

令和3年 6月 16日

報道機関 各位

富山大学独自のコア技術を結集し、
新型コロナウイルスの多種の変異株感染を防御できる
ヒト・スーパー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ています。

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は、1つの抗体で新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の野生株だけでなく、多種の変異株(アルファ株、ベータ株、カッパ株、デルタ株、等)を防御できる(図1)高力価(IC50:12~45 ng/ml)なヒト型・モノクローナル中和抗体(開発番号:28K)を新たに取得し、人工的な抗体作出に成功しました。この中和抗体(28K)は「1つの抗体で多種の変異株の感染を阻害できる」現時点で最も理想的な抗体であるため、我々は「スーパー中和抗体」と命名しました。スーパー中和抗体(28K)が感染防御できるSARS-CoV-2の変異株を以下に列挙します(分かり易く説明するため、変異株名は旧名称の国名を併記させていただきます)。

- ・野生株: 武漢で最初に発見されたSARS-CoV-2ウイルスの原型
- ・B.1.1.7 (Alpha, 英国): スパイク蛋白質のRBDにN501Y変異を有する
- ・B.1.351 (Beta, 南アフリカ): スパイク蛋白質のRBDにK417N/E484K/N501Y変異を有する
- ・B.1.617.1 (Kappa, インド): スパイク蛋白質のRBDにL452R/E484Q変異を有する
- ・B.1.617.2 (Delta, インド): スパイク蛋白質のRBDにL452R/T478K変異を有する
- ・B.1.427/429 (Epsilon, カリフォルニア): スパイク蛋白質のRBDにL452R変異を有する

なお、P.1 (Gamma, ブラジル)もB.1.351 (Beta, 南アフリカ)と同じ変異部位にK417T/E484K/N501Y変異を有するため、スーパー中和抗体(28K)が同様に感染防御できると思われますが、実験による確認(中和活性測定)は未実施です。



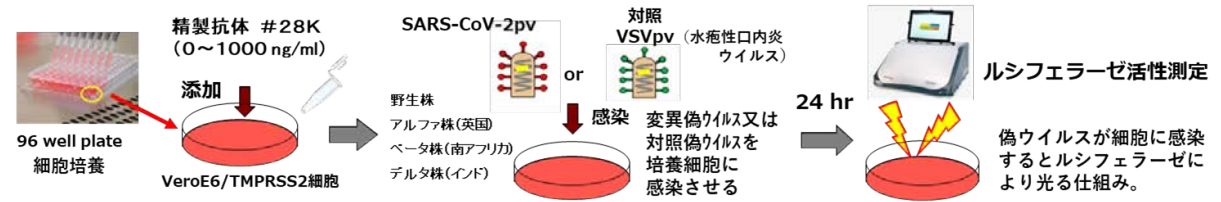
富山大学の強みは「世界最速レベルで抗体を作製し性能評価できる技術」(図2)であり、14の国内外特許を取得しています。「高力価中和抗体を持つ患者を迅速に選定できる技術」から始まり、「中和抗体を産生する細胞1個をチップ上で補足しその遺伝子を取り出す技術」、「得られた遺伝子より大量の抗体を作り出す技術」、そして「人工疑似ウイルスを用いた感染実験から抗体を迅速に評価する技術」などです。これらを組み合わせると従来2か月以上かかる行程が1~2週間で、目的とする抗体を作製することができます。

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蛋白質がヒトのACE2受容体に結合することで感染します(図3)。今回取得したスーパー中和抗体は、スパイク蛋白質に直接結合し、各種変異株の特異的エピトープに被ることなくACE2との結合を阻害する結果、新型コロナウイルスの多種の変異株の感染を防御することが出来ます。

研究グループでは先ず、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)。こ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)抗体を特定し、最終的に多種の変異株の感染を防御するスーパー中和抗体28Kを取得することに成功しました。スーパー中和抗体28K取得に関しては、令和3年6月14日に特許を出願しました。

取得したスーパー中和抗体28K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治療薬として役立つことが期待されます。利用法として、軽症・中等症から急激にウイルスが増殖し重症化に移行する段階で迅速に投与すると、重症化を強力に抑制できる(=救命率向上に貢献できる)と考えています。また、28Kは既存の変異部位を避け、「SARS-CoV-2の感染にとって重要な部分と結合する」と推定されるため、新たな変異株に対しても防御できる可能性があり、新規変異株流行を早期に制圧できる可能性を秘めています。富山大学は今後、製薬会社との共同事業化等により実用化に向けた対応を急ぎたいと考えています。

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)、文部科学省国立大学改革強化推進補助金、内閣府地方大学・地域産業創生交付金「くすりのシリコンバレーTOYAMA」創造コンソーシアムの支援を受けて行われました。



% of reduction (ルシフェラーゼ活性減少率: 抗体なしを100%として表記)

