

# 藤森科学技術振興財団 研究実施概要報告書


(西暦)2026年5月28日

公益財団法人藤森科学技術振興財団  
理事長 藤森 行彦 殿

藤森科学技術振興財団の助成金による研究が終了しましたので、下記のとおり報告をいたします。

所属機関 鳥取大学

職名 教授

氏名 松浦 和則 

## 【提出書類】

(1) 研究実施概要報告書(本紙)

添付書類(A4版3枚以内): 研究状況を示す写真等の資料

(2) 収支報告書

添付書類: 助成金を充当した経費の領収書

領収書を添付しない場合: 支払一覧表と支払部門担当者記名捺印

(1)テーマ

※スペースが足りない場合は、枠を追加いただいて構いません。

膜タンパク質搭載ケミカルウイルスレプリカを用いた新規ワクチンの開拓

(2)本研究の期間

(西暦) 2025年4月 ~ 2026年3月

(3)本研究の目的

天然の球状ウイルスの殻(キャプシド)は、20-100 nmの一義的なサイズを有するタンパク質ナノカプセルであり、細胞内への導入効率が高く、内部空間を有する粒径制御されたナノカプセルであることから、核酸・抗体などを含む医薬品を内包できる Drug Delivery System (DDS)キャリア (J. Suh et al, *WIREs Nanomed. Nanobiotech.*, 2019, 11, e1545)や、ワクチン開発のための基盤材料 (N. F. Steinmetz et al., *WIREs Nanomed. Nanobiotech.*, 2016, 8, 554)として有望である。ウイルス類似物を人工的に創ることができれば、ウイルス感染のメカニズムを解析するための分子ツールとしての活用だけでなく、細胞が本物のウイルスと誤認識することによる薬物送達(DDS)技術やワクチンの開発などにも応用可能な基盤技術を与えると期待できる。本研究では、「化学の力」で分子設計した自己集合性ペプチド・脂質・膜タンパク質等からなる「ケミカルウイルスレプリカ」を用いて革新的ワクチン材料プラットフォームとして活用する。このウイルスレプリカには、目的に応じて、任意の分子を表面修飾・内包・膜への搭載が可能である。インフルエンザウイルスの膜タンパク質ヘマグルチニンや抗原ペプチドなどをウイルスレプリカに搭載することで、細胞に本物のウイルスと誤認識させワクチン創製を行うことを目的とした。

(4)本研究の概要

研究代表者の松浦は、2010年頃から「化学ウイルス学」の先駆けとして、分子設計したペプチドの自己集合により「人工ウイルスキャプシド」を構築し、タンパク質・核酸などの内包・表面修飾に成功している。また、アニオン性表面を有する人工ウイルスキャプシドとカチオン性脂質二分子膜との複合化により、エンベロープ型ウイルスレプリカの創製ならびに無細胞発現系による膜タンパク質搭載に成功している(図1A)。さらに、共同研究者の真鍋と共に、乳ガン抗原CH401を表面提示したエンベロープ型ウイルスレプリカがマウス体内で抗体産生を著しく向上させることを見出している(図1B)。病原性ウイルスやガン抗原のサブユニットのみを用いるワクチンとは異なり、多価に抗原提示した100 nm程度のエンベロープ型ウイルス状に再構成することで、土台構造の高い生体適合性(低毒性)、抗原提示細胞への高い取り込み効率、高い抗体産生能力が期待される。さらに、ウイルスレプリカの内部にmRNAを内包することが可能であるので、抗原タンパク質を免疫細胞内で発現させるRNAワクチンとしての利用も可能であり、従来の脂質ナノ粒子(LNP)を用いたRNAワクチンよりも安定で高機能性を付与できる新規ワクチンとなりうる。

