自己増殖RNA

従来のワクチンは主に不活化または弱毒化された病原体に基づいており、長い開発時間を必要とするため、新たに出現した病原体への迅速な対応が困難になります。しかし、核酸に基づくワクチンはこの欠点を回避する可能性があり、RNAは30年以上前にワクチン候補として最初に提案されました[1]。現在のCOVID-19パンデミック時のmRNAワクチンの使用は、新たな感染症との闘いにおけるその実現可能性と明確な利点を実証しています[2]。

mRNAワクチンの製造は、技術的にシンプルで高速、費用対効果が高く、細胞および動物材料を含まず、適応が簡単です[3] mRNAワクチンは、T7、T3、またはSP6ポリメラーゼなどのファージRNAポリメラーゼを使用したin vitro転写により、線形化されたプラスミドDNAテンプレートまたはポリメラーゼ連鎖反応ベースのテンプレートから製造できます[4]キャップ構造は、in vitro転写中または酵素的に転写後に追加できます[5,6]。すべてのコンポーネントは動物性材料を含まない。ただし、製造はRNaseフリーの材料で実行する必要があります。残留DNAはDNase処理によって除去され、得られたmRNAはビーズベースの方法、クロマトグラフィー、または沈殿によってさらに精製されます。これらの無細胞製造ステップは、簡単に標準化およびアップスケールして、臨床グレードの材料を得ることができます[7]。RNAワクチン候補の生産は速く、インフルエンザワクチン候補はわずか8日で生産されたと報告されています[8]。

さらに、DNAベースのワクチンとは対照的に、mRNAが宿主ゲノムに統合するリスクはありません[9]。 mRNAは非感染性であり、宿主細胞RNaseによる分解により、細胞内に一時的にのみ存在します[10]。これらの安全特性は、主に軽度の有害事象のみを示すCOVID-19 mRNAワクチンによっても実証されています[11,12,13]。ベクターワクチンとは対照的に、既存の抗ベクター免疫はなく、mRNAによる予防接種は繰り返し行うことができます[9]。最後に、COVID-19 mRNAワクチンは効果的であり、強力な体液および細胞免疫応答を誘発することが示されています[14]。

mRNAワクチンは、免疫原性抗原のオープンリーディングフレーム(ORF)エンコーディング、5 '-および3'-非翻訳領域(UTR)、5'-キャップ構造, および3'-ポリアデニル化テール(ポリ-A)(図1)。細胞mRNAと同様に、mRNAワクチンはその場でそれぞれの抗原に直接変換されます。mRNAの抗原提示細胞への移動により、宿主細胞プロテアソームによる発現抗原の処理が可能になり、その結果、主要な組織適合性複合体(MHC)クラスI分子に負荷がかかります。さらに、分 ⁇ された抗原の摂取とエンドソームでの分解後、ペプチドはMHCクラスII分子によって提示できます。これにより、CD8 +とCD4 + T細胞の両方をそれぞれ刺激できます。T細胞の活性化にはさらに、共刺激分子とサイトカイン分 ⁇ が必要です。これは、mRNAワクチンの自然免疫検知から生じる可能性があります(以下を参照)。細胞性免疫応答に加えて、体液性免疫応答は、分 ⁇ された抗原によるB細胞の活性化によっても刺激されます。その結果,抗原特異的な体液および細胞免疫応答は、mRNAワクチン接種によって誘発されます。

1.1。mRNAの安定性と翻訳効率の向上

ウイルスまたは真核生物遺伝子の5 '-および3'-UTR配列は、mRNAの半減期と翻訳を調節するため、UTR配列はmRNAワクチン接種での使用に最適化されました[15,16,17,18]。

5'-UTRは主にリボソームによるRNAの認識と下流の遺伝子の翻訳に関与しています。コザックシーケンスは通常、翻訳効率を向上させるために追加されます[19]。3'-UTRは主にmRNAの安定性を調整します[20]。たとえば、高度に発現したβ-グロビン遺伝子の3'-UTRはmRNAの安定性を高めます[15]。新規3'-UTR要素は、セルラーライブラリのスクリーニングでも識別できます[21]。

