

# 実績報告書（創成特定研究事業）

大学院医学研究院教授 福原 崇 介

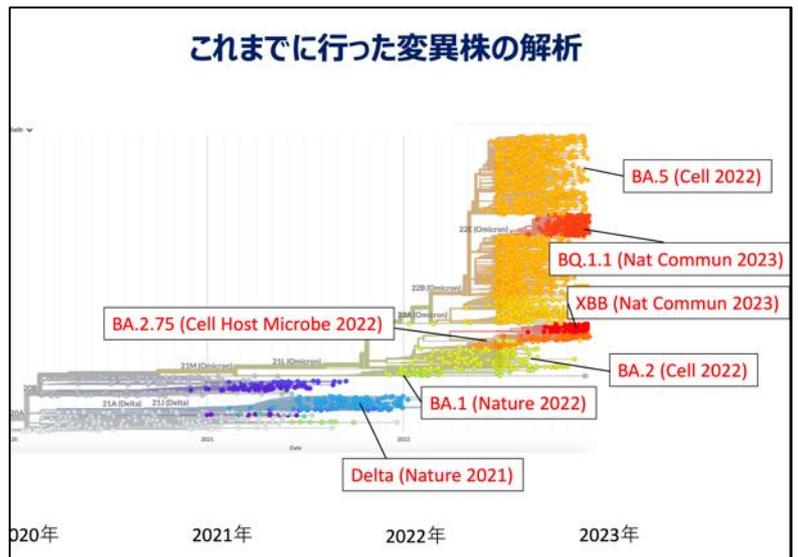
## ■プロジェクト研究構想名：

### パンデミック制御に資する先制医療基盤の開発

#### 1. 研究成果

##### ① 変異株解析：

CPER 法による変異ウイルスの作製を行い、次々に出現するオミクロン株のサブバリエーションの性状解析を行った。BA.2 株から BA.2.75 株、XBB 株へと進化が進んだが、抗体からの逃避が進む一方で、病原性は同等かやや低下する方向に変化していることが明らかになった（Cell 2022、Cell Host Microbe 2022、Nat Commun 2023）。一方、BA.5 系統からは BQ.1.1 株へと進化が進んだが、こちらでも同様に免疫からの逃避が進む一方で、

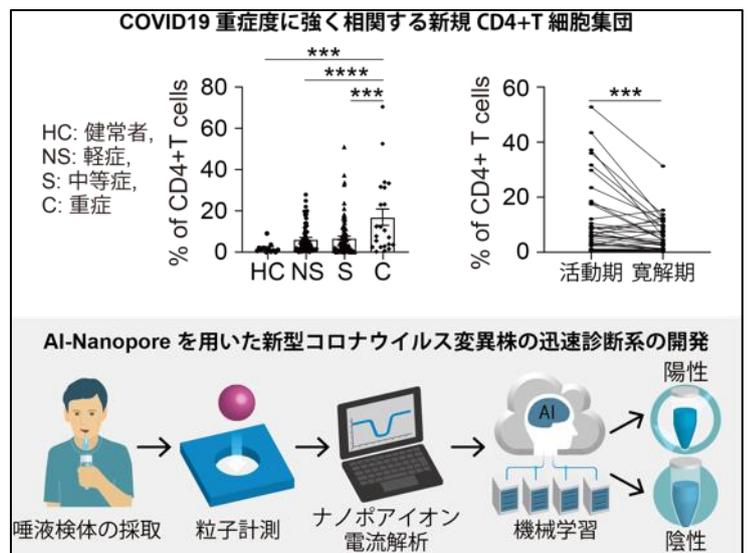


病原性は同等か低下していることが明らかになってきた（Cell 2022、Nat Commun 2023）。また、薬剤耐性化機構の解析として、SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス薬であるレムデシビルに対する耐性化機構の解明を行った。NSP12 タンパク質のレムデシビル結合部位の構造が不安定化する変異が入ることが耐性化に関わることが明らかになった（PLoS Pathog 2023）。

