

令和3年 4月 9日

報道機関 各位

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の感染を防御する ヒト型・抗 SARS-CoV-2 中和抗体を新規に取得

富山大学では医学部と工学部が連携し、富山大学独自のコア技術を結集することで、新型コロナウイルス感染症の治療に役立つ中和抗体製剤の実用化を目指します。

富山大学学術研究部医学系 臨床分子病態検査学講座の仁井見英樹准教授、同免疫学講座の岸裕幸教授、小澤龍彦准教授、同微生物学講座の森永芳智教授、同感染症学講座の山本善裕教授、同大学学術研究部工学系 遺伝情報工学講座の磯部正治教授、黒澤信幸教授、富山県衛生研究所ウイルス部の谷英樹部長らの共同研究グループ(図1)は、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の感染を防御するヒト型・抗 SARS-CoV-2 中和抗体の新規取得に成功しました。

富山大学は「中和抗体を産生するリンパ球を迅速に単離する技術」や「目的の中和抗体を大規模に作出する技術」、「最も高力価な中和抗体を選定する技術」を有し、独自技術として複数の国内・国際特許を取得しています(図2)。

新型コロナウイルスは、主にウイルス表面にあるスパイクタンパク質がヒトの ACE2 受容体に結合することで感染します(図3)。今回取得した中和抗体は、スパイクタンパク質に直接結合し、ACE2 との結合を阻害する結果、新型コロナウイルスの感染を防御することが期待できます。

研究グループではまず、新型コロナウイルス感染症の回復患者の血清中の中和活性を測定し、高力価の中和抗体を持つ患者を選定しました。次にその患者の末梢血 B 細胞の中から、スパイクタンパク質に強く結合する抗体を作っている B 細胞を選び出し、その B 細胞から抗体遺伝子を取り出して、遺伝子組換え抗体を作りました(図4)。その結果、スパイクタンパク質と結合する 28 種類の抗体が得られました、この 28 種類の抗体の中から中和活性の特に高い(=感染を防御する能力に優れた) 3 種類の抗体を特定しました。中和活性測定実験(図5)により、これらの抗体は 1 µg/ml という低濃度でも新型コロナウイルスの感染を完全に防御することを確認しています。これら 3 種類の高力価な中和抗体を含む、新型コロナウイ

ルスに対する28種類の抗体について、令和3年3月30日に特許を出願(特願2021-056423号)しました。

取得した抗体は今後人工的に作製できるため、新型コロナウイルス感染症の検査キットや治療薬として用いることができます。特に中和活性の高い3種類の中和抗体は治療薬として役立つことが期待できるため、中和抗体製剤として早期の実用化を目指します。

一方で、今回の3種類の抗体は、B.1.1.7変異株に対して効果が認められましたが、B.1.351変異株に対しては効果が弱かったことから、B.1.351変異株に対しても効果が高い中和抗体の取得を目指しています。

本研究は、富山大学学長裁量経費、日本医療研究開発機構(AMED)創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業(BINDS)の支援を受けて行われました。

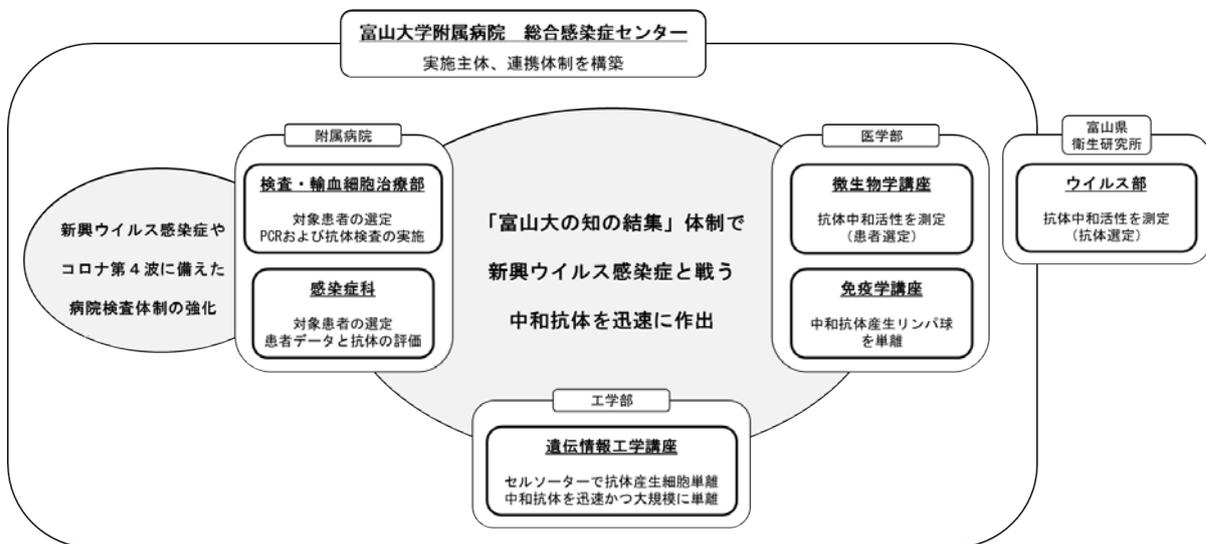
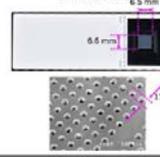
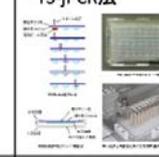
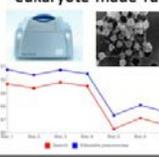