さらに、3'-poly-Aテールの長さはmRNAの安定性を調整し、翻訳を強化します[22]。ポリAテールは通常約200ユニットで構成されています[23]、しかし樹状細胞(DC)の平均サイズは120 – 150ヌクレオチドです[24,25]。さらに、poly-Aテールは、poly-A結合タンパク質と翻訳開始因子を介してキャップ構造と相互作用し、ループを形成します。高度に発現した遺伝子は、短いポリA配列を持ち、ループを効率的に形成することがわかっています[26]。真核生物の遺伝子発現に対するポリAテールの影響は、[27];ただし、RNAワクチンにおけるpoly-Aの長さの正確な役割については、さらに調査が必要です。mRNAワクチンでは、100ヌクレオチドのポリAテールが効率的な抗原発現と免疫応答の誘導に十分であることが示されています[28,29]。

真核細胞が自己と非自己のmRNAを区別できる1つのメカニズムは、キャップ構造です[30]。真核生物のキャップは、5'-5'-三リン酸橋(ppp)(m7GpppN構造)によってmRNAにリンクされた7-メチルグアノシン(m7G)キャップです[31]。Cap-0構造にはm7Gキャップのみが含まれています。最初のリボース部分の2'-ヒドロキシ基のさらなるメチル化はキャップ1を生成し、2番目のリボースの追加のメチル化はキャップ2構造を生成します。ウイルスRNAは多くの場合、キャップ0構造を含み、キャップ0構造を含むRNAは、自然免疫システムによって認識されます(以下を参照)。したがって、キャップ1/2構造はワクチン開発に優れています。たとえば、反逆キャップ類似体(ARCA; m27、3'-OGpppG)を備えた体外転写mRNAは、強化された翻訳を示しています[32,33]。Cap-1構造は、2'-O-メチルトランスフェラーゼによって酵素的に、またはCleanCapテクノロジーによって共転写的に追加できます。

さらに、抗原配列は、抗原発現を増加させるためにコドン最適化することができます。この目的のために、同義の変異が遺伝子に導入され、翻訳効率を低下させる可能性のあるまれなコドンを排除することを目的としています。Codonの最適化は、GCコンテンツとRNAの二次構造にも影響します。これは、翻訳効率に影響を与え、それによって最適化できます[34]。

1.2。mRNAワクチン候補のVivo配信

in vivoアプリケーションでは、RNAベースのワクチンを細胞に取り込む必要があります。細胞膜のリン脂質2層を通るこの通路は、分子量が大きく、負の電荷があり、ヌクレアーゼによる分解が速いため、困難です。mRNAのin vivo送達には、さまざまな方法を使用できます。

最も単純な配信方法は、裸のmRNAです。それは、スカベンジャー受容体を介したエンドサイトーシスを介して細胞によって吸収されます。ただし、細胞質に放出されるmRNAの量はごくわずかです[35]。したがって、mRNAの取り込みはほとんどの細胞タイプで非効率的ですが、未成熟DCは、微小球増加症によってmRNAを通常の生物学的機能の一部として取り上げます。裸のmRNAによる皮内または節内ワクチン接種後、mRNAはリンパ節DCによって吸収され、マイクロピノサイトーシスの阻害は内在化を無効にします[36]。

ただし、細胞内で高いmRNAレベルを取得し、多数の細胞にmRNAを送達するには、送達方法の改善が必要です。細胞内取り込みは、例えば遺伝子ガンを使用して、エレクトロポレーションによって増やすことができます[37]。癌ワクチンとしての電気ポレーションによるmRNAのDCへの移動は、癌患者で安全であることが示されています[38,39]。

mRNA製剤は、mRNAの安定性と細胞取り込みを高めるin vivo送達用に開発されました[40]。これらの中で最も広く使用されているのは、脂質ナノ粒子(LNP)を配合したmRNAです。LNPは、コレステロール、イオン化可能な脂質、リン脂質、PEG脂質の混合物であり、最初は癌免疫療法に適用されました[41,42,43]。脂質の種類とそれらの間の比率が製剤の効率を決定し、mRNAワクチンの最適比はsiRNA送達のそれとは異なります[43,44,45]。現在のCOVID-19パンデミックでの使用は、LNP配合のCOVID-19ワクチンが高い効率を持ち、人間で安全であることを示しています[11,12]。無作為化比較試験では、COVID-19 mRNAワクチンは、プラセボと比較して、症候性COVID-19が確認された参加者の割合を減らし、疾患の重症度を減らしました。ワクチンとプラセボで治療されたグループの間で、深刻な有害事象の違いはほとんどまたはまったく観察されませんでした[46]。

