






| 学部長 | 所属長 | 本部長 | 副本部長 | 室長 |
|---|---|---|---|---|
|  |  |  |  |  |

令和4年3月28日

理事長 殿

学長 殿

令和3年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症
対策支援プロジェクト研究報告書

標記の件に関しまして、別紙のとおり報告いたします。

また、本研究報告の内容は、近畿大学学術情報リポジトリ（KURepo）に公開する旨、承諾いたします。

| | |
|----------|--|
| 1. カテゴリー | <input checked="" type="checkbox"/> 研究 <input type="checkbox"/> 開発・提案 /カテゴリーNo 18 |
| 2. 企画題目 | ヒト化抗体による新型コロナウイルス初期感染予防 |

研究代表者

所 属： 医学部・病理学教室職・氏名： 教授・伊藤彰彦

令和3年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症 対策支援プロジェクト研究報告書

| | |
|----------|--|
| 企画題目 | ヒト化抗体による新型コロナウイルス初期感染予防 |
| 研究者所属・氏名 | 研究代表者：医学部病理学教室・伊藤彰彦 共同研究者：医学部病理学教室・萩山満、米重あづさ、和田昭裕 |

1. 研究、開発・提案 目的及び内容

SARS-CoV-2 ウイルスの鼻腔内受容体としては ACE2 とともに分子 X の寄与が明らかになりつつある。分子 X は嗅上皮に高発現する膜蛋白であり、そのニワトリ抗体は SARS-CoV-2 スパイク蛋白の分子 X への結合を阻害する可能性が示されている。本企画提案では、ニワトリ抗体のヒト化を行い、それら抗体の活性を細胞培養系と動物実験とで検証する。本抗体を含有する点鼻薬は医療関係者等、感染リスクの高い方への予防的投与が期待される。

2. 研究、開発・提案 経過及び成果

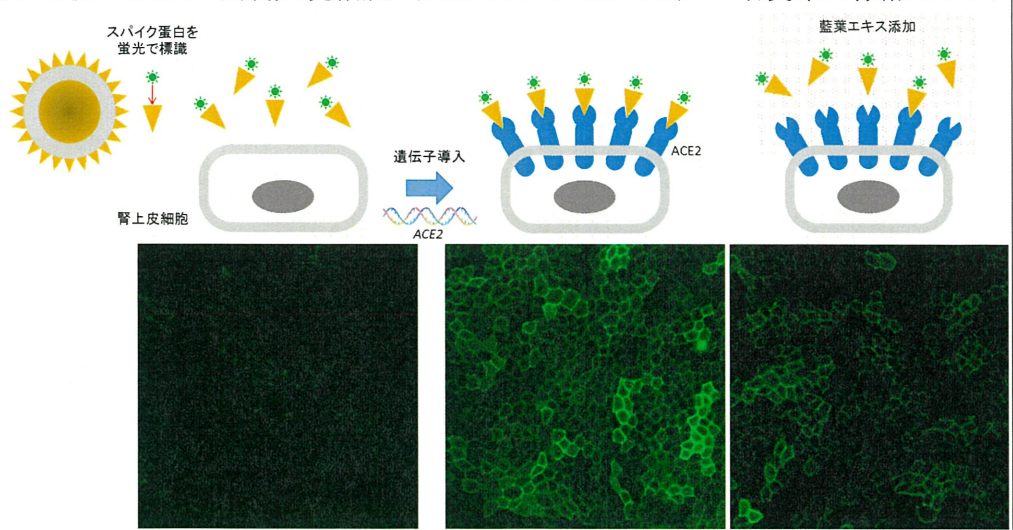
A. 抗分子 X ヒト化抗体の機能解析：①外注（ファーマフーズ社、京都市）にてヒト化クローンを数種類得た。ELISA、FACS 等の分子・細胞生物学的な手法によりニワトリ抗体と同等の抗体機能を有することがわかった。②分子 X 強制発現細胞（NIH3T3 や MDCK 等；樹立済み）の培養系にヒト化抗体を添加したところ、分子 X とともに抗体も細胞内へと移行（内在化）した。この点でもニワトリ抗体と同等の機能が確認された。

