡観察によって評価方法として、昨年度に 2%リンタングテン酸によるネガティブ染色法のプロトコールを最適化した。その観察条件を用いて、生物資源研究所で今年度作製されたワクチン試作品の電子顕微鏡観察を実施した。まず、H7 型インフルエンザウイルス用試作ワクチン（H7 型ヘマグルチニン）の観察では、直径 100nm 程度の膜小胞にスパイク構造が突き出したウイルス様粒子（virus-like particles, VLP）の構造を再確認するとともに、直径が数 nm の微粒子が多数混在することを示した。精製プロセスのショ糖密度勾配遠心処理における分画を電子顕微鏡によって観察し、密度の軽い分画に現れる微粒子を除去することによって、VLP 構造の精製度の向上が可能であることを明らかにした。

次に、インフルエンザウイルスの H5 型ヘマグルチニンと H7 型ヘマグルチニンの混合ワクチンについて、3 タイプの試作品をネガティブ染色法電子顕微鏡観察による評価を行い、VLP 構造が形成されていることを確認した。1 番目は、H5 型ヘマグルチニンの人工遺伝子と H7 型ヘマグルチニンの人工遺伝子をそれぞれ独立に別のカイコ蛹で発現させて、得られた 2 種類抗原タンパク質を混合したワクチン試作品である。2 番目は、H5 型ヘマグルチニンの人工遺伝子と H7 型ヘマグルチニンの人工遺伝子を同時に同じカイコ蛹に導入し、混合状態で発現させて作製したワクチン試作品である。3 番目は、H5 型ヘマグルチニンと H7 型ヘマグルチニンの 2 つの配列を 1 本の DNA 上に持つ人工遺伝子（H5 型と H7 型のハイブリッド遺伝子）を用いて、カイコ蛹の中で作製したワクチン試作品である。これら 3 タイプの混合ワクチン試作品の観察結果は形態的には互いに識別不可能であり、いずれも VLP 構造が同等の形状で形成されていることが明らかになった。

さらに、日本脳炎ウイルス GV 型（Muar 株）およびジカウイルスの各試作ワクチンについてもネガティブ染色法電子顕微鏡観察による検討を行い、いずれにおいても VLP の構造を明らかにした。

加えて、今年度はカイコ蛹の切片試料の作製と切片像撮影の方法を整備した。沖縄 UKAMI 養蚕が飼育したエリ蚕を用いて、良好な切片像を取得することに成功した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

今年度も試作されたワクチンの電子顕微鏡観察を着実に遂行し、それぞれの VLP 構造を評価した。得られた画像から、抗原タンパク質の精製に工夫を加え一定の効果を果たすことにも成功している。今後も、微細構造の評価から精製プロセスへのフィードバックを実施することによって、本プロジェクトの目的達成に貢献することを目指す。今年度、新たに整備したカイコ蛹の切片像観察技術の活用によっても、蛹の体内から目的部位を摘出して抗原タンパク質を抽出・精製する方法を改良することが可能となると考える。

3-3-4. 「ウイルス様粒子（VLP）生産と感染防御の病理学的解析」

国立大学法人宮崎大学

1. 目的

本研究では、ワクチン生産のためのインフルエンザ及び日本脳炎ウイルスのキメラ DNA を抱いた組換えバキュロウイルスは、先ずカイコ細胞でのタンパク合成が成功する必要がある。カイコ細胞内でのワクチン用抗原の分布と挙動、抗原の流れを調べる必要があり、これを病理組織学的に解明していく。

2. 3年間の全体計画

カイコ蛹における VLP 産生細胞の同定とともに、インフルエンザ及び日本脳炎ウイルスの VLP 抗原分布、組換えバキュロウイルスの分布、組織学的変化を調べる。免疫組織化学的染色のための組織固定条件、抗体量、反応条件等の条件設定を行った後、組織標本になったカイコ蛹の日本脳炎ウイルス、インフルエンザウイルスの VLP 産生細胞の同定をおこなう。さらに、産生された VLP の日本脳炎ウイルス抗原分布を免疫電顕により詳細検討する。