1.3。mRNAワクチンによるタンパク質発現を高めるための無害な応答の調整

外国のRNAは、生来の免疫系によって細胞内で認識され、通常は抗原発現の抑制をもたらします[47]。ただし、この先天性免疫反応はワクチンにアジュバント効果をもたらす可能性もあります[48]。免疫原性を最適化するためにいくつかの戦略が使用されています。

In vitro転写中、T7 RNAポリメラーゼのRNA依存性RNAポリメラーゼ活性とRNAの再結合により、3 'でのセルフプライミングが可能′ 二重鎖RNA(dsRNA)をもたらす補完的なRNA合成の終了[49,50,51]。dsRNAは自然免疫応答を強力に活性化できます[31]。ウイルス感染中、dsRNAはToll様受容体(TLR)、レチノイン酸誘導遺伝子I(RIG-I)様受容体、プロテインキナーゼR(PKR)、オリゴアデニル酸シンターゼ(OAS)によって感知できます, およびNOD-、LRR-、およびピリンドメインを含む1(NLRP1)。これにより、炎症、細胞増殖阻害、または細胞死につながる多様なシグナル伝達カスケードが活性化されます[52]。 dsRNAは、RNAの精製、たとえば高速液体クロマトグラフィーまたはセルロースベースの精製によって除去できます[53,54]。あるいは、in vitro転写中のdsRNAの生成は、ヌクレオシド三リン酸比を最適化するか、RNA合成用の変異ポリメラーゼを構築することで削減できます[55,56,57]。さらに、修飾ヌクレオシドを組み込むと、一本鎖mRNAの免疫原性が低下する可能性があります[58]。たとえば、プソイドウリジンと1-メチルプソイドウリジンは、自然免疫系による検知を防ぎ、より高い抗原発現率を可能にします[59,60,61]。

DNAテンプレートはmRNAワクチンの生来の検知にも影響を与える可能性がありますが、ほとんどのDNAは精製ステップまたはDNase処理によって除去されているはずです。外国の細胞質DNAは、cGASやIFI16などのいくつかのDNAセンサーで認識されており、主にアダプタータンパク質STINGを介して動作します(レビューについては[62])。しかし、mRNAワクチンに対する残留DNAの影響はまだ詳細に研究されていません。in vitro転写からの残留タンパク質も先天性免疫応答を刺激する可能性がありますが、そのようなタンパク質は一般に精製によって除去されます。mRNAワクチンの検知のレビューについては、[63]。

1.4。 mRNAワクチン貯蔵温度

現在のCOVID-19 mRNAワクチンは、Comirnatyの場合は– 60または– 80 ° C、Spikevaxの場合は– 50 ° Cの保管温度を必要とします[64]。これらの低温貯蔵要件は、特に低中所得国におけるmRNAワクチンの世界的な分布に影響を与えます。不適切な保管は、RNAの酸化と加水分解につながる可能性があり、その機能を変更する可能性があります[65]。凍結乾燥は、高温での長期的な安定を可能にする可能性があるため、代替の保管方法である可能性があります[66,67]。

2。自己増幅ワクチン候補としてのアルファウイルスレプリコン抗原発現は、抗原発現細胞に供給されるmRNAの量と相関しています。ただし、mRNAもRNaseによって分解されます[10]。したがって、強力な免疫応答を刺激するには、高いmRNA量と繰り返しの予防接種が必要です。現在のCOVID-19ワクチンには、用量あたり30 – 100μgmRNAが含まれています。自己増幅(sa)RNAワクチンは、mRNAが細胞内に拡張されるため、RNAの初期量を減らす必要があります。たとえば、わずか10 ngのsaRNAの用量は、マウスでSARS-CoV-2特異的免疫応答を誘発することができました[68]と5 µgのsaRNAが臨床試験で正常に使用されました[69]。この原理に基づくワクチンは、一本鎖陽性または陰性感知RNAウイルスのゲノムを利用しています。陰性感知ウイルスは、転写を開始するために独自のRNA依存性RNAポリメラーゼによって媒介される新規タンパク質合成を必要とし、建設のために技術的に要求の厳しい逆遺伝学を必要とします。したがって、ほとんどのsaRNAワクチンは、陽性感覚アルファウイルスベネズエラ馬脳炎ウイルス(VEEV)、シンドビスウイルス(SINV)、またはセンリキフォレストウイルス(SFV)のゲノムに基づいています[70]。ポジティブセンシングアルファウイルスのゲノムRNAは直接翻訳されます。