図1. 新興ウイルス感染症と戦うための富山大学の連携体制

富山大学では、新興ウイルス感染症と戦うための病院検査体制の強靱化とともに、臨床検体から世界最短かつ恒常的に高力価ヒト・モノクローナル抗体を作出する「富山大の知の結集」体制を構築しています。

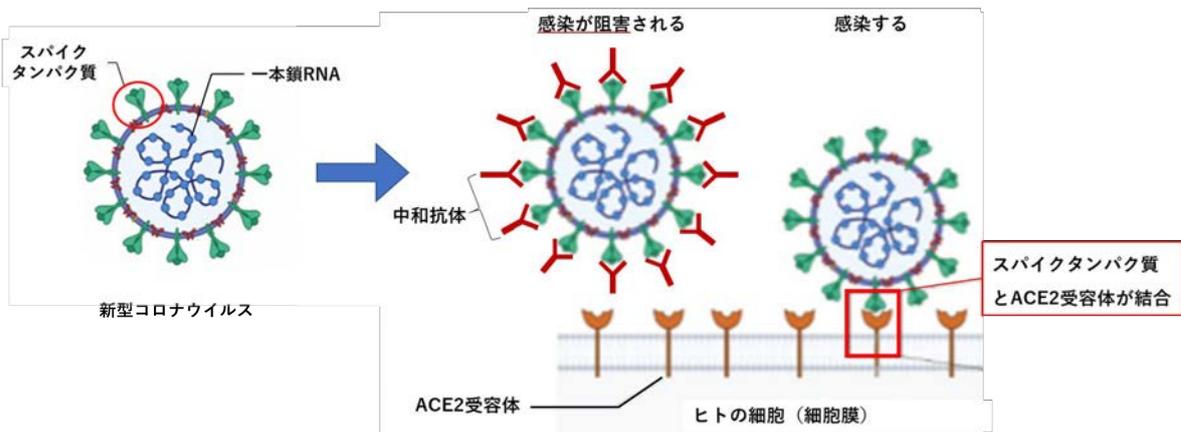
富山大学の独自技術による高力価中和抗体の作出工程

作出ステップ	ステップ 1	ステップ 2	ステップ 3	ステップ 4	ステップ 5
	高力価中和抗体を持つ患者の選定	中和抗体を産生するリンパ球を単離	目的の中和抗体を大規模に作出	最も高力価な中和抗体を選定	選定した中和抗体の安全性を評価
学内連携体制	附属病院: 感染症科 附属病院: 検査部 医学部: 微生物学講座	医学部: 免疫学講座 工学部: 遺伝情報工学	医学部: 免疫学講座 工学部: 遺伝情報工学	医学部: 免疫学講座 工学部: 遺伝情報工学 医学部: 微生物学講座	附属病院: 感染症科 附属病院: 検査部
富山大学独自のコア技術	Pseudo-Type Virusを用いた抗体の中和活性測定 	・ISAAC法 ・ERIAA法、FIXAA法 リンパ球チップ 6.5mm 	・ISAAC法 ・MAGrahd法 ・TS-JPCR法 	Pseudo-Type Virusを用いた抗体の中和活性測定 	迅速無菌検査法 ・Tm mapping法 ・eukaryote-made Taq 
コア技術の優位性	簡易な実験環境で多検体をスクリーニングできる	高感度かつ確実に目的の抗体産生単一細胞を単離可能	抗原特異的の抗体を確実に高スループットに作出	簡易な実験環境で多検体をスクリーニングできる	細菌DNA汚染の無い細菌 universal PCR検出が可能
コア技術の迅速性	従来法の10分の1以下の作業時間と日数で実施できる	最短4、5日(従来法では数週間から数ヶ月を要する工程)で目的のモノクローナル中和抗体を作出!(世界最速)		従来法の10分の1以下の作業時間と日数で実施できる	僅か1日(従来法は14日)で無菌か否かを検査できる