3. 平成 28 年度（今年度）研究成果

カイコ蛹の体内における VLP 産生細胞を病理組織学的に特定するために、組織標本の作製を試みた。蛹の被殻のパラフィン浸透が悪いという問題があったので、固定についてかなり工夫を要した。固定法と標本作製の工夫により解決し、組織標本作製について成功した。また、接種したカイコは徐々に弱っていき、特に接種後 3 日目ぐらいには固定しても破壊されやすい。そのために、最初に 45-55℃で一度固定した後、ガーゼ等で保定しそれを小さな容器に詰めると輸送に耐えることがわかった。輸送以前に組織崩壊により内容物が析出してくるので、輸送には感染日時が経過することにより耐えられなくなる。そのため、接種部位前後が破壊されて欠落し、標本作製は出来なくなる。その問題点を解決し、今度は加温して緩やかな振盪をすることにより組織標本作製に成功した。蛹の被殻のパラフィン浸透が悪いという問題を解決した。

免疫組織化学的染色の条件設定の最適化調整を行った。日本脳炎ウイルスのワクチン抗原を発現させたカイコ蛹を用い、免疫組織化学的染色の条件設定を行った。すなわち、日本脳炎ウイルスの VLP 産生カイコ蛹体内で、産生細胞を同定するために組織標本作製して、ウサギで日本脳炎ウイルス VLP 抗体を作成した後その抗体を組織に反応させた。ウサギ VLP 抗体はカイコ成分に対する抗体も反応して非特異性が強く産生細胞が同定出来ないことがわかり、日本脳炎ウイルスに対する抗体で染色した。その結果、感染 2 日目、4 日目のカイコの脂肪顆粒細胞と上皮細胞特に、脂肪顆粒細胞で陽性となり、脂肪顆粒細胞が主な産生細胞であることが判明した。このように、VLP 産生細胞を特定して病理組織学的解析が可能となった。

さらに、VLP の構造上でのワクチン抗原の局在を解析するため、免疫電子顕微鏡法による分析技術を整備した。ネガティブ染色の方法の条件設定についてはこれまでの過去の実績をもとに、イムノゴールド標識抗体の選定、抗体の希釈、反応液と時間等について、検討して日本脳炎ウイルスの VLP と VLP の粒子の抗原免疫電顕法の条件設定がうまくいった。

4. 考察（今後の課題と展望等）

今年度から本プロジェクトに関して参加したが、今年度病理学的視点で、取り組み解析の基盤を検討した。感染カイコ蛹の良好な固定法が成功し、インフルエンザウイルスと日本脳炎ウイルスのワクチン抗原を発現させたカイコ蛹の免疫組織化学的染色の条件設定の最適化条件設定が整った。今後VLP産生細胞を特定して病理組織学的解析が可能となった。また、ウイルス粒子とVLPのネガティブ染色と免疫電顕の条件設定もうまくいった。

今後、得られた条件をもとに経時的にカイコ蛹の感染状況について経時的に抗原分布を示していく。また、免疫電顕により、イムノゴールド抗体を使用して、VLP抗原の形態上の分布を示していく。

(2) 研究推進委員会

本事業の円滑な推進を図るため、研究推進委員会設置要綱に従って、県内外より 5 名の研究推進委員を委嘱するとともに、研究推進委員会を 2 回開催した。研究推進委員および共同研究者の間で活発な意見交換が行われた。

研究推進委員及び研究推進委員会の議事概要は、以下の通りである。

(2) - 1 研究推進委員

稲福 恭雄 社会福祉法人 沖縄肢体不自由児協会 副会長
金子 洋 日本ビーシージー製造株式会社 顧問
木村 政之 日本製薬団体連合会 理事長（委員長）
高崎 智彦 神奈川県衛生研究所 所長
山本 雅 学校法人 沖縄科学技術大学院大学学園 細胞シグナルユニット 教授

(2) - 2 第 1 回研究推進委員会

1) 日 時 平成 28 年 7 月 4 日（月）14：00－17：00

2) 場 所 ネストホテルホテル那覇 3 階「ペガサス」

3) 議 事

- ・開会
- ・挨拶 沖縄県企画部 科学技術振興課 課 長 長濱 為一
- ・研究推進委員長選出 事務局
- ・研究推進委員長挨拶 委員長 木村 政之
- ・平成 28 年度計画について 各研究実施機関
- ・総合討論 委員長 木村 政之
- ・閉会

4) 議事概要

(1) 平成28年度研究計画について

プレゼンテーション資料に基づき、各研究機関の担当者より、各研究開発課題について、目的、全体計画、これまでの進捗状況および平成 28 年度研究計画について説明が行われ、その後、質疑応答が行われた。

(2) 総合討論

総合討論では、各研究開発課題および研究開発の全体に関わる課題について、今後の展開を含めて質疑応答が行われた。

5) 出席者

[研究推進委員]