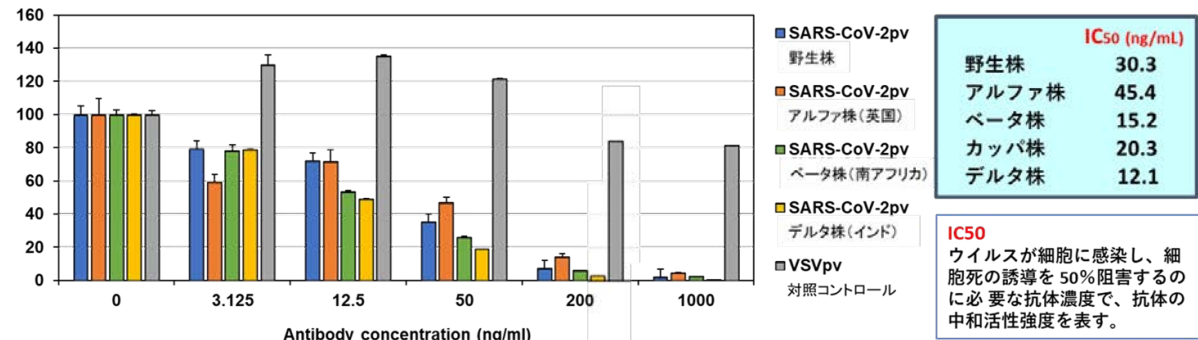


図1. 多種の変異株に対するスーパー中和抗体 28K の中和活性（感染阻害力）の確認

SARS-CoV-2 pseudo-type virus（人工疑似ウイルス）を用いた中和活性測定実験。中和抗体 28K の投与により、多種の変異株の感染を強力（IC50: 12-45 ng/ml）に阻害することが出来ました。従って 28K は現時点では最も理想的な「スーパー中和抗体」であると考えられます。

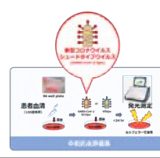
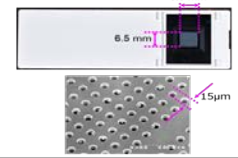
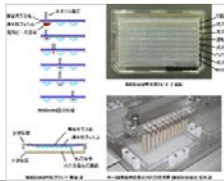
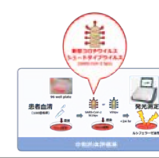
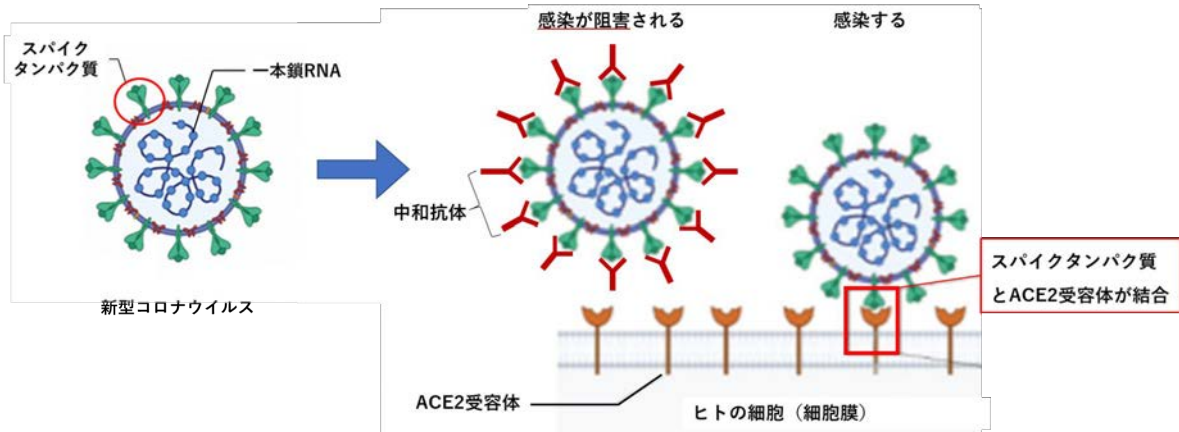
作出ステップ	① 高力価中和抗体を持つ患者の選定	② 中和抗体を産生するリンパ球を単離	③ 目的の中和抗体を大規模に作出	④ 最も高力価な中和抗体を選定
学内連携体制	附属病院：感染症科 附属病院：検査部 医学部：微生物学講座	医学部：免疫学講座 工学部：遺伝情報工学	医学部：免疫学講座 工学部：遺伝情報工学	医学部：免疫学講座 工学部：遺伝情報工学 医学部：微生物学講座
富山大学独自のコア技術	Pseudo-Type Virusを用いた抗体の中和活性測定 	リンパ球チップ 6.5 mm 15µm 	ISAAC法・MAGrad法 TS-jPCR法 	Pseudo-Type Virusを用いた抗体の中和活性測定 
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
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！（世界最速レベルの技術）		従来法の10分の1以下の作業時間と日数で実施できる

図2. 中和抗体作製とその評価に関する富山大学独自の技術

富山大学独自のコア技術の結集（14の国内・外国特許を取得）により、僅か1週間程度（従来では2~3ヶ月以上）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。本技術にて、今迄に30種類以上の抗原に対して350種類以上の抗体を作製した実績があります。



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蛋白質がヒトの ACE2 受容体に結合することで感染します。今回取得したスーパー中和抗体は、スパイク蛋白質に直接結合し、各種変異株の特異的エピトープに被ることなく ACE2 との結合を阻害する結果、新型コロナウイルスの多種の変異株の感染を防御することが期待できます。