* 今までに計30種類以上の抗原に対して計350種類以上の抗体を作製した実績あり

図2. 抗体作製とその評価に関する富山大学独自の技術

従来では2~3ヶ月以上かかっていましたが、富山大学独自のコア技術の結集により、僅か1週間程度で、高力価・ヒトモノクローナル中和抗体の作出が行えます。新型コロナウイルス感染症など、新興ウイルス感染症のパンデミック時に、世界最速で多数の患者の救命に貢献できます。



出典: Nature Communications. 2020 Sep 11;11(1):4541.より改変

図3. 新型コロナウイルスが人の細胞に感染するしくみと中和抗体が感染防御する機序

新型コロナウイルスは、主にウイルス表面にあるスパイクタンパク質がヒトの ACE2 受容体に結合することで感染します。今回取得した中和抗体は、スパイクタンパク質に直接結合し、ACE2 との結合を阻害する結果、新型コロナウイルスの感染を防御することが期待できます。

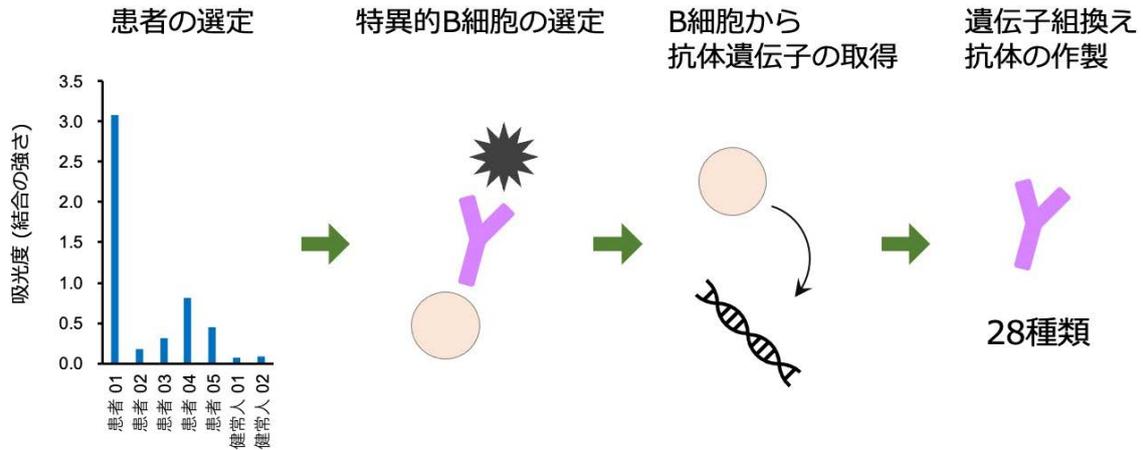


図4. 中和抗体作製の流れ

抗体価の高かった患者 01 の末梢血 B 細胞より、スパイクタンパク質に結合する抗体の遺伝子を取り出し、遺伝子組換え抗体を作製しました。この抗体を用いて、次の中和活性測定実験を行いました。