稲福 恭雄 社会福祉法人 沖縄肢体不自由児協会 副会長
金子 洋 日本ビーシージー製造株式会社 顧問

木村 政之 日本製薬団体連合会 理事長（委員長）

山本 雅 学校法人 沖縄科学技術大学院大学学園 細胞シグナルユニット 教授

[プロジェクトリーダー]

根路銘 国昭 有限会社 生物資源研究所 所長

[共同研究者]

根路銘 国昭 有限会社 生物資源研究所 所長

黒田 和道 学校法人日本大学 日本大学医学部 病態病理学系微生物学分野 准教授

只野 昌之 国立大学法人 琉球大学 大学院医学研究科 ウイルス学講座 准教授

川崎 一則 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 生命工学領域 バイオメディカル研究部門 細胞マイクロシステム研究グループ 主任研究員

仲宗根 豊一 株式会社 沖縄UKAMI養蚕 代表取締役

山口 良二 国立大学法人宮崎大学 農学部 獣医病理学研究室 教授

(2) - 3 第2回研究推進委員会

1) 日 時 平成29年2月10日（金）10:00-12:00

2) 場 所 パシフィックホテル沖縄 2階「カネオヘ」

3) 議 事

・開会

・挨拶 公益財団法人 沖縄科学技術振興センター 専務理事兼所長 具志堅 清明

・研究推進委員挨拶 委員長 木村 政之

・各研究開発課題における平成28年度事業進捗状況 各研究実施機関

・総合討論 委員長 木村 政之

・閉会

4) 議事概要

(1) 各研究開発課題の進捗状況

プレゼンテーション資料に基づき、各研究機関の担当者より、各研究開発課題について、本年度の研究成果発表および事業全体の最終報告が行われ、その後、質疑応答が行われた。

(2) 総合討論

総合討論では、各研究開発課題および研究開発の全体に関わる課題について、今後の展開を含めて質疑応答が行われた。

5) 出席者

[研究推進委員]

稲福 恭雄 社会福祉法人 沖縄肢体不自由児協会 副会長

金子 洋 日本ビーシー製造株式会社 顧問

木村 政之 日本製薬団体連合会 理事長（委員長）

山本 雅 学校法人 沖縄科学技術大学院大学学園 細胞シグナルユニット 教授

[プロジェクトリーダー]

根路銘 国昭 有限会社 生物資源研究所 所長

[共同研究者]

根路銘 国昭 有限会社 生物資源研究所 所長

黒田 和道 学校法人日本大学 日本大学医学部 病態病理学系微生物学分野 准教授

只野 昌之 国立大学法人 琉球大学 大学院医学研究科 ウイルス学講座 准教授

鈴木 哲朗 国立大学法人 浜松医科大学 医学部医学科 ウイルス・寄生虫学講座 教授

川崎 一則 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 生命工学領域 バイオメディカル研究部門 細胞マイクロシステム研究グループ 主任研究員

仲宗根 豊一 株式会社 沖縄UKAMI養蚕 代表取締役

山口 良二 国立大学法人宮崎大学 農学部 獣医病理学研究室 教授

(3) ネットワークの構築

(3) - 1 研究ネットワークの構築

本事業では、沖縄を拠点とする有限会社生物資源研究所を中心に、県内外の官民の研究所および大学、民間企業により初年度は6つの機関で共同研究を実施した。平成28年度は、県の評価委員会の指摘を踏まえ、安全性、有効性の評価に向けた病理学的解析を担う研究機関を追加し、合計7つの機関により、それぞれの得意分野を分担した独創的な研究を進めている。研究の進捗等については、年に2回開催される研究推進委員会の他、日常的に電話・E-mailを通して情報を共有し、また、共同研究機関で独自に連携を図るなど、研究の進捗や方向性を確認しながら、目標達成に向けて密接な連携を図っている。

本事業に関連して、情報発信および研究者のネットワークの形成を目的として、昨年度に引き続き、平成29年2月10日（金）に「感染症ワクチン開発研究セミナー ～豊かな可能性を秘めるカイク由来ワクチン～」を開催した。

特にトリインフルエンザウイルスの世界的規模でのサーベイランスとパンデミック対策に関する調査状況と情報の教示を得るため、インフルエンザワクチンの研究において世界的に主導的な立場の講師（St. Jude Children's Research Hospital Dr. Robert G. Webster（ロバート ウェブスター博士））を招聘し、県内の研究・教育機関、自治体、企業等に周知して那覇市内のホテルで開催した。