##### ② 免疫系解析：

###### (1) 臨床検体解析：

新型コロナウイルス患者血液検体および唾液検体を用いた解析を実施した。具体的には、診断・予防・治療に供する免疫細胞集団、標的分子候補の同定に加え、予後・後遺症診断、新型コロナウイルス変異株の早期確定診断手法の開発に取り組んだ。網羅的遺伝子解析および免疫細胞解析を行うことで COVID19 重症度に強く相関する新規 CD4+T 細胞集団を同定しており、論文を投稿中である(右図上)。また AI-Nanopore を用いた新型コロナウイルス変異株の迅速診断系の開発にも成功しており、こちらについても論文を投稿中である (右図下)。

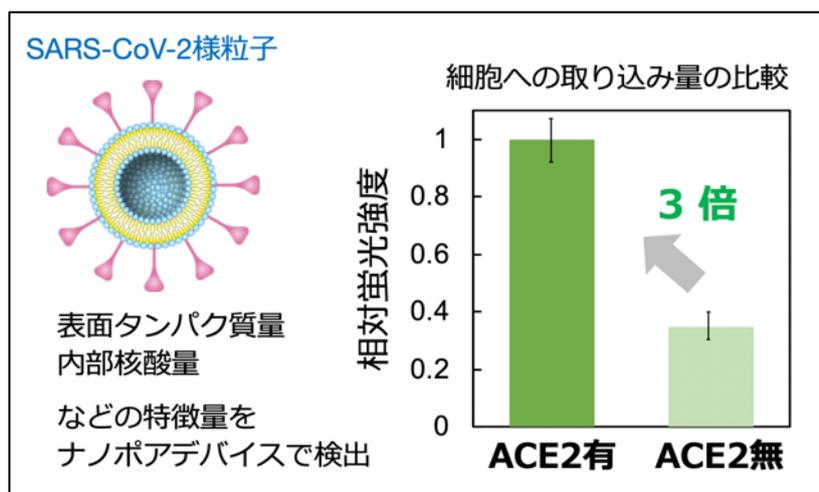


## (2) サイトカインストームモデルを用いた予防薬、治療薬の探索：

IL-6 依存性炎症反応が亢進した F759 マウスに SARS-CoV2 に対する抗原特異的 CD4+T 細胞を移入し、ストレス存在下に再度新型コロナウイルス（武漢型）を感染させると突然死を引き起こす疾患モデルにおいて、サイトカインストームおよび血栓症が誘導されることを確認した。本モデルと主要変異ウイルスを用いてサイトカインストームや血栓症を誘導する免疫暴走の予防・制御因子、診断マーカー候補を同定しており、論文の投稿準備中である。

## ③ マイクロ流体デバイス技術を用いた超早期診断法開発

マイクロ流体デバイスを用いたウイルスモデル粒子の作製およびナノポアデバイスによる検出：ナノポアデバイスでの1粒子による超早期診断法を開発するために、SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質を表面に提示した脂質ナノ粒子の作製に取り組んだ。作製したウイルスモデル粒子は、粒径が約 100 nm であり、SARS-CoV-2 と同程度であった。また、抗スパイクタンパク質抗体およびフローサイトメーターを用いて、モデル粒子表面へのスパイクタンパク質の提示量を評価した。その結果、スパイクタンパク質の仕込み量に依存して、粒子表面へのタンパク質量が増加することが明らかになった。モデル粒子は、ACE2 非発現細胞よりも ACE2 発現細胞により取り込まれたため、SARS-CoV-2 と同等の特徴を示すことが確認された。さらに、モデル粒子には任意の siRNA や mRNA を搭載することができ、スパイクタンパク質を提示させていない粒子と比較して、核酸送達効率が有意に高いことが確認された（論文投稿準備中）。現在、表面のタンパク質量や粒子内部の核酸搭載量を変えた粒子を作製し、