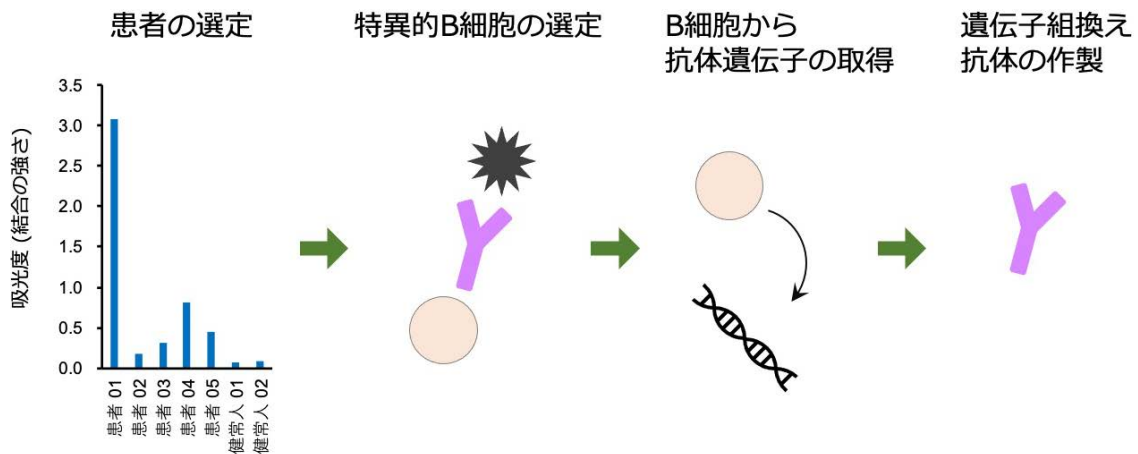


図4. 中和抗体作製の流れ

抗体価の高かった患者 (Pt01) の末梢血 B 細胞より、スパイク蛋白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。この抗体の中から中和活性の特に高い抗体を特定し、最終的に多種の変異株の感染を防御するスーパー中和抗体 28K を取得することに成功しました。



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。

スパイク蛋白質 : 新型コロナウイルスの粒子表面に存在する蛋白質。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。

RBD : スパイク蛋白質内にある ACE2 受容体と結合する部分。

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

K417N、K417T、L452R、E484K、E484Q、N501Y 変異 : それぞれ 417 番目のリシンがアスパラギンに、417 番目のリシンがスレオニンに、452 番目のロイシンがアルギニンに、484 番目のグルタミン酸がリシンに、484 番目のグルタミン酸がグルタミンに、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】

富山大学総務部総務課広報・基金室

TEL. 076-445-6028, E-mail: kouhou@u-toyama.ac.jp

富山大学独自のコア技術を結集し、 新型コロナウイルスの多種の変異株感染を 防衛できるヒト・スーパー中和抗体を新規に取得

国立大学法人富山大学

学 長

齋 藤 滋

理事・副学長

北 島 勲

学術研究部医学系准教授

仁井見 英樹

学術研究部医学系准教授

小 澤 龍彦

学長リーダーシップの下、 新型コロナと闘う病院・医工連携体制を整備

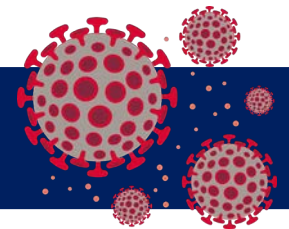
診療

附属病院の新型コロナ感染症診療を強靱化
重症患者受け入れ体制とPCR検査を強化

研究

富山大学が有する世界最速レベルの抗体作製技術を集結し、
新型コロナ感染症に対する中和抗体治療を研究

「富山大学の知の結集」体制で、
COVID-19と戦うヒト型高力価中和抗体を迅速に作出



ヒト・スーパー中和抗体作出のための病院・医工連携体制

附属病院



山本 善裕・教授 **(感染予防医学)**

- ・対象患者の選定
- ・高力価中和抗体を有する患者の選定

仁井見英樹・検査部長 **(検査部)**

- ・全体の統括
- ・抗体の品質・安全性評価

医学部



森永 芳智・教授 **(微生物学)**

- ・対象患者の選定
- ・高力価中和抗体の選定

小澤 龍彦・准教授、岸 裕幸・教授 **(免疫学)**

- ・リンパ球の単離
- ・高力価中和抗体の作出

工学部



磯部 正治・教授、黒澤 信幸・教授 **(遺伝情報工学)**

- ・リンパ球、monoclonal抗体の単離
- ・高力価中和抗体の作出



富山県衛生研究所

谷 英樹・部長

(ウイルス部)

- ・対象患者の選定検査
- ・高力価中和抗体の選定

新型コロナウイルス関連の研究経緯・成果発表状況

- | | | |
|------|-------|---------------------------------------|
| 令和2年 | 8月 | 学内予算（学長裁量経費）による研究開始
⇒組織化・プロトコール等整備 |
| | 11月 | 実施計画書承認（学内倫理審査委員会） |
| | 12月 | 中和抗体作出・抗体評価実施 |
| 令和3年 | 3月 | 特許出願（中和抗体物質） |
| | 4月1日 | 文部科学省 国立大学改革強化推進補助金に採択 |
| | 4月9日 | プレスリリース（中和抗体取得） |
| | 5月17日 | プレスリリース（抗原迅速検査キット） |
| | 6月2日 | プレスリリース（抗体の量・質調査） |
| | 6月14日 | 特許出願（スーパー中和抗体） |
| | 6月16日 | プレスリリース（スーパー中和抗体取得） |

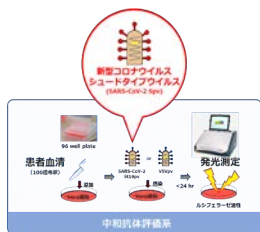
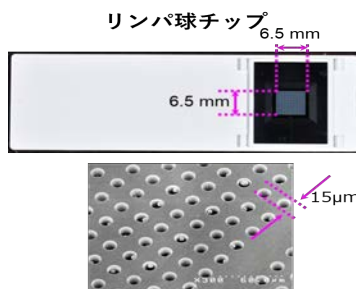
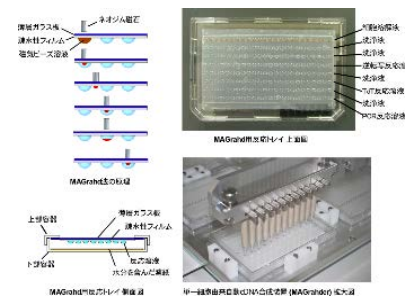
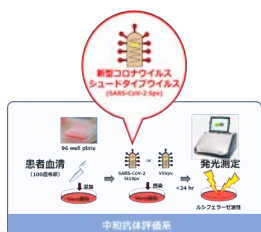