当日は当該事業の研究実施者はもとより、県内外の大学教職員・研究者、学生、自治体、保健所、企業、新聞記者等、合計55名が参加し、研究者間の良い交流の場を提供することができた。

(3) - 2 県民への情報発信

本事業について一般県民に向けた情報発信および研究成果発表、本研究領域の研究者や医療関係者のネットワークの構築を図ることによって、今後の沖縄での本研究をより充実発展させることを目的に、昨年度に引き続き平成28年12月16日（金）にシンポジウムを開催した。広く県民に周知できるよう沖縄本島の中心地である那覇市内で開催した。

県内の2大紙である「琉球新報」「沖縄タイムス」にて広報を行ったところ、事務局には多くの問い合わせが寄せられた。

特別講演として、山口大学大学院医学系研究科救急・総合診療医学講座教授の鶴田良介氏を招聘し、「救急医療と（ウイルス）感染症」と題した発表をしていただき、さらに、本事業のプロジェクトリーダーである有限会社 生物資源研究所 根路銘 国昭 所長が基調講演を行った。また、本研究に携わる共同研究者からも研究の進捗について情報発信を行うとともに、本事業の紹介チラシの修正版を作成し、来場者に配布した。

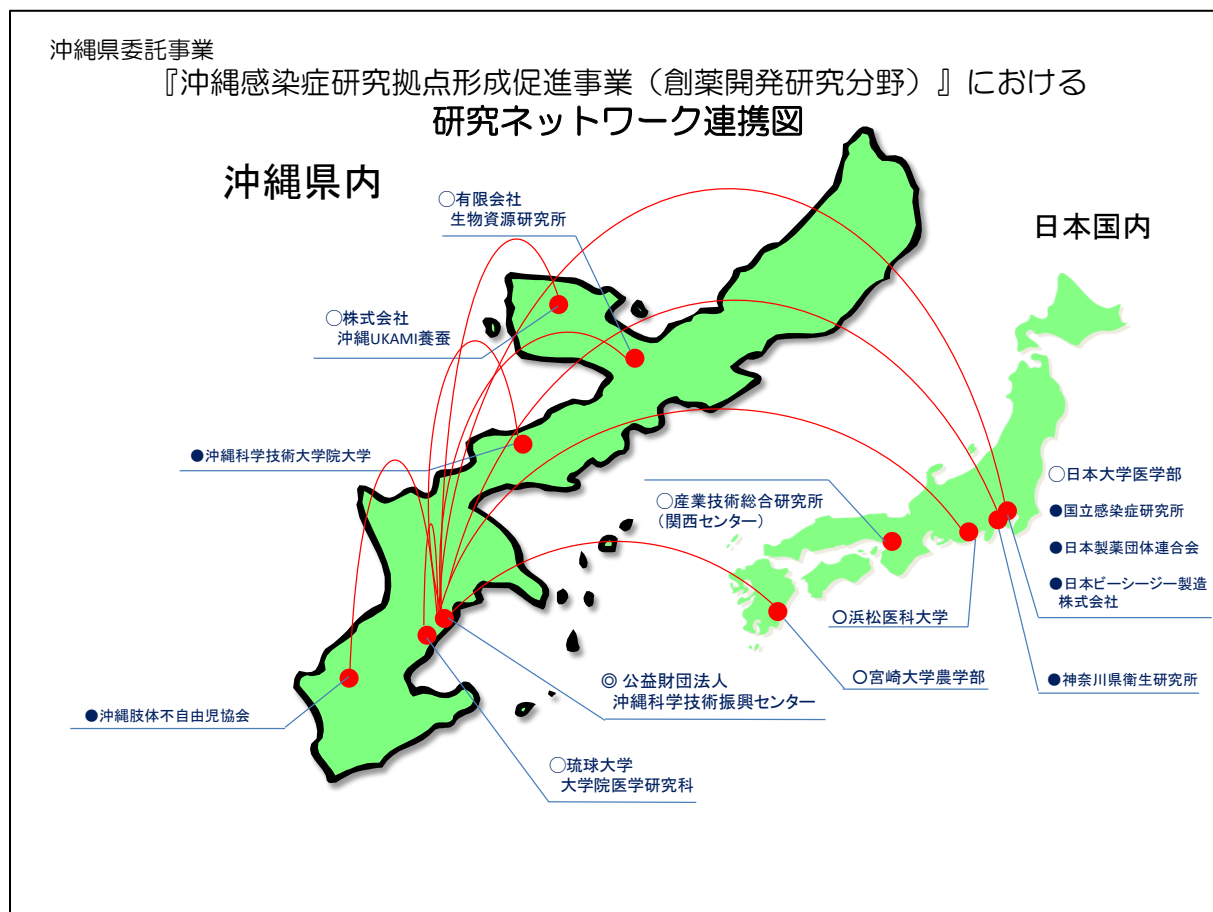
質疑応答時には、フロアから活発な質疑が交わされ、盛況のうちに終了した。

シンポジウム参加者の状況は、研究・教育機関と一般の参加が多くを占め、合計63名が参加した。平日の日中の開催にもかかわらず、参加者の内訳は研究・教育機関が31名（49.2%）と

最も多く、次いで一般の参加者の14名(22.2%)であった。

また、県内新聞社からも記者が訪れ、閉会後にプロジェクトリーダーの根路銘国昭氏を取材し、後日、記事が掲載された。

シンポジウムの開催によって一般県民に本事業の目的や進捗等について発信することができ、ネットワーク構築に向けて良い機会を提供することができた。



参 考 資 料

1. 本事業に関連する外部発表一覧
2. 「シンポジウム ～ 21 世紀のシルクロードは沖縄から ～」講演要旨

1. 本事業に関連する外部発表一覧

「ウイルスワクチンを安心安全に製造するための先端遺伝子工学技術の開発」を目指す本事業では、感染症対策のための共同研究を推進しているが、平成 28 年度では、研究成果として 1 件の特許出願を行っている。また、当該事業に関連した外部発表として、誌上発表 1 件、口頭発表 2 件、新聞報道 2 件を行っている。

