

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）
分担研究報告書

小動物モデルを用いた血漿療法の有効性と安全性の検証

研究分担者 河岡 義裕
東京大学医科学研究所・教授

研究要旨

研究要旨 SARS-CoV-2 感染ハムスター にCOVID-19 から回復した患者血漿を投与したところ、肺におけるウイルス増殖が抑制された。また、回復者血漿投与ハムスター群における体重減少の程度と肺における炎症の程度は、健常者血漿投与ハムスター群と比較して小さかった。これらの成績は血漿療法がCOVID-19に対する治療法として有効であることを示している。

A. 研究目的

本研究では、ハムスターモデルを用いて、COVID-19 患者の回復期から採取した血漿がCOVID-19 に対する治療法として有効であるのかどうかを検証した。

B. 研究方法

ハムスターに SARS-CoV-2 を感染させた後、中和抗体価が検出された患者血漿を腹腔内に投与した。患者血漿の効果を調べるために、血漿を投与した感染動物の肺におけるウイルス量を測定した。また、感染動物の体重変化など臨床症状を観察した。さらに、コンピュータ断層撮影法（CT）を用いて、感染動物の肺を2週間観察した。
（倫理面への配慮）

ハムスターを用いる実験では、東京大学が定める「実験動物実施規則」を遵守した。ハムスターを取り扱う際には苦痛の軽減や、安楽死の方法など、動物愛護上の配慮を行った。ハムスターのウイルス接種の実験では、鎮静・鎮痛・筋弛緩剤を混合した塩酸ケタミンの投与もしくはガス麻酔（イソフルラン）を用いた。安楽殺時には致死量以上の麻酔薬の投与を行った。

C. 研究結果と考察

SARS-CoV-2を感染させたハムスターに回復者4名（D43, D73, D84, D91）の血漿を感染後1日目に腹腔内から投与した。感染後4日目に肺を採取してウイルス量を測定した。回復者D43の血漿を投与した群で検出されたウイルス量は、対照群（健常者血漿投与ハムスター）の10分の1程度であった。一方、残りの3名（D73, D84, D91）の回復者血漿を投与した群におけるウイルス量は、対照群と同程度であった。感染動物の体重変化を2週間測定したところ、回復者血漿投与群（D43, D73, D84, D91）における体重減少率は、対照群よりも小さかった。また、CTを用いて感染動物の肺を2週間観察したところ、回復者D43の血漿投与群の肺における病変は、対照群よりも早期に消失した。このように、血漿療法がSARS-CoV-2に対する治療法として有効であることが動物モデルを用いた解析から示された。

E. 結論

COVID-19 患者の回復期から採取した血漿はCOVID-19 に対する治療法として有効である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kingstad-Bakke B, Toy R, Lee W, Pradhan P, Vogel G, Marinaik CB, Larsen A, Gates D, Luu T, Pandey B, Kawaoka Y, Roy K, Suresh M. Polymeric Pathogen-Like Particles-Based Combination Adjuvants Elicit Potent Mucosal T Cell Immunity to Influenza A Virus. *Front Immunol.* 2021, 11, 559382. doi: 10.3389/fimmu.2020.559382.
- 2) Takashita E, Kawakami C, Momoki T, Saikusa M, Shimizu K, Ozawa H, Kumazaki M, Usuku S, Tanaka N, Okubo I, Morita H, Nagata S, Watanabe S, Hasegawa H, Kawaoka Y. Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease-19 pandemic. *Influenza Other Respir Viruses.* 2021. doi: 10.1111/irv.12854.
- 3) Ravichandran S, Lee Y, Grubbs G, Coyle EM, Klenow L, Akasaka O, Koga M, Adachi E, Saito M, Nakachi I, Ogura T, Baba R, Ito M, Kiso M, Yasuhara A, Yamada S, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Yamayoshi S, Yotsuyanagi H, Kawaoka Y, Khurana S. Longitudinal antibody repertoire in "mild" versus "severe" COVID-19 patients reveals immune markers associated with disease severity and resolution. *Sci Adv.* 2021, 7, eabf2467. doi: 10.1126/sciadv.abf2467.
- 4) Yamayoshi S, Yasuhara A, Ito M, Akasaka O, Nakamura M, Nakachi I, Koga M, Mitamura K, Yagi K, Maeda K, Kato H, Nojima M, Pattinson D, Ogura T, Baba R, Fujita K, Nagai H, Yamamoto S, Saito M, Adachi E, Ochi J, Hattori SI, Suzuki T, Miyazato Y, Chiba S, Okuda M, Murakami J, Hamabata T,

- Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima H, Mitsuya H, Omagari N, Sugaya N, Yotsuyanagi H, Kawaoka Y. Antibody titers against SARS-CoV-2 decline, but do not disappear for several months. *EClinicalMedicine*. 2021, 32, 100734. doi: 10.1016/j.eclinm.2021.100734.
- 5) Braun KM, Moreno GK, Halfmann PJ, Hodcroft EB, Baker DA, Boehm EC, Weiler AM, Haj AK, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Kawaoka Y, Koelle K, O'Connor DH, Friedrich TC. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats imposes a narrow bottleneck. *PLoS Pathog*. 2021, 17, e1009373. doi: 10.1371/journal.ppat.1009373.
- 6) Koff WC, Schenkelberg T, Williams T, Baric RS, McDermott A, Cameron CM, Cameron MJ, Friemann MB, Neumann G, Kawaoka Y, Kelvin AA, Ross TM, Schultz-Cherry S, Mastro TD, Priddy FH, Moore KA, Ostrowsky JT, Osterholm MT, Goudsmit J. Development and deployment of COVID-19 vaccines for those most vulnerable. *Sci Transl Med*. 2021, 13, eabd1525. doi: 10.1126/scitranslmed.abd1525.
- 7) Chiba S, Halfmann PJ, Hatta M, Maemura T, Fan S, Armbrust T, Swartley OM, Crawford LK, Kawaoka Y. Protective Immunity and Persistent Lung Sequelae in Domestic Cats after SARS-CoV-2 Infection. *Emerg Infect Dis*. 2021, 27, 660-663. doi: 10.3201/eid2702.203884.
- 8) Guthmiller JJ, Stovicek O, Wang J, Changrob S, Li L, Halfmann P, Zheng NY, Utset H, Stamper CT, Dugan HL, Miller WD, Huang M, Dai YN, Nelson CA, Hall PD, Jansen M, Shanmugarajah K, Donington JS, Krammer F, Fremont DH, Joachimiak A, Kawaoka Y, Tesic V, Madariaga ML, Wilson PC. SARS-CoV-2 Infection Severity Is Linked to Superior Humoral Immunity against the Spike. *mBio*. 2021, 12, e02940-20. doi: 10.1128/mBio.02940-20.
- 9) Yamayoshi S, Kawaoka Y. Emergence of SARS-CoV-2 and its outlook. *Glob Health Med*. 2020, 2, 1-2. doi: 10.35772/ghm.2020.01009.
- 10) Yamayoshi S, Sakai-Tagawa Y, Koga M, Akasaka O, Nakachi I, Koh H, Maeda K, Adachi E, Saito M, Nagai H, Ikeuchi K, Ogura T, Baba R, Fujita K, Fukui T, Ito F, Hattori SI, Yamamoto K, Nakamoto T, Furusawa Y, Yasuhara A, Ujie M, Yamada S, Ito M, Mitsuya H, Omagari N, Yotsuyanagi H, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Kawaoka Y. Comparison of Rapid Antigen Tests for COVID-19. *Viruses*. 2020, 12, 1420. doi: 10.3390/v12121420.
- 11) Hou YJ, Chiba S, Halfmann P, Ehre C, Kuroda M, Dinnon KH 3rd, Leist SR, Schafer A, Nakajima N, Takahashi K, Lee RE, Mascenik TM, Graham R, Edwards CE, Tse LV, Okuda K, Markmann AJ, Bartelt L, de Silva A, Margolis DM, Boucher RC, Randell SH, Suzuki T, Gralinski LE, Kawaoka Y, Baric RS. SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. *Science*. 2020, 370, 1464-1468. doi: 10.1126/science.abe8499.
- 12) Moreno GK, Braun KM, Riemersma KK, Martin MA, Halfmann PJ, Crooks CM, Prall T, Baker D, Baczenas JJ, Heffron AS, Ramuta M, Khubbar M, Weiler AM, Accola MA, Rehauer WM, O'Connor SL, Safdar N, Pepperell CS, Dasu T, Bhattacharyya S, Kawaoka Y, Koelle K, O'Connor DH, Friedrich TC. Revealing fine-scale spatiotemporal differences in SARS-CoV-2 introduction and spread. *Nat Commun*. 2020, 11, 5558. doi: 10.1038/s41467-020-19346-z.
- 13) Ueki H, Furusawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Kabata H, Nishimura H, Kawaoka Y. Effectiveness of Face Masks in Preventing Airborne Transmission of SARS-CoV-2. *mSphere*. 2020, 5, e00637-20. doi: 10.1128/mSphere.00637-20.
- 14) Marinaik CB, Kingstad-Bakke B, Lee W, Hatta M, Sonsalla M, Larsen A, Neldner B, Gasper DJ, Kedl RM, Kawaoka Y, Suresh M. Programming Multifaceted Pulmonary T Cell Immunity by Combination Adjuvants. *Cell Rep Med*. 2020, 1, 100095. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100095.
- 15) Westmark CJ, Kiso M, Halfmann P, Westmark PR, Kawaoka Y. Repurposing Fragile X Drugs to Inhibit SARS-CoV-2 Viral Reproduction. *Front Cell Dev Biol*. 2020, 8, 856. doi: 10.3389/fcell.2020.00856.
- 16) Uwamino Y, Nagata M, Aoki W, Fujimori Y, Nakagawa T, Yokota H, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Shiraki T, Uchida S, Uno S, Kabata H, Ikemura S, Kamata H, Ishii M, Fukunaga K, Kawaoka Y, Hasegawa N, Murata M. Accuracy and stability of saliva as a sample for reverse transcription PCR detection of SARS-CoV-2. *J Clin Pathol*. 2021, 74, 67-68. doi: 10.1136/jclinpath-2020-206972.
- 17) Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Loeber S, Halfmann PJ, Nakajima N, Watanabe T, Ujie M, Takahashi K, Ito M, Yamada S, Fan S, Chiba S, Kuroda M, Guan L, Takada K, Armbrust T, Balogh A, Furusawa Y, Okuda M, Ueki H, Yasuhara A, Sakai-Tagawa Y, Lopes TJS, Kiso M, Yamayoshi S, Kinoshita N, Ohmagari N, Hattori SI, Takeda M, Mitsuya