独自のコア技術
を結集

14の国内・外国
特許を取得



- 世界最速レベル（1 - 2週間）で抗体を作製し、抗体の性能を迅速に評価できる技術を有する
- 各工程のエキスパートを揃えたシームレスな連携体制の構築

作出ステップ	① 高力価中和抗体を持つ患者の選定	② 中和抗体を産生するリンパ球を単離	③ 目的の中和抗体を大規模に作出	④ 最も高力価な中和抗体を選定
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
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 	・ISAAC法・MAGrahd法 ・TS-jPCR法 	Pseudo-Type Virus を用いた抗体の 中和活性測定 
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	抗原特異的抗体を確実に かつハイスループット 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
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！（世界最速レベルの技術）		従来法の10分の1 以下の作業時間と日 数で実施できる

* 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

抗体作出の各工程

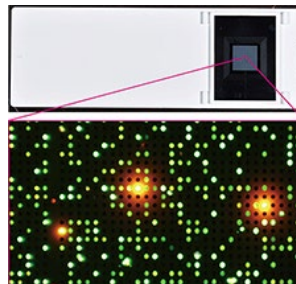
(グループ統括: 医学部臨床分子病態検査学講座 仁井見英樹・准教授)

- 採血⇒検査 (抗原検査・PCR検査)
- 採血⇒リンパ球を採取



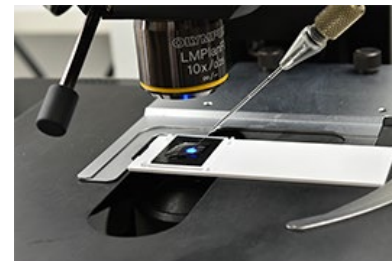
(附属病院感染予防医学: 山本善裕・教授)
(附属病院検査部: 仁井見英樹・検査部長)
(医学部微生物学講座: 森永芳智・教授)

ISAAC法によるリンパ球1個を分別

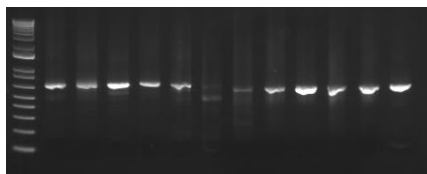


(医学部免疫学講座: 小澤龍彦・准教授、岸裕幸・教授)

目的とするリンパ球1個を採取

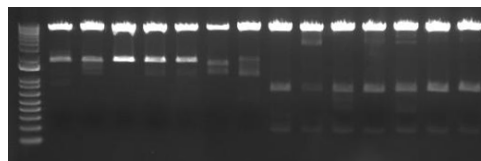


単一細胞 RT-PCR法による
抗体可変領域を増幅



(医学部免疫学講座: 小澤龍彦・准教授、岸裕幸・教授)
(工学部遺伝情報工学: 磯部正治・教授、黒澤信幸・教授)

抗体をクローニング
(同一遺伝子を持つ抗体選ぶ)



DNA 遺伝子配列決定

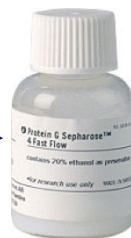


得られた遺伝子から抗体を作製



(医学部免疫学講座: 小澤龍彦・准教授、岸裕幸・教授)
(工学部遺伝情報工学: 磯部正治・教授、黒澤信幸・教授)

精製



分析・評価



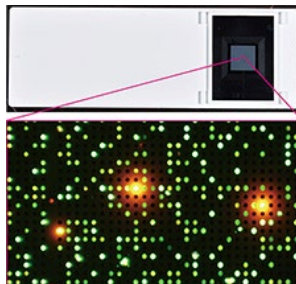
(富山県衛生研究所・ウイルス部: 谷英樹・部長)
(医学部微生物学講座: 森永芳智・教授)
(医学部免疫学講座: 小澤龍彦・准教授、岸裕幸・教授)

- ・採血⇒検査 (抗原検査・PCR検査)
- ・採血⇒リンパ球を採取



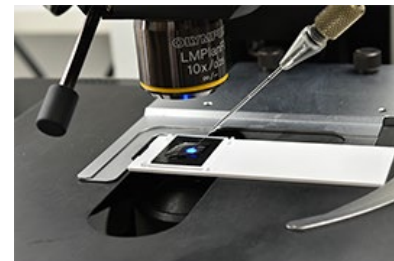
(附属病院感染予防医学: 山本善裕・教授)
(附属病院検査部: 仁井見英樹・検査部長)
(医学部微生物学講座: 森永芳智・教授)

ISAAC法によるリンパ球1個を分別



(医学部免疫学講座: 小澤龍彦・准教授、岸裕幸・教授)

目的とするリンパ球1個を採取



富山大学の特徴と強み

各工程のエキスパートを揃えたシームレスな連携体制が構築されている。

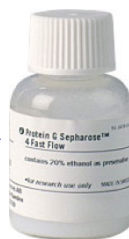
(工学部遺伝情報工学: 磯部正治・教授、黒澤信幸・教授)

得られた遺伝子から抗体を作製



(医学部免疫学講座: 小澤龍彦・准教授、岸裕幸・教授)
(工学部遺伝情報工学: 磯部正治・教授、黒澤信幸・教授)