以下に、特許出願及び外部発表一覧を記載する。

事業全体に関わる発表

【口頭発表（ポスター発表を含む）】

1	発表タイトル	沖縄県委託事業(平成27年度～) 沖縄感染症研究拠点形成促進事業(創薬開発研究分野) ウイルスワクチンを安心安全に生産するための先端遺伝子工学技術の開発
	概要	事業の目的、研究テーマと実施体制について
	発表者	(有) 生物資源研究所 所長 根路銘 国昭 公益財団法人 沖縄科学技術振興センター
	発表年月日	2017年 3月 3日～4日
	開催地	沖縄県那覇市
	学会・講演会名	第4回 日経アジア感染症会議
	備考	ポスター発表

機関名：有限会社 生物資源研究所

【特許出願等】

1	発明の名称	日本脳炎ウイルス用ワクチン及びジカウイルス用ワクチン、並びに、その製造方法
	概要	本発明は、(1) 2種混合の日本脳炎ウイルス用ワクチン、及び (2)ジカウイルス用ワクチン、並びに(3) その製造方法を提供する。
	出願者	有限会社 生物資源研究所
	出願番号	特願 2 0 1 6 - 2 4 3 4 8 2
	出願（取得）年月日	2016年12月15日
	備考	

【誌上発表（論文・専門雑誌等）】

1	論文タイトル	Quantitative analysis of the yield of avian H7 influenza virus haemagglutinin protein produced in silkworm pupae with the use of the codon-optimized DNA: A possible oral vaccine
	概要	組換えバキュロウイルス（韓国H7-BmNPV）を用い、カイコにおいて蛹あたり40万HA単位、幼虫では31万HA単位のHAタンパク質を産生出来た。カイコより得られたH7VLPのニワトリおよびマウスへの経口免疫によりHI抗体を誘導し得た。この結果は、将来の経口ワクチン開発に重要な洞察を提供した。
	発表者	Nerome K, Matsuda S, Maegawa K, Sugita S, Kuroda K, Kawasaki K, Nerome R
	掲載誌名	Vaccine
	発刊年・巻・号・頁	2017・35・5・738-746.
	論文種別	論文
	備考	