B. ヒト化抗体のマウスキメラ化：マウスへの点鼻実験を遂行するために、ニワトリ抗体・ヒト化抗体をマウスキメラ化した。具体的には、ニワトリ抗体（IgY）・ヒト化抗体（IgG1 or IgG4）重鎖・軽鎖の定常領域をマウスの IgG Fc portion にて置換した後、CHO 又は 293F 細胞にて発現させ、精製抗体を得た。

C. マウスキメラ抗体の点鼻実験：①マウス鼻腔粘膜における ACE2 及び分子 X の発現分布を免疫染色並びにウエスタン法にて確認した。ACE2 は呼吸上皮に、分子 X は嗅上皮に好んで発現することがわかった。②麻酔下にマウス（B57BL/6）の鼻腔内にマウスキメラ抗体を点鼻した。30 分後に前頭部を摘出し、病理標本を作製して、免疫染色にて抗体の鼻腔内分布を調べたところ、ニワトリ抗体と同様に、嗅粘膜への集積が確認された。③スパイク蛋白（組換え S1 subunit；市販）を indocyanin green (ICG) にて標識後、マウスに点鼻し、凍結切片上での ICG 検出にて S1 の鼻腔内分布を調べた。S1 は嗅粘膜に集積することがわかった。

D. 藍葉エキスの機能解析：①トリプタンスリン（ $C_{15}H_{18}N_2O_2$ ）はコロナウイルス HCoV-NL63 の増殖抑制活性が知られている。藍葉エキスはトリプタンスリンの含有量が高いので、SARS-CoV-2 の抑制活性が期待される。②スパイク蛋白（組換え S1 subunit；市販）を蛍光（Fluorescein）標識した後、ACE2 強制発現細胞（NIH3T3 や MDCK）の培養系に添加し、

スパイク蛋白の ACE2 への結合を生細胞観察下に蛍光強度として定量化した（前回のオール近大にて確立）。藍葉エキスを同時添加すると本結合が阻害された（=蛍光強度が低下した）。本作用はエキスが 17,300 倍希釈されても検出された。



3. 本研究と関連した今後の研究、開発・提案 計画

1. ヒト化抗体各種クローンの大量精製を進め、マウス点鼻実験に供する。スパイク蛋白とともに鼻腔内投与し、ヒト化抗体がスパイク蛋白の嗅上皮集積を阻害するか調べる。
2. 藍葉エキスについても、マウス点鼻実験を行う。スパイク蛋白とともに鼻腔内投与し、藍葉エキスがスパイク蛋白の嗅上皮集積を阻害するか調べる。
3. SARS-CoV-2 変異株（オミクロン株やステルスオミクロン株等）のスパイク蛋白についても解析する。
4. ヒト化抗体の成果を論文化する。
5. ヒト化抗体に関する特許（PCT 出願を含む）は明細書の作成を終えており、早々に出願を完了する。

4. 研究成果の発表等

| 発表機関名 | 種類（著書・雑誌・口頭） | 発表年月日(予定を含む) |
|---------------------------------------|--------------|--------------|
| Experimental and Therapeutic Medicine | 原著論文 | 令和3年2月10日 |
| 第111回日本病理学会総会 | 演題（口頭発表） | 令和4年4月15日 |
| | | |
| | | |
| | | |

5. 研究、開発・提案 課題の成果発表等

特許出願 特願 2021-163746 提出日令和3年10月4日
プレスリリース <https://newscast.jp/news/3042048> 令和4年2月10日
デーリー東北新聞 記事掲載 令和4年2月11日
東奥日報新聞 記事掲載 令和4年2月11日
北日本放送 テレビニュース 令和4年2月11日
日本経済新聞 記事掲載 令和4年3月18日