アルファウイルスは、エンベロープを持つ一本鎖の陽性感覚のRNAウイルスであり トガウイルス科 家族。アルファウイルスゲノムは11 – 12 kbで構成され、5'-メチルグアニル化キャップと3'-ポリ-Aテール(図2A)。これは2つのORFで構成されています。1つ目は4つの非構造タンパク質(nsP1 – nsP4)をエンコードし、2つ目は5つの構造タンパク質(キャプシドとエンベロープタンパク質E3-E2-6K-E1)をエンコードします[71]。

nsPは、ゲノムRNAの最初のORFからポリタンパク質として直接変換され、ウイルス複製に不可欠な機能を果たす複製複合体(複製)を構築します[72]。 nsP1はキャッピング酵素であり、グアニン-7-メチルトランスフェラーゼとグアニルトランスフェラーゼ活性があります[73,74,75]。 nsP2は、非構造性ポリタンパク質の処理に必要なプロテアーゼです[76,77]。さらに、nsP2にはRNAヘリカーゼとRNAトリホスファターゼ活性があります[76,78]、そしてそれは宿主細胞タンパク質発現の遮断を誘発します[79]。 nsP3はウイルス–宿主およびタンパク質–タンパク質相互作用を媒介します。これらはウイルス複製に不可欠です[80,81]およびnsP4はウイルスRNA依存性RNAポリメラーゼです[82]。レプリカーゼ複合体は、最初にフルレングスのネガティブセンシングRNAを合成します。これは、フルレングスのゲノムRNAまたはサブゲノムRNA(図2B)。nsPとは対照的に、構造タンパク質はサブゲノムRNAからポリタンパク質として翻訳されます[71,83]、(図2B)。

ゲノムには、RNAの複製、転写、ウイルス粒子への包装に重要ないくつかの配列が含まれています。これらの要素は呼び出されます cis-作用または保存された配列要素(CSE)(図2A)。5'-UTRには、マイナス鎖とプラス鎖の両方の合成のためのコアプロモーター要素が含まれています。nsP1コーディングシーケンス内の51 ntロングシーケンス要素は、RNA増幅にとって重要です[84]。同様に、3'-CSEシーケンスは負鎖RNA合成のプロモーターとして機能し、それによってRNA増幅[85]。したがって、5- ’および3'-CSEの存在により、アルファウイルスレプリカーゼによる特定のRNA増幅が保証されます[71]。サブゲノムRNA合成の開始には、CSEとしてサブゲノムプロモーター(SGP)が必要です(図2B)。このシーケンスは通常、nsP4コーディングシーケンスにあり、転写開始サイトの上流19 ntと下流2 – 5 ntを含みます[86]。さらに、nsP1またはnsP2コーディングシーケンスのパッケージング信号により、ゲノムRNAのウイルス粒子への特定のパッケージングが保証されます[87]。

3。自己増幅RNAワクチン候補

saRNAワクチンの構築のために、アルファウイルス構造タンパク質は、SGPの管理下に挿入される抗原遺伝子に置き換えられます(図3A、B)[88]。従来のmRNAワクチンと比較して、7 – 8 kbのアルファウイルスレプリカーゼ遺伝子を追加すると、RNAの長さが大幅に増加します。さらに、ウイルスCSEは、saRNAワクチンの5 '-および3'-UTRとして使用されます。これにより、アルファウイルスの複製と同様に、レプリカーゼはsaRNAを増幅し、サブゲノムRNAを転写できます。次に、抗原はサブゲノムRNAから翻訳されます[89]。レプリカーゼは抗原をコードするRNAを効率的に増幅するため、mRNAから得られるものと比較して、より多くの抗原が発現されます。したがって、より少ないRNAを使用して同様の免疫応答を達成できます[90]。