【マスメディアによる紹介（新聞、一般雑誌、テレビ、ラジオ等）】

1	タイトル	ジカ熱・日本脳炎全型複合 ワクチンを開発
	概要	生物資源研究所の根路銘国昭所長はカイコを使い世界で初めて、中南米や東南アジアで感染が発生しているジカ熱のワクチンと約 50 年振りに中国、韓国で流行が確認された遺伝子V型(GV)ウイルスにも対応した日本脳炎の複合型ワクチンを開発した。
	発表者	(有) 生物資源研究所 所長 根路銘 国昭
	掲載誌名	琉球新報
	発刊年・巻・号・頁・放送日	2016年12月25日（日）朝刊
	種別	※ 新聞
	備考	
2	タイトル	新ワクチンの試作成功
	概要	生物資源研究所（名護市、根路銘国昭所長）は、ワクチンが無かった遺伝子5型の日本脳炎ウイルスに対応するワクチンと、鳥インフルエンザウイルスH5、H7型に対応する2価ワクチンの試作にそれぞれ成功したと発表した。 カイコ由来のワクチンは従来の鶏卵由来ワクチンよりも早く安く作ることができる。
	発表者	(有) 生物資源研究所 所長 根路銘 国昭
	掲載誌名	沖縄タイムス
	発刊年・巻・号・頁・放送日	2017年2月11日（土）朝刊
	種別	※ 新聞
	備考	

機関名：学校法人 日本大学 日本大学医学部

【口頭発表（ポスター発表を含む）】

1	発表タイトル	組換え体バキュロウイルスでのインフルエンザウイルス HA遺伝子のコドン最適化は mRNAの発現量を増大させる
	概要	コドン最適化によるHA-mRNA量の上昇が認められた。この結果は、最適化によるタンパク質発現の上昇が、mRNA量の差に由来することを示唆する。組換え体に遺伝的な変異が起こっていないことを、プロモーターからエンハンサー領域を含むHAS遺伝子の塩基配列を決定し、確認した。
	発表者	黒田 和道、芝田 敏克、杉田 繁夫、前川 憲一、根路銘 国昭
	発表年月日	2016年 11月 30日
	開催地	横浜
	学会・講演会名	第39日本分子生物学会年会
	備考	

【誌上発表（論文・専門雑誌等）】

1	論文タイトル	Quantitative analysis of the yield of avian H7 influenza virus haemagglutinin protein produced in silkworm pupae with the use of the codon-optimized DNA: A possible oral vaccine
	概要	組換えバキュロウイルス（韓国H7-BmNPV）を用い、カイコにおいて蛹あたり40万HA単位、幼虫では31万HA単位のHAタンパク質を産生出来た。カイコより得られたH7VLPのニワトリおよびマウスへの経口免疫によりHI抗体を誘導し得た。この結果は、将来の経口ワクチン開発に重要な洞察を提供した。
	発表者	Nerome K, Matsuda S, Maegawa K, Sugita S, Kuroda K, Kawasaki K, Nerome R
	掲載誌名	Vaccine
	発刊年・巻・号・頁	2017・35・5・738-746.
	論文種別	論文
	備考	

機関名：国立研究開発法人 産業技術総合研究所

【誌上発表（論文・専門雑誌等）】

1	論文タイトル	Quantitative analysis of the yield of avian H7 influenza virus haemagglutinin protein produced in silkworm pupae with the use of the codon-optimized DNA: A possible oral vaccine
	概要	組換えバキュロウイルス（韓国H7-BmNPV）を用い、カイコにおいて蛹あたり40万HA単位、幼虫では31万HA単位のHAタンパク質を産生出来た。カイコより得られたH7VLPのニワトリおよびマウスへの経口免疫によりHI抗体を誘導し得た。この結果は、将来の経口ワクチン開発に重要な洞察を提供した。
	発表者	Nerome K, Matsuda S, Maegawa K, Sugita S, Kuroda K, Kawasaki K, Nerome R
	掲載誌名	Vaccine
	発刊年・巻・号・頁	2017・35・5・738-746.
	論文種別	論文
	備考	

参考：新聞記事

1. 琉球新報 平成 28 年
12 月 25 日

【名護】生物資源研究所（名護市）の根路銘国昭所長はカイクを使った世界で初めてとなる複数のワクチンを開発した。中南米や東南アジアで感染が発生しているシカ熱（シカウイルス感染症）のワクチンと、約50年振りに中国、韓国で流行が確認された遺伝子V型（GV）ウイルスにも対応した日本脳炎の複合型ワクチンだ。シカ熱は妊娠中の女性が感染すると、頭部が先天的に小さい小頭症の赤ちゃんが生まれたという報告例が多くあり、ワクチンの開発が急がれているが、できるうち、安価で良質なワクチンを大量に提供したいと話した。