精製

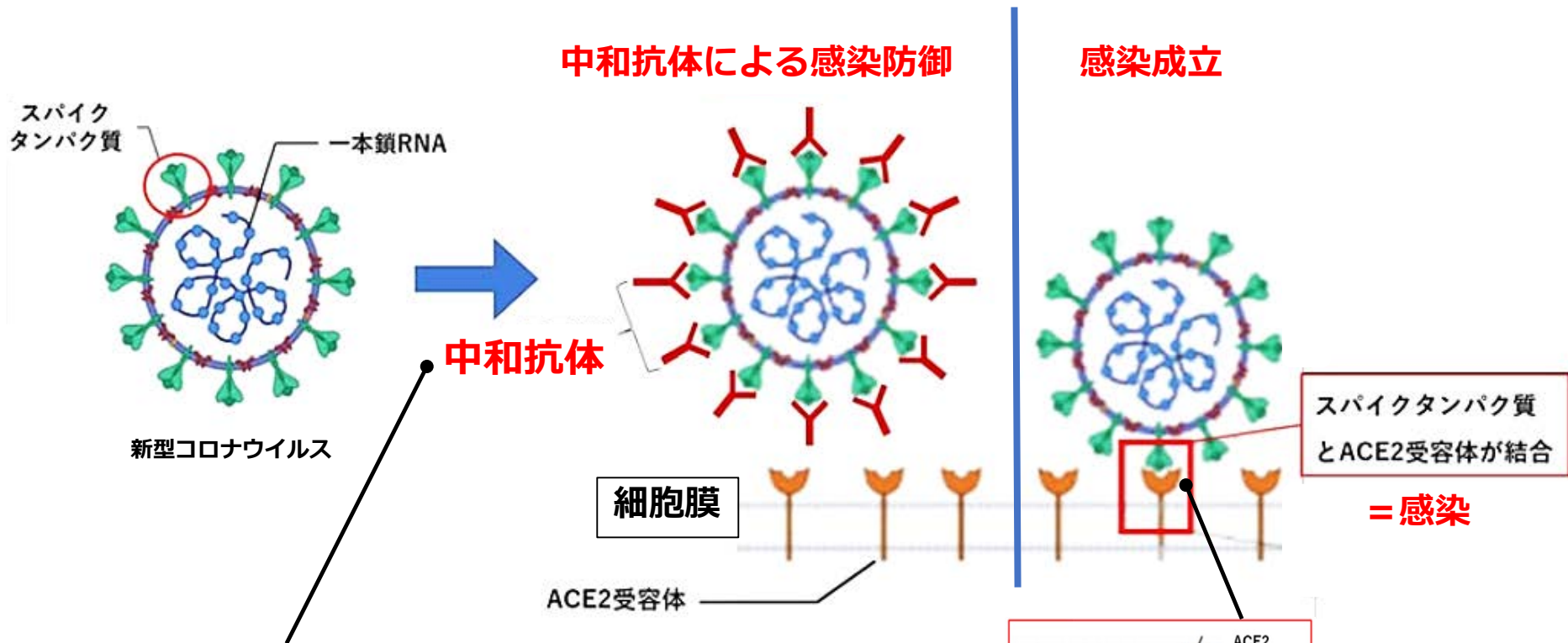


分析・評価

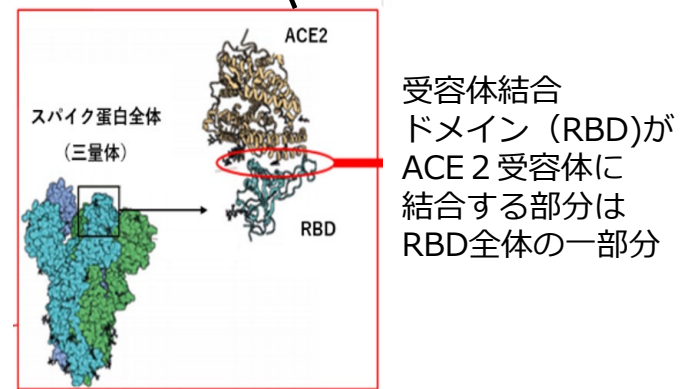


(富山県衛生研究所・ウイルス部: 谷英樹・部長)
(医学部微生物学講座: 森永芳智・教授)
(医学部免疫学講座: 小澤龍彦・准教授、岸裕幸・教授)