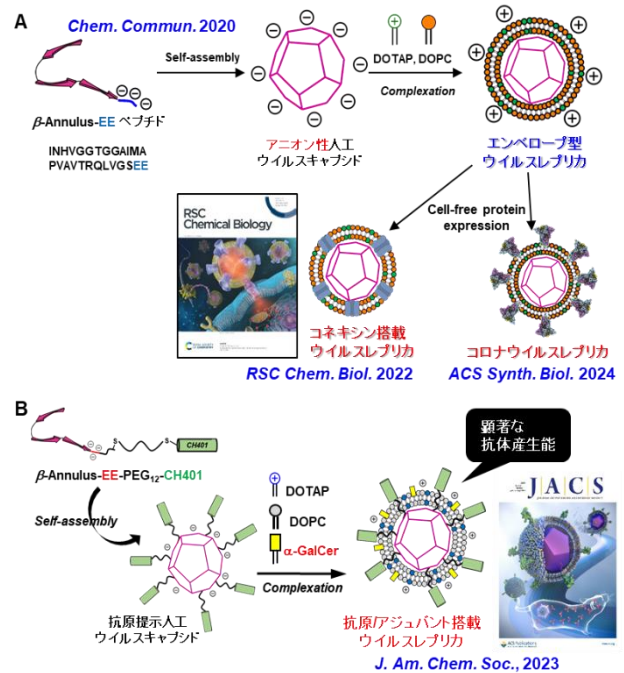


図 1. 膜タンパク質搭載エンベロープ型ウイルスレプリカ(A)および抗原提示ウイルスレプリカ(B)の創製

(5)本研究の内容及び成果

我々はこれまで、C末端側に Glu を付与した TBSV 由来 $\beta$ -Annulus ペプチドからなるアニオン性人工ウイルスキャプシドに、カチオン性脂質二分子膜を複合化することによりエンベロープ型ウイルスレプリカを構築し、膜融合などを介してヒト肝癌由来(HepG2)細胞に取込まれることを見出している。本研究では、従来よりも安定な mRNA ワクチンの創製を目指し、mRNA 内包エンベロープ型ウイルスレプリカの創製および mRNA の細胞内送達を行った (図 2)。