主に感染症の予防を目的とした、saRNAワクチン候補を使用したいくつかの前臨床試験が報告されています。ここで、saRNAはウイルス糖タンパク質を中和抗体と細胞免疫応答のターゲットとしてエンコードします。アルファウイルスベースのsaRNAは、SARS-CoV-2感染のワクチン候補として動物モデルでテストに成功しました[68,91,92,93,94]。最近、複数のコウモリとヒトコロナウイルススパイク抗原を発現するクロスサルベコウイルスsaRNAワクチン候補の前臨床データは、致命的な異種感染から保護できることを示しました[95]。さらに、インフルエンザウイルスに対するsaRNAワクチンの前臨床試験が実施されています[96,97,98]、呼吸器合胞体ウイルス[99]、狂犬病ウイルス[100]、ジカウイルス[101,102,103]、エボラウイルス[104]、VEEV [105]、およびHIV-1 [106,107]。ワクチンの候補者は主にLNPと誘導された高特異的抗体とT細胞応答で処方され、チャレンジ感染からのマウスの保護を示しました。saRNAワクチンは、細菌感染に対する使用にも適合しています[108]、寄生虫のような トキソプラズマゴンディ [104]、および癌[109]。レビューについては、[42,70,110]。

saRNAワクチンの前臨床開発により、SAR-CoV-2およびインフルエンザに対するsaRNAワクチンの最初の臨床試験が行われました。現在、saRNAワクチンの10件の臨床試験がリストされています clinaltrials.gov, そのうち9つはSARS-CoV-2(表1)。

saRNAの適用はワクチン開発に限定されません。 saRNAを使用した受動的予防接種戦略も開発されています。saRNAによって送達されたジカウイルス特異的モノクローナル抗体は、ジカウイルス感染からマウスを保護しました[111]。さらに、遺伝子補充療法にmRNAまたはsaRNAを使用する新しい遺伝子治療アプローチが開発中です。(レビューについては、[112]。)

臨床開発のために、RNA増幅と抗原発現が続く期間を解明することが依然として必要です[70]。ルシフェラーゼsaRNAの投与後、1か月後に発現はベースラインレベルに戻りました[113]。さらに、理論的には、saRNAが出芽能力のあるウイルス糖タンパク質を発現すると、小胞に放出され、saRNAが追加の細胞に移動する可能性があります[114]。これは、saRNAワクチンの安全性評価のために考慮に入れられるべきです。

4。トランス増幅(ta)RNAワクチン候補

最近、saRNAワクチンはtaRNAワクチンの原則を確立することによってさらに開発されました[115]。taRNAワクチンの場合、2つのRNAが使用されます。1つ目は、アルファウイルスレプリカーゼをエンコードし、その場で直接翻訳できるin vitro転写mRNAです。2番目のRNAであるトランスレプリコン(TR)RNAは、SGP(図3C)。TR-RNAはアルファウイルス5 '-および3'-CSEを含んでいるため、トランス中のアルファウイルスレプリカーゼによって増幅されます[116]。

当初、“ splitzicon ”と呼ばれるスプリットレプリコンシステムがVEEV用に確立されました。抗原としての ⁇ 光レポーター遺伝子の助けを借りて、taRNAの自己増幅に必要な成分が特定されました[117]。最近、インフルエンザウイルスのtaRNAワクチン候補は、レプリカーゼ遺伝子をコードする非複製mRNAとインフルエンザウイルスのヘマグルチニンを発現するTR-RNAを使用して構築されました。taRNAは、saRNAワクチン候補と比較して抗原性の低いRNAで防御免疫応答を誘発することができました[115]。これはおそらく、長いsaRNAの代わりに短いTR-RNAだけが増幅されるためです。重要なことに、アルファウイルスの複製によるRNAの増幅は、RNAが短いほど高速で効率的であることが研究で示されています[116,118,119]。

さらに、アルファウイルスレプリカーゼにコドン最適化mRNAエンコーディングを使用することにより、より強力な免疫応答が誘発されました[115,120]。別のアルファウイルスであるチクングニアウイルス(CHIKV)に基づくtaRNAワクチン候補は、強力な体液および細胞免疫応答を誘発し、CHIKVチャレンジ感染からマウスを保護することができました[120]。さらに、3つのRNAの送達を含む、新しい二価のtaRNAワクチン候補が説明されています。1つはレプリカーゼをエンコードし、2つは抗原をエンコードするTR-RNA [119]。

saRNAワクチンと比較して、taRNAワクチンは安全性、製造性、および最適化の可能性を改善しました[121]。2つのRNAを使用すると、RNAがさらなる宿主細胞に移動するリスクが最小限に抑えられます。 taRNAはsaRNAと比較してRNAが短いため、スケールアップ生産が簡単です。ただし、2つのRNAを作成する必要があり、効率的なin vivoデリバリーのための製剤はまだ実証されていません。