新型コロナウイルスが細胞に感染する仕組みと 中和抗体が感染防御できる機序

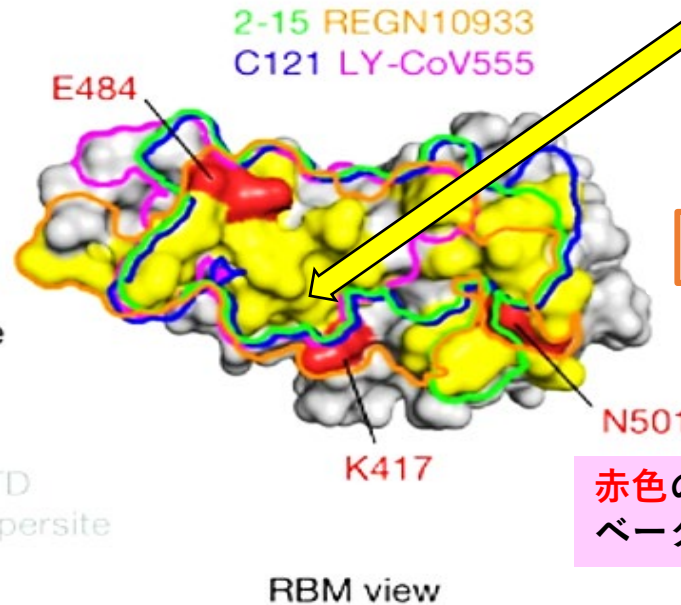
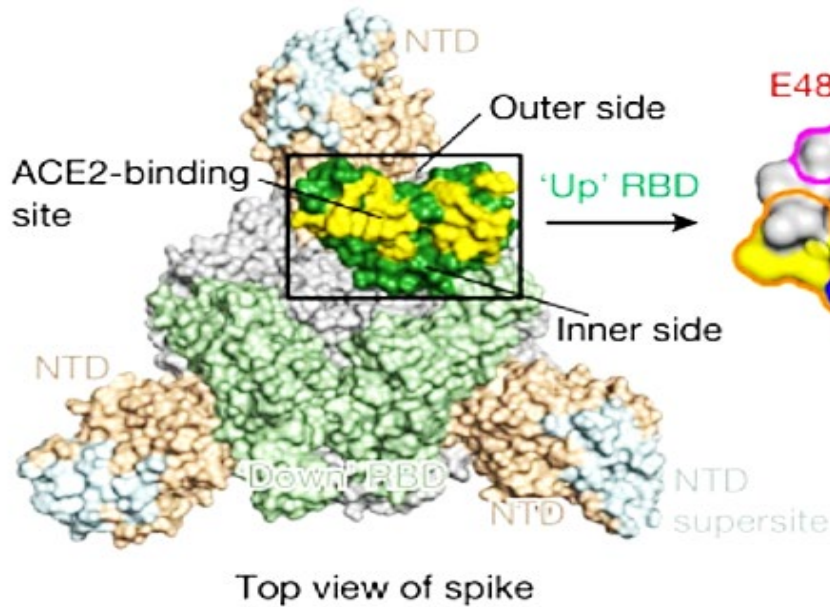


中和抗体は、スパイクタンパク質に直接結合し、ACE2との結合を阻害する結果、COVID-19感染を防御できる。

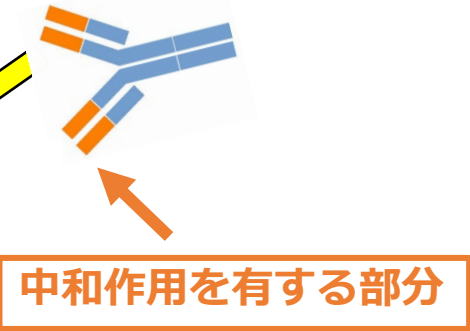


我々が作製した「ヒト・スーパー中和抗体」とは？

Nature volume 593, 130–135
(2021) 改変引用



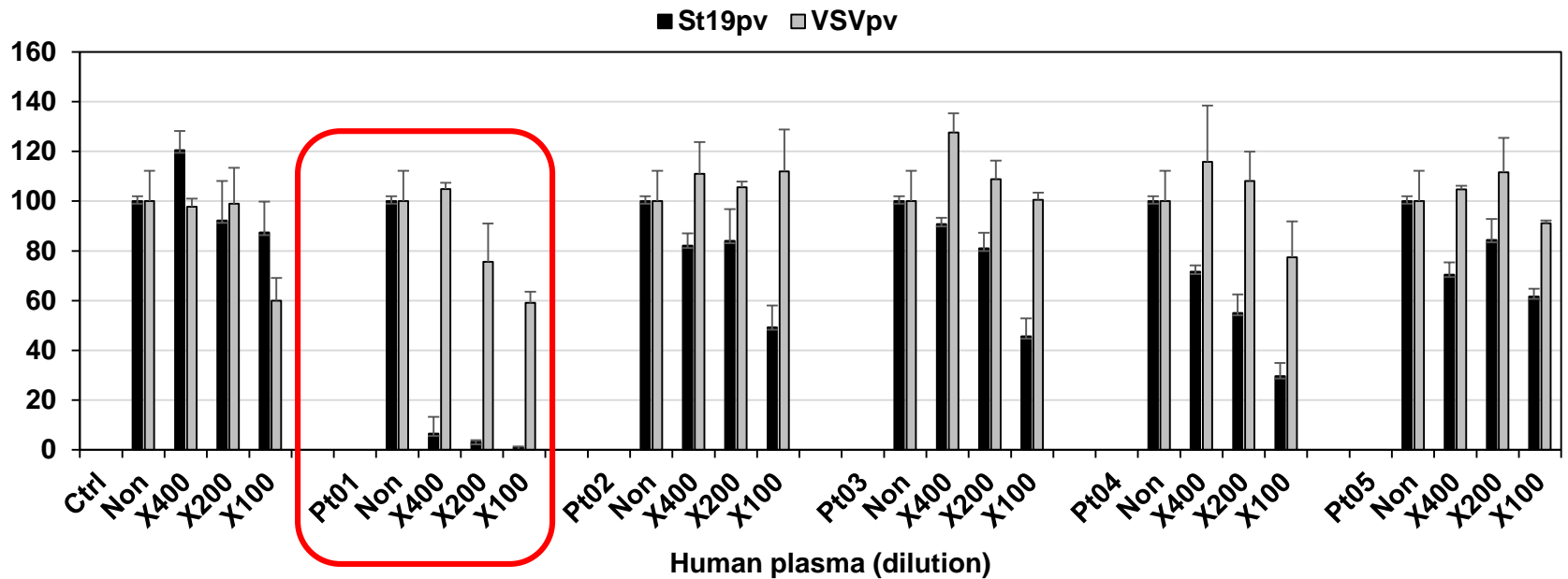
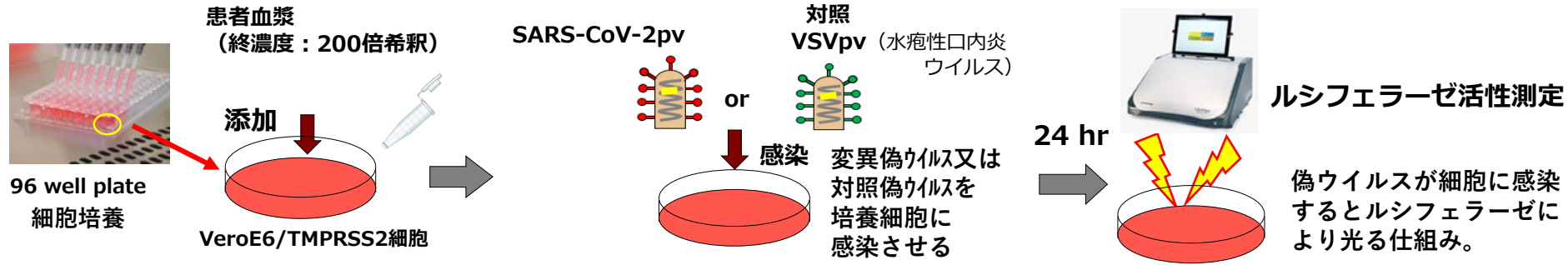
スーパー中和抗体の標的部