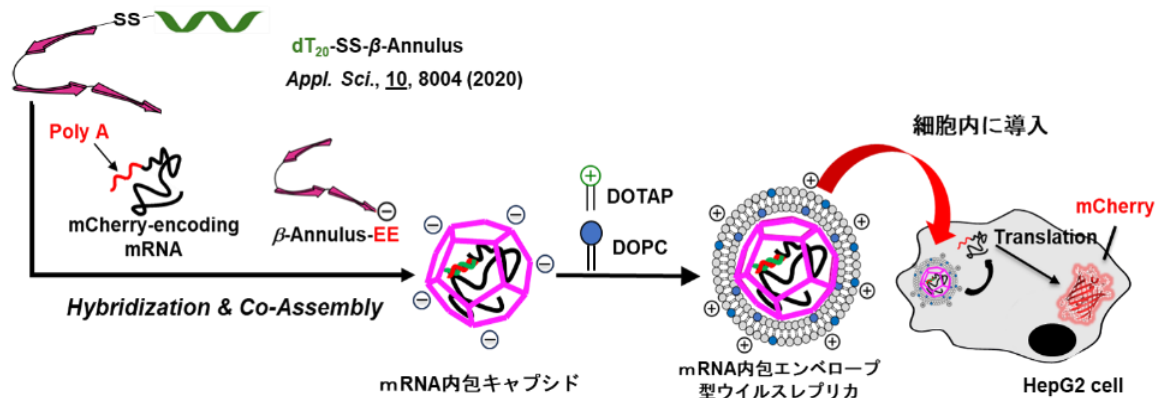


図 2 mRNA ワクチンを指向した mRNA 内包エンベロープ型ウイルスレプリカの構築と HepG2 細胞内導入

既報に従い、N末端にジスルフィド結合を介して dT<sub>20</sub> を連結した dT<sub>20</sub>-SS- $\beta$ -Annulus を合成した。赤色蛍光タンパク質 mCherry をコードした mRNA の poly A tail を dT<sub>20</sub>-SS- $\beta$ -Annulus とハイブリダイゼーションさせ、C末端に Glu を 2 つ有する  $\beta$ -Annulus-EE との共集合により粒径約 99 nm の mRNA 内包人工ウイルスキャプシドを構築した。この mRNA 内包キャプシドにカチオン性脂質 DOTAP および両性イオン脂質 DOPC からなる脂質二分子膜を複合化したところ、DLS により 164.7 nm 程度の球状集合体を確認された。HepG2 細胞に導入し共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) 観察したところ、mRNA 内包エンベロープ型ウイルスレプリカは、エンベロープ無しのキャプシドや LNP/mRNA 複合体と比較して高い細胞内 mCherry 蛍光強度を示した(図 3)。これは mRNA をエンベロープ型ウイルスレプリカに内包したことで、細胞内に効率よく送達され、mCherry 発現量が増大したからであると考えられる。

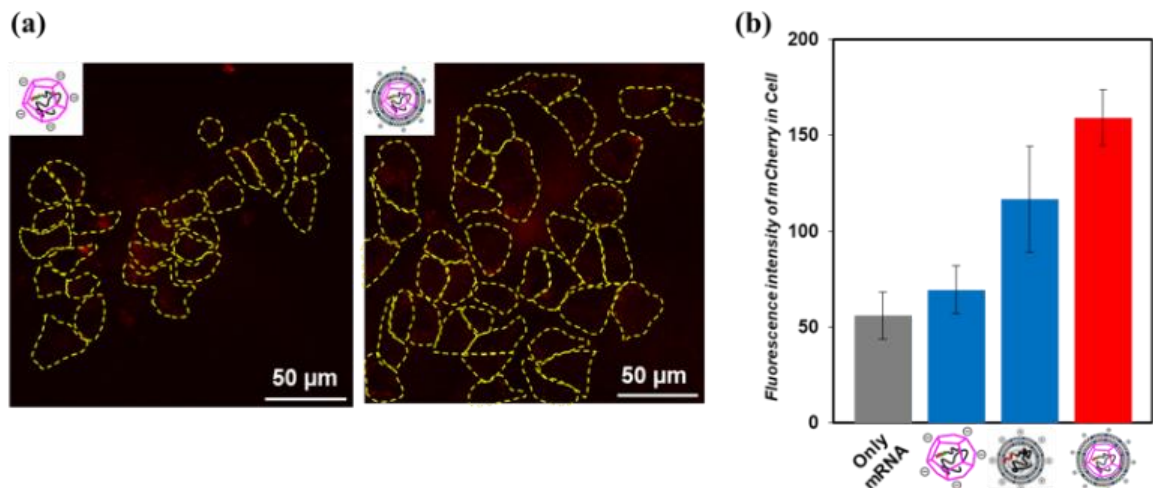


図 3 (a) mRNA 内包ウイルスキャプシド (左) および mRNA 内包エンベロープ型ウイルスレプリカを導入した HepG2 細胞の CLSM 像 (赤い蛍光が mCherry mRNA の発現を示す)。  
(b) 各サンプルを添加した HepG2 細胞内での mCherry 蛍光強度の比較

さらに、インフルエンザウイルスの膜タンパク質ヘマグルチニン(HA)を無細胞発現系によりエンベロープ型ウイルスレプリカに搭載し、ウエスタンブロッティングにより確認した。この HA 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカは、細胞表面上のシアル酸含有糖鎖を認識し、HepG2 細胞内に複数のエンドサイトーシス経路で取り込まれ、内包物がエンドソームにトラップされることなく細胞質に放出されることも見出している。