5. saRNAワクチンの製造と配送

saRNAとtaRNAは、in vitro転写とキャップ構造の追加により、DNAテンプレートからmRNAのように生成されます。確立されたキャップ試薬に加えて、CleanCap Reagent AUは最近、アルファウイルスsaRNAのキャッピング用に開発され、自然なCap-1構造との共転写キャッピングを可能にします[122]。

saRNAワクチンは、体外転写RNAとして送達するか、ウイルス粒子(VP)にパッケージ化できます。VPにパッケージ化されている場合、原則として、弱毒化ウイルスと見なすことができます。彼らは人間の限られた複製を示すべきですが、それでも病気の兆候なしに良い免疫応答を誘発することができるはずです。この送達方法を使用するワクチン候補は、CHIKVについて説明されています。nsP3( ⁇ 5nsP3)またはキャプシドの大幅な削除など、CHIKV遺伝子のいくつかの欠失が報告されており、これらの弱毒化ウイルスの一部が臨床開発に入っています[123,124,125,126]。ただし、VPベースの配信にはいくつかの欠点があります。それらはしばしば次善の安全性プロファイルを持ち、常に病原性ウイルスに戻る可能性を保持します。さらに、ベクターは免疫原性であり、ブースターの予防接種を困難にします。従来のmRNAワクチンと同様に、in vitro転写によるsaRNAワクチンの製造は、これらの障害を回避します。

前臨床モデルでは、taRNAによる予防接種は、主にRNaseフリーPBSで希釈されたRNAの皮内注射によって行われました[90,120]。同様に、裸のsaRNAは、HIV 1およびジカウイルスに対する特定の免疫応答を誘発することができました[127,128]。しかし、RNAの投与量は高く、mRNAワクチンに匹敵しました。さまざまな製剤がmRNAのin vivo送達を改善することが示されています。アルファウイルスレプリカーゼ遺伝子の存在により、saRNAワクチンはmRNAよりも長く、新しい製剤が送達される必要があります[129]。saRNA製剤に対する複数のアプローチが検討されています。saRNA製剤とリポソーム、固体脂質ナノ粒子、高分子ナノ粒子、およびエマルジョンとの比較では、免疫応答の最も強力な誘導は、1,2-ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウム-プロパンポリマーナノ粒子で発生しました[129]。最適化されたsaRNA LNPは、以前にsiRNAおよびmRNA用に最適化されたLNP配合に基づいて開発されました[130]。LNPをCOVID-19ワクチン候補として使用したsaRNAの製剤により、マウスで強力な免疫応答を誘発するために必要な用量がわずか10 ngに減少しました[91]。LNP製剤も同様にtaRNAシステムに適合させることができます。これにより、RNAの安定性と感染が改善され、RNAの投与量が少なくなり、筋肉内への適用によって、強力な免疫応答が刺激される可能性があります。

6. saRNAワクチン候補と無害な免疫応答の誘導

非自己分子として、RNAワクチンは細胞経路によって感知され、自然免疫系の効果的な活性化因子です[130]。上記でmRNAワクチンに示したように、自然免疫活性化を回避するためのいくつかのアプローチを適用できます。ただし、sa / taRNAワクチンの場合, ヌクレオシドの変更は、増幅ステップ中に失われ、メリットは少なくなります[108,111]。taRNAワクチンでは、レプリカーゼmRNAをヌクレオシド修飾することができます。ただし、影響はまだ評価されていません。さらに、RNAは最初に精製して、生来の検知を減らすことができます[122]。

mRNAワクチンとは対照的に、細胞内RNA増幅はdsRNAをもたらし、したがって自然免疫応答のより強力な活性化をもたらします。RNAは、TLR3、TLR7、RIG-I様受容体、メラノーマ分化関連タンパク質5(MDA5)、PKR、およびOASを含む複数のパターン認識受容体によって認識できます[131]。結果として生じるシグナル伝達カスケードは、タイプIインターフェロン(IFN)と炎症誘発性サイトカインの産生につながります[24]。生来の反応には特定の免疫反応を促進するアジュバント効果がありますが、RNAの分解を誘発し、それによって抗原発現を低下させる可能性もあります[132]。

SARNAワクチンについては、IFNの活性化を減らすための戦略が説明されています。たとえば、免疫検知を回避するウイルスに由来するタンパク質の発現は、自然反応を阻害する可能性があります[133]。ワクチニアウイルスのE3、K3、およびB18Rタンパク質とインフルエンザAウイルスの非構造タンパク質1を別のmRNAでエンコードすると、in vitroおよびin vivoで抗原発現が増加しました[134,135]。同様に、saRNAのcisにコード化された先天性応答阻害タンパク質は、刺激された免疫応答を増加させることができました[136]。