H, Krammer F, Suzuki T, Kawaoka Y. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020, 117, 16587-16595. doi: 10.1073/pnas.2009799117.

18) Yamamoto M, Kiso M, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Takeda M, Kinoshita N, Ohmagari N, Gohda J, Semba K, Matsuda Z, Kawaguchi Y, Kawaoka Y, Inoue JI. The Anticoagulant Nafamostat Potently Inhibits SARS-CoV-2 S Protein-Mediated Fusion in a Cell Fusion Assay System and Viral Infection In Vitro in a Cell-Type-Dependent Manner. *Viruses*. 2020, 12, 629. doi: 10.3390/v12060629.

19) Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, Kinoshita N, Hattori SI, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Kawaoka Y. Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *N Engl J Med*. 2020, 383, 592-594. doi: 10.1056/NEJMc2013400.

20) Azekawa S, Namkoong H, Mitamura K, Kawaoka Y, Saito F. Co-infection with SARS-CoV-2 and influenza A virus. *IDCases*. 2020, 20, e00775. doi: 10.1016/j.idcr.2020.e00775.

21) Saito M, Adachi E, Yamayoshi S, Koga M, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y, Yotsuyanagi H. Gargle lavage as a safe and sensitive alternative to swab samples to diagnose COVID-19: a case report in Japan. *Clin Infect Dis*. 2020, 71, 893-894. doi: 10.1093/cid/ciaa377.

2.学会発表

1) SARS-CoV-2: What We Have Learned So Far, Yoshihiro Kawaoka, United States-Japan Cooperative Medical Sciences Program: Virtual Workshop on COVID-19, 2021/2/26, 国外 (オンライン) 、口頭

2) SARS-CoV-2: What We Have Learned So Far, Yoshihiro Kawaoka, "Health One" International Forum 2021 in Fukuoka, 2021/1/30, 国内 (オンライン) 、口頭

3) 新型コロナウイルス: これまでに分かったこと、河岡義裕、第10回日本マーモセット研究会大会、2021/1/27、国内 (オンライン)、口頭

4) SARS-CoV-2: What We Have Learned So Far, Yoshihiro Kawaoka, The 19th International Conference on Bioinformatics (InCoB 2020), 2020/11/25, 国外 (オンライン) 、口頭

5) 「新型コロナウイルス: これまでに分かったこと」、河岡義裕、第100回 慶應医学学会総会・シンポジウム、2020/11/21、国内 (オンライン) 、口頭

6) 「新型コロナウイルス研究の最先端～新たな日常における予防と治療の確立を目指して～」、河岡義裕、第9回織田記念国際シンポジウム、2020/11/10、国内 (オンライン) 、口頭

7) 「新興感染症の制圧を目指して」、河岡義裕、第94回日本感染症学会学術講演会、2020/8/21、国内 (オンライン) 、口頭

F. 知的財産権の出願・登録状況
なし