赤色のN501Y, K417N, E484K
ベータ株（南アフリカ）の変異

- 今は、**数種類**の中和抗体をカクテルにして変異株の治療に利用している。
- ACE2-binding site（黄色）に結合し、変異株の特異的エピトープ（図の**赤色**はベータ株の変異部位を示す）には被らない抗体を見出した。
- 1つのクローンから産生される抗体の中で、既存すべての変異株の感染を阻止できるものを我々は「**スーパー中和抗体**」と命名した。

抗体作出のためのCOVID-19患者選定 - 血漿によるウイルス中和実験 -



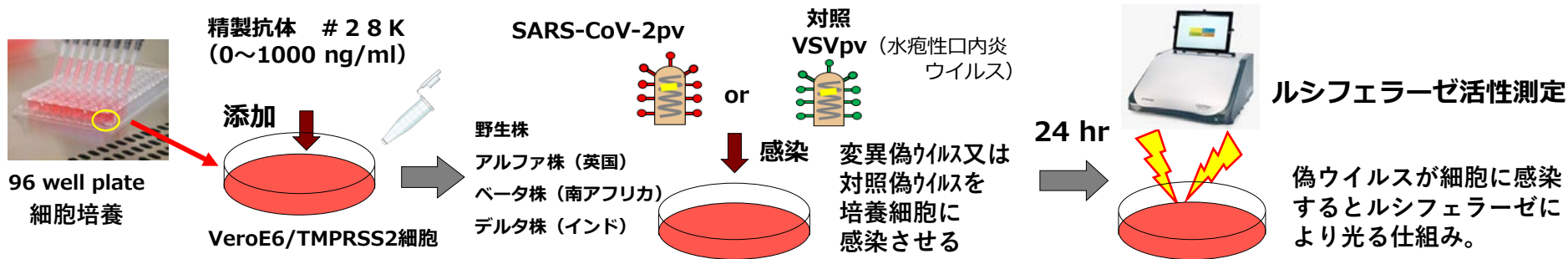
回復患者 (Pt 01) 由来血漿には、(シュード)ウイルスを中和する抗体が含まれている



