

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「新興・再興感染症のリスク評価と危機管理機能の実装のための研究」
分担研究報告書

迅速診断キットのための抗体作成に関する研究

研究分担者 石井 健 東京大学医科学研究所ワクチン科学分野

研究要旨

新型コロナウイルスは、世界中で感染拡大が起これ、ワクチンが開発され接種が開始されているものの、未だ感染者数・死者数共に増加している。予防法としてワクチンの有用性は歴史が証明しており、実際に新型コロナウイルスに対するワクチンも高い有効性を示している。一方で、ワクチンの接種率は未だ低く、感染者に対する治療法が存在していないのが現状であり、ワクチンによって十分な獲得免疫応答を確立することができない場合、予防法を含め治療薬が存在していないことが問題である。本研究では、新型コロナウイルス感染症から回復した患者血液を用いて、新型コロナウイルスに対するモノクローナル抗体を単離し、迅速診断キットおよび治療用抗体の作製を目的とする。

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症に対する予防法としてワクチンは高い有効性を示しており、現在世界中で接種が行われている。一方で、感染者への治療法およびワクチンによって十分な免疫応答が獲得できない人に対しての予防法および治療法の開発に関しては、非常に遅れている。感染者への治療薬として、回復者血清療法や抗体投与などの研究開発が進められているが、劇的に症状を改善させる抗体の開発には至っていないのが現状である。そこで、本研究では新型コロナウイルス感染症患者回復後血液を用いて、新型コロナウイルスに対して特異的な抗体を単離し、新型コロナウイルス治療用抗体の作成および感染症迅速診断キットの作成を目的とする。

B. 研究方法

本研究では、感染症患者回復後血液として、重症化して回復した患者を含む複数の検体を用いて、新型コロナウイルス特異的抗体の単離を試みた。提供された血液から末梢血単核球を回収し、その後IgM陽性細胞を取り除いた。その後、Epstein-Barr virusを感染させることで、B細胞の不死化を行った。2週間培養後、新型コロナウイルスのスパイクタンパクに対する抗体を産生するB細胞を検出するために、anti-human IgGを2次抗体としてELISAを行った。また、抗体による新型コロナウイルスに対する中和活性を検討するために、中和実験を行った。

新型コロナウイルスのスパイクタンパクに対する抗体を産生するB細胞が得られたサンプルに関して、RNAを回収し、次世代シーケンサーを用いて配列決定を行った。同様に、新型コロナウイルス

のスパイクタンパクに結合する抗体を免疫沈降法により回収し、LC/MSを用いて得られた抗体の配列の決定を行った。得られた配列を用いてリコンビナント抗体を作製し、中和活性を調べた。その後、リコンビナント抗体を用いてin vivoでの抗ウイルス活性に関して検討を行った。

(倫理面への配慮)

使用された臨床検体は、東京大学医科学研究所倫理審査委員会にて承認を得ており、承認された研究計画書に従って実験を行った。

C. 研究結果

重症から回復した患者検体を用いて、新型コロナウイルススパイクタンパク特異的抗体の単離を行ったところ、11個のクローンの獲得に成功した。さらに、中和活性を検討したところ2個のクローンに関して十分な中和活性を有していることが明らかとなった。この2個のクローンに関してRNAシーケンスとLC/MSで得られた情報をもとに配列を決定し、リコンビナント抗体を作製した。作製したリコンビナント抗体でも新型コロナウイルスに対する中和活性が確認された。さらに、動物を用いた実験により、得られた抗体が新型コロナウイルスの感染を抑制することが明らかとなった。

D. 考察

本研究では、重症化患者から複数のスパイクタンパク特異的抗体を得ることができた。得られた抗体の一部でのみ中和活性が確認された。中和活性は非常に強かったことから、重症化患者ではより強力な抗体が誘導されていたことが示唆される。

また、リコンビナント抗体においても中和活性が確認されたことから、得られた抗体の配列は新型コロナウイルスに特異的に結合することが示された。中和活性を示さなかったが強力に結合する抗体も得られたことから、これらの抗体は治療薬ではなく、診断キットとしても有用であることが示唆された。

E. 結論

今回の研究により、重症化患者検体から中和活性を有する抗体の単離に成功し、またリコンビナント抗体がin vivoでも有用であることを示した。現在、ヒトでの応用のための配列の最適化および動物モデルを用いた有効性を示す投与量の最適化を行っている。

G. 研究発表

1. 論文発表

特許出願のためなし（論文投稿準備中）

2. 学会発表

特許出願のためなし（学会発表準備中）

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

特許出願

発明の名称： ヒト抗新型コロナウイルスモノクローナル抗体

出願日： 令和2年12月25日

出願番号： 特願2020-216173