(6) 本研究の考察

本研究では、poly A テールと dT20 のハイブリダイゼーションを利用して mRNA を内包したエンベロープ型ウイルスレプリカの創製に成功し、エンベロープがあることで細胞内に効率的に取り込まれ、mRNA 発現が促進されることを見出した。また、ヘマグルチニンを搭載したエンベロープ型ウイルスレプリカの創製にも成功し、シアル酸含有糖鎖との結合を介したエンドサイトーシスにより効率的に細胞内に取り込まれることを見出した。よって本研究により、エンベロープ型ウイルスレプリカを用いた mRNA ワクチンとしての技術基盤が進展したと考えられる。今後、mRNA を内包したヘマグルチニン搭載エンベロープ型ウイルスレプリカを免疫細胞内に取り込ませ、mRNA 発現するかどうかを検証し、さらに in vivo 実験により mRNA ワクチンとしての有効性を検討する必要がある。

(7) 共同研究者(所属機関名、役職、氏名)

鳥取大学、准教授、稲葉 央

(8) 本研究の成果の公表先

【学会発表】

- 1) Kazunori Matsuura, Sosuke Nakamura, Hiroto Furukawa, Hiroshi Inaba, Yoshihiro Sasaki, Kazunari Akiyoshi, "Enveloped Viral Replica equipped with Hemagglutinin," The 20<sup>th</sup> Akabori Conference (The Japanese-German Symposium on Peptide Science), Potsdam/Berlin, Germany, 2025/5/24-28.
- 2) Kazunori Matsuura, Sosuke Nakamura, Kenshin Miyata, Hiroto Furukawa, Hiroshi Inaba, Yoshihiro Sasaki, Kazunari Akiyoshi, "Construction of Enveloped Viral Replica Equipped with Hemagglutinin and its Intracellular Invasion", The 19th Pacific Polymer Conference (PPC19), 北九州国際会議場, 2025/7/6-10.
- 3) 松浦和則, 中村颯佑, 古川寛人, 稲葉央, 佐々木善浩, 秋吉一成, 「エンベロープにヘマグルチニンを搭載したインフルエンザウイルスレプリカの創製」, 第 35 回バイオ高分子シンポジウム, 東京工業大学, 2025/7/31-8/1.
- 4) 藤岡洸, 山本優香, 中村颯佑, 稲葉央, 松浦和則, 「mRNA 内包エンベロープ型ウイルスレプリカの創製と細胞内導入」, 第 57 回若手ペプチド夏の勉強会、三木ホースランドパーク, 2025/8/3-5.
- 5) 藤岡洸, 山本優香, 中村颯佑, 稲葉央, 松浦和則, 「エンベロープ型ウイルスレプリカによる mRNA の細胞内送達」, 第 19 回バイオ関連化学シンポジウム, 京都大学桂キャンパス, 2025/9/2-4.
- 6) 中村颯佑, 古川寛人, 稲葉央, 佐々木善浩, 秋吉一成, 松浦和則, 「ヘマグルチニン搭載エンベロープ型ウイルスレプリカによる細胞内薬物送達」, 第 74 回高分子討論会、関西大学千里山キャンパス, 2025/9/16-18.
- 7) Sosuke Nakamura, Hiroto Furukawa, Hiroshi Inaba, Yoshihiro Sasaki, Kazunari Akiyoshi, Kazunori Matsuura, "Intracellular Drug Delivery using Enveloped Viral Replica equipped with Hemagglutinin," 第 62 回ペプチド討論会, 福岡国際会議場, 2025/10/21-23.
- 8) Kazunori Matsuura, Sosuke Nakamura, Inaba Hiroshi, Sasaki Yoshihiro, Kazunari Akiyoshi, "Construction of Enveloped Viral Replica equipped with Hemagglutinin," PACIFICHEM 2025, Hawaii Convention Center, 2025/12/15-20.
- 9) 藤岡洸, 山本優香, 中村颯佑, 稲葉央, 松浦和則, 「mRNA 内包エンベロープ型ウイルスレプリカの創製と細胞内導入」, 第 25 回生命化学研究会, ホテルモナーク鳥取, 2026/1/9-10.

[注]この報告書を当財団のホームページ等に掲載します。予めご了承ください。