アルファウイルスは、宿主細胞の転写と翻訳を遮断することにより、自然免疫反応を打ち消します[79]。これにより、IFNの生産も削減されます。さらに、アルファウイルス感染とレプリカーゼ発現は細胞毒性があり、宿主細胞アポトーシスを誘発します[137]。レプリカーゼnspsには、RNAの増幅と宿主細胞の応答に影響を与える要素が含まれています。 nsP2は宿主細胞の遮断を誘発し、細胞死を引き起こします[79]。ワクチン適用に対するこれの正確な影響はまだ解明されていません。興味深いことに、CHIKVのnsP2の変異は、細胞病理効果を低下させると説明されています[138]。さらに、in vitroアプローチでは、VEEV nsPの変異が確認されており、その場でのサブゲノムRNAの合成が強化されています[109]。CHIKVのA549細胞への適応中に、レプリカーゼ遺伝子に2つの変異が発生し、ウイルス複製が増加しました[139]。したがって、sa / taRNAワクチン候補のレプリカーゼは、より高い抗原発現と免疫のためにさらに最適化することができます。

IFNの活性化を減らすための戦略に加えて、アジュバントの使用によるsaRNAワクチン接種後の免疫応答の調節も検討されています。たとえば、アジュバントMF59に基づくカチオン性ナノエマルジョンまたはTLRアゴニストによる製剤を配合したsaRNAが評価されています[136,140]。強力な免疫応答が誘発されましたが、直接的な利点は実証されておらず、臨床データが不足しています。さらに、LNP製剤にはアジュバント効果があります。皮内電極とLNPデリバリーを比較すると、LNPによる先天性免疫応答の強力な誘導により、マウスの皮膚におけるsaRNAからの抗原発現が減少したことが示されました[141]。

7.人間が使用するsaRNAワクチンアプリケーション

saRNAワクチンの前臨床開発により、SAR-CoV-2およびインフルエンザに対するsaRNAワクチンの最初の臨床試験が行われました。完了したsaRNAベースのCOVID-19ワクチン候補の臨床試験データは励みになり、第1相I試験が最近実施されました[69]。SARS-CoV-2の核融合前安定化スパイク糖タンパク質を発現するVEEVベースのsaRNAワクチン(LNP-nCoVsaRNA)は、ワクチン接種に関連する深刻な有害事象なしに十分に許容されました。セロコンバージョン率は100%に達しませんでしたが、血清陽性参加者間の特異的抗体濃度は、回復期の血清に由来する値と同様でした。ただし、SARS-CoV-2に対する人間の反応は、小動物モデルによって予測されたものよりも大幅に低かった[69]。SARS-CoV-2スパイク糖タンパク質を発現する別のVEEVベースのsaRNAワクチン候補(ARTC-021)も安全であることが判明し、セロコンバージョン率が100%でした。スパイク防止IgG力価は、COVID-19回復期血漿中の力価と同等でした[142]。ARTC-021をブースターワクチンとして、より大きな臨床試験が現在進行中です(NCT05012943)。これらの例は、saRNAテクノロジーが臨床開発に入っていることを示していますが、強力なワクチンを生成するにはさらなる改善が必要です。

8。結論

COVID-19パンデミック時のmRNAワクチンの使用は、感染症の予防におけるそれらの実現可能性を示しました。saRNAワクチン候補はこの戦略をさらに改善し、RNAを減らして効果的であるという約束を保持します。ただし、特にRNA配信の効率を向上させ、生得的センシングの役割を調査するには、さらに調査が必要です。また、その場で増幅されるより少ないRNAの使用が、標準的なmRNAワクチンに比べて臨床的に有利であるかどうかも、まだはっきりしていません。mRNAに対するsaRNAの利点を実証する比較前臨床試験は、人間の先天性免疫応答を適切に要約しないマウスモデルで行われました。saRNAワクチンの最初の臨床試験が完了し、mRNAとsaRNAの直接比較はまだ行われていません。RNAワクチンと同様に、saRNAワクチンは感染症に限定されないかもしれませんが、遺伝子治療、癌との闘い、またはタンパク質ベースの治療法の提供にも使用される可能性があります。