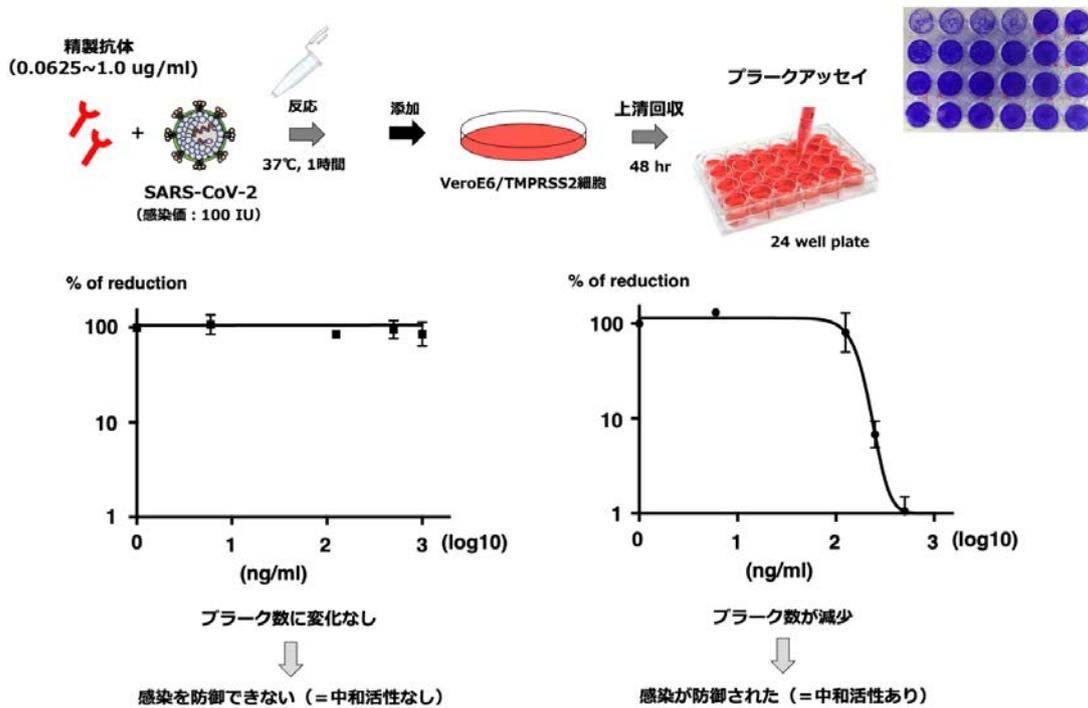


図5. 中和活性測定実験

スパイクタンパク質に結合する抗体存在下での、新型コロナウイルスのヒト細胞への感染（ヒト細胞での産生）の減少率をみる実験（Yield reduction assay）。ウイルスの感染（産生）が阻害されればされる程、抗体の中和活性が高いことを意味します。

用語解説

SARS-CoV-2：国際ウイルス分類委員会（International Committee on Taxonomy of Viruses：ICTV）による新型コロナウイルスの正式名称。SARS（重症急性呼吸器症候群）を引き起こすウイルス（SARS-CoV）に似たウイルス種であるとして「SARS-CoV-2」と名付けています。

新興ウイルス感染症：近年新しく認知され、局部的あるいは国際的に公衆衛生上の問題となるウイルス感染症を指します。

スパイクタンパク質：新型コロナウイルスの粒子表面に存在するタンパク質。ヒト細胞表面のACE2受容体に結合して、ウイルスが細胞に侵入することで感染が成立します。

ACE2受容体：アンジオテンシン変換酵素2で亜鉛メタロプロテアーゼの一種。新型コロナウイルスのスパイクタンパク質と結合するヒト細胞表面の受容体としても作用します。新型コロナウイルスはACE2受容体に結合して細胞に侵入することができます。

B細胞：免疫担当細胞の1つで、抗体を作っている。

中和活性：ウイルスのヒト細胞への感染を防ぐ（抗体の）活性のこと

中和抗体：ウイルス粒子に結合し、ウイルスのヒト細胞への感染を防ぐ能力をもつ抗体

1 μg ：1 g の百万分の一の重さ

B. 1. 1. 7 変異株：英国で最初に見つかった変異株で、スパイクタンパク質に、N501Yなどの変異がある。K417とE484は変異していない。

B. 1. 351 変異株：南アフリカで最初に見つかった変異株で、スパイクタンパク質に、K417N, E484K, N501Yなどの変異がある。

K417N, E484K, N501Y：それぞれ、スパイクタンパク質のアミノ酸の、417番目のリシンがアスパラギンに、484番目のグルタミン酸がリシンに、501番目のアスパラギンがチロシンに変異したものの。

【本件に関する問い合わせ先】

富山大学学術研究部医学系 臨床分子病態検査学講座 准教授 仁井見 英樹
TEL. 076-434-7759, E-mail: hiniimi@med.u-toyama.ac.jp