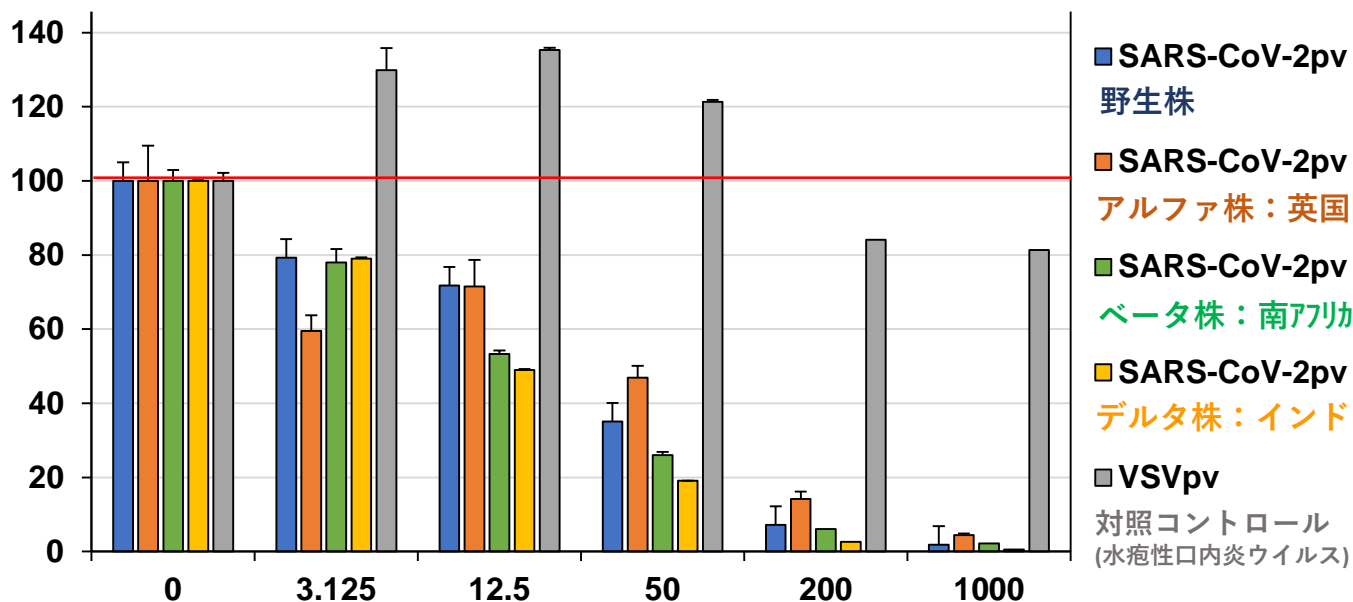
Pt 01由来Bリンパ球より中和抗体を作出することとした

ヒト・モノクローナル抗体 (28K) は野生株だけでなく、アルファ株、ベータ株、デルタ株それぞれに高い中和活性を示す

SARS-CoV-2シュードタイプウイルスに対する28K中和抗体による感染阻害



(ルシフェラーゼ活性減少率: 抗体なしを100%)



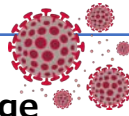
IC50
ウイルスが細胞に感染し、細胞死の誘導を50%阻害するのに必要な抗体濃度で、抗体の中和活性強度を表す。

ウイルス株	IC50 (ng/mL)
野生株	30.3
アルファ株 (英国)	45.4
ベータ株 (南アフリカ)	15.2
デルタ株 (インド)	12.1

中和抗体28K投与により多種の変異株への感染が強力 (IC50:12-45ng/mL) に抑えることができた。現時点では**最も理想的な「スーパー中和抗体」**であると考えられる。

ヒト・スーパー中和抗体 (28K)が感染防御できることが確認できた SARS-CoV-2変異株

(2021年6月16日現在)



WHO label	Pango. lineage	スパイク蛋白質 RBD変異	スーパー中和抗体 28K	Sotrovi mab ※1	Casirvi mab ※2	Imdevi mab ※2	Bamlani vimab ※3	Etesevi mab ※3
Alpha	B.1.1.7 (英国)	N501Y	○	○	○	○	○	○
Beta	B.1.351 (南アフリカ)	K417N/E484K/N501Y	○	○	↓	○	↓	↓
Gamma	P.1 (ブラジル)	K417T/E484K/N501Y	確認中 ※4	○	↓	○	↓	↓
Kappa	B.1.617.1 (インド)	L452R/E484Q	○					
Delta	B.1.617.2 (インド)	L452R/T478K	○					
Epsilon	B.1.427/429 (カリフォルニア)	L452R	○	○				

※1 : グラクソ・スミスクライン(英国)とVir Biotechnology, Inc (米国)が開発. 米国食品医薬局 (FDA)より緊急使用許可(EUA)(2021年5月26日)

※2 : ロシュ社 (スイス)が開発し、casirvimabとimdevimabの抗体カクテル療法による臨床試験中

※3 : イーライリリー社 (米国)が開発、bamlanivimabとetesevimabの併用療法の緊急使用許可をFDAより取得 (2021年3月2日)

※4 Gamma P.1 (ブラジル)もBeta B.1.351 (南アフリカ)と同じ変異部位にK417T/E484K/N501Y変異を有するため、スーパー中和抗体 (28K)がBeta同様に感染防御できると思われるが、実験による確認 (中和活性測定)は未実施 (確認中)

上記図表は右記公表資料
を基に富山大学作成

<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/statement-on-anti-sars-cov-2-monoclonal-antibodies-eua/>
<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/anti-sars-cov-2-antibody-products/anti-sars-cov-2-monoclonal-antibodies/>

28Kは、先行する海外中和抗体と同等以上 (デルタ株を含む) の変異株をカバーできかつ中和抗体力価も遜色がないため、現時点では**最も理想的な「スーパー中和抗体」**であると考えられる。



この抗体は、**重症新型コロナウイルス感染症から回復し、2週間以上経た患者血液**から選別された経緯がある。

● ヒト・スーパー中和抗体（28K）の利用方法

- ① 軽症・中等度患者が急激に体内でウイルスが増殖し、重症化に移行する状態の治療に有用でないかと考える。
 - ⇒ **重症化前**のウイルス増殖時期に**迅速**に投与する。
 - ⇒ 重症化予防による救命率を高め、医療資源の確保に貢献できる。
- ② 28Kは既存の変異部位を避け、**SARS-CoV-2感染に共通した変異する可能性の低い重要な部分を標的**とすることが推定されるため（現在解析中）、新しい変異株出現に対しても治療効果が発揮できる可能性がある。



➔ 既に特許出願完了し、クローン28Kを提供できる状況にある。
製薬会社との共同事業化等、実用化に向けた対応を急ぎたい

● 富山大学の世界最速レベルの抗体作製技術利用方法

新しい変異型に感染した患者血液からも、迅速に中和抗体を作製できる体制が富山大学では構築されている。

⇒ 新しい変異株流行の**早期制圧**に貢献できる。

- 今回の経験を活かし、新型コロナウイルスの新規変異株の出現や、**今後起こり得る新たなパンデミック**に備えて、治療用スーパー中和抗体を世界最速レベル（1～2週間以内）で取得できる体制が確立できたので、さらなる**学内の資源整備**を強化したい。
- さらに、国内の大学・研究機関・製薬企業との連携により、**国民に安定した国産中和抗体治療薬を供給できる国内体制と資源の早急な整備**を提言したい。