ワクチンの開発は、16日、那覇市のホテルであったシンボジウム「21世紀のシルクロードは沖縄から」で発表された。

シカ熱は蚊を媒介して感染する感染症で60カ国以上の国や地域で感染が報告されている。根路銘氏はカイクが持つバキュロウイルスの合成遺伝子で発現させて生成した組み替えバキュロウイルスをカイクに種えることで、シカ熱の免疫を作るワクチンタンパク質が大量に生産された。

日本脳炎については1940年代にアジアを中心にまん延したGI、GIV型に対応するワクチン数種類が開発され使用されている。だが、数年前からそのワクチンで予防できないGV型の流行が確認されている。根路銘氏は2月、国立感染症研究所の専門家からの提案を受け、研究を開始。12月に世界で初めてGV型のワクチンの生成に成功した。さらにGV型と既存のGIII型のワクチンを組み合わせた、現在確認される全ての型に対応できる可能性があるという混合ワクチンを開発した。（宮城久穂）

根路銘国昭氏

■シカ熱 ■日本脳炎全型複合 ワクチンを開発

生物資源研 カイク活用は世界初

【名護】生物資源研究所（名護市）の根路銘国昭所長はカイクを使った世界で初めてとなる複数のワクチンを開発した。中南米や東南アジアで感染が発生しているシカ熱（シカウイルス感染症）のワクチンと、約50年振りに中国、韓国で流行が確認された遺伝子V型（GV）ウイルスにも対応した日本脳炎の複合型ワクチンだ。シカ熱は妊娠中の女性が感染すると、頭部が先天的に小さい小頭症の赤ちゃんが生まれたという報告例が多くあり、ワクチンの開発が急がれているが、できるうち、安価で良質なワクチンを大量に提供したいと話した。

2. 沖縄タイムス 平成 29 年 2 月 11 日

新ワクチンの試作成功

鳥インフル 日本脳炎

名護 生物資源研究所

カイクを利用したワクチン開発に取り組んでいる生物資源研究所（名護市、根路銘国昭所長）は10日、ワクチンが無かった遺伝子G5型の日本脳炎ウイルスに対応するワクチンと、鳥インフルエンザウイルスH5、H7型に対応する2価ワクチンの試作にそれぞれ成功したと発表した。両方とも試作段階で、今後動物や人間での臨床試験を目指す。

同日、那覇市内であった感染症ワクチン開発研究セミナー（主催・沖縄科学技術振興センタ）で、同研究所の研究員が報告した。同研究所によると、カイク由来のワクチンは従来の鶏卵由来ワクチンよりも早く安く作ることができる。

日本脳炎のG5型は2009年に約60年ぶりに中国と韓国で見つかったウイルスで、ワクチンは開発されていなかった。鳥インフルエンザのワクチンは今後、H9型にも対応できる3価ワクチンの開発研究を進める。

根路銘所長は「鶏に使えるワクチンを開発して殺処分を減らしたい。人間にも使えるように改良を進めたい」と話した。

2. 「シンポジウム ～ 21 世紀のシルクロードは沖縄から ～」講演要旨

日 時：平成 28 年 12 月 16 日（金）13：00～16：00

会 場：ロワジールホテル那覇 スパタワー3 階「ていだ」

主 催：公益財団法人 沖縄科学技術振興センター

後 援：沖縄県、国立大学法人 琉球大学

13:00-13:05 主催者挨拶 公益財団法人 沖縄科学技術振興センター
理事長 平良 初男

13:05-13:10 来賓挨拶 沖縄県企画部 科学技術振興課長 長濱 為一

13:10-13:50 特別講演「救急医療と（ウイルス）感染症」
鶴田 良介
〔山口大学大学院医学系研究科 救急・総合診療医学講座 教授〕

13:50-14:10 基調講演「ワクチン研究事業の総括」
根路銘 国昭〔有限会社 生物資源研究所 所長〕

14:10-14:30 休 憩

14:30-14:40 「ワクチンの遺伝子設計及びデングウイルスワクチンの研究」
黒田 和道〔学校法人 日本大学 日本大学医学部 准教授〕

14:40-14:50 「新型ハイブリッドインフルエンザウイルスワクチンの設計法に関する研究」
前川 憲一〔有限会社 生物資源研究所 研究員〕

14:50-15:00 「新型ハイブリッドインフルエンザウイルスワクチンの評価法に関する研究」
小滝 徹〔有限会社 生物資源研究所 研究員〕

15:00-15:10 「現行(G3 型)及び再興 (G5 型) 日本脳炎ウイルスワクチンの研究」
松田 沙耶香〔有限会社 生物資源研究所 研究員〕

15:10-15:20 「日本脳炎ワクチンの免疫応答」
只野 昌之〔国立大学法人 琉球大学 大学院医学研究科 准教授〕

15:20-15:30 「デングウイルスワクチンの発現」
鈴木 哲朗〔国立大学法人 浜松医科大学 医学部医学科 教授〕

15:30-15:40 「インフルエンザ及び日本脳炎 VLP ワクチンの粒子構造と組織病理学的研究」
山口 良二〔国立大学法人宮崎大学 農学部獣医学科 教授〕

15:40-15:50 「開発ワクチンの構造解析」
川崎 一則〔国立研究開発法人 産業技術総合研究所 主任研究員〕

15:50-15:55 「ワクチン開発に用いるカイコ素材の検討」
仲宗根 豊一〔株式会社 沖縄 UKAMI 養蚕 代表取締役〕

特別公演

「救急医療と（ウイルス）感染症」

鶴田 良介

【山口大学大学院医学系研究科 救急・総合診療医学講座 教授】

救急医療の守備範囲は拡大し、ドクターカーやドクターヘリで傷病者が病院に運ばれる前に医療クルーが患者に接触するようになり、まさに地域がひとつのホスピタルになりつつあります。災害時ともなればさらに全国からその場所に救急関係者が集まり、不足した医療資源を補うことになります。このように四半世紀で救急医療は大きく発展してきました。

さて、病院の感染制御の働きでわれわれは入職時にウイルス性発疹（水痘、風疹、麻疹、ムンプス）、B 型肝炎のウイルス抗体価をチェックされ、場合によりワクチン接種を受けます。また、毎年インフルエンザの予防接種を受けています。医療スタッフはこれらのウイルス感染の危機に常に曝されているからです。

山口大学病院の救急医療は最重症の三次救急医療が中心ですので集中治療室に入らなければならない重症なウイルス感染症を取り上げます。重症な全身感染症のことを敗血症（セプシス）と呼びますが、この多くは細菌感染症です。重症なウイルス感染症の多くは臓器特異性があり、心筋炎、肝炎、脳髄膜炎、呼吸器感染症のかたちで来ます。しかし、時に発熱、血球減少、肝機能障害など多彩な症状を表す場合もあります。

基調講演

「ワクチン研究事業の総括」

根路銘 国昭

【有限会社 生物資源研究所 所長】

平成 27 年 8 月に本事業に採択されて以来、ほぼ 1 年半、正味 1 年間のワクチン開発研究期間を経て、順調な研究成果を創出するに至った。

- DNA 設計班は、3種のインフルエンザウイルス、2種の日本脳炎ウイルス、並びにデングウイルスのワクチン用 DNA 設計と、実用ワクチン用 DNA の編集を実施することができた（日本大学医学部）。
- それを受けて、H5及び H7型の 2 種混合インフルエンザワクチンを開発することができ、更に H9型ウイルスワクチンの試作の検討を行っている。（生物資源研究所）
- 日本脳炎ワクチンも、現行のワクチンよりも遙かに安いコストで・効果の高いワクチンを開発することに成功し、更に アジアで流行が危惧される G5（遺伝子 5）型の日本脳炎ワクチンの開発にも辿り着いた。（生物資源研究所、琉球大学大学院）
- デングウイルスワクチンの開発研究にも大きな進展が見られた。（浜松医科大学医学部、日本大学医学部）
- これら3種のインフルエンザ、日本脳炎、デングウイルス ワクチンの形態学的解析にも成功した。（産業技術総合研究所、生物資源研究所）
- ワクチンの効果検証試験として、免疫応答試験と感染病理学的分析方法も確立した。（宮崎大学農学部、生物資源研究所）
- カイコの生産を主導し、ワクチン生産用カイコの蛹（サナギ）を大量に提供できる技術と条件を確立した。（沖縄 UKAMI 養蚕、生物資源研究所）

これらの研究成果が、世界が共有する『沖縄発のウイルス感染症対策』として、広く利用されることを期待する。

沖縄感染症研究拠点形成促進事業（創薬開発研究分野）

委託業務報告書

「ウイルスワクチンを安心安全に製造するための先端遺伝子工学技術の開発」

平成29年3月

公益財団法人 沖縄科学技術振興センター うるま本所

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎5-1

沖縄バイオ産業振興センター 215号室

TEL：098-921-2500

FAX：098-921-4700

URL：<http://www.ostc-okinawa.org/>

本報告書に記載されている記事を許可なく転載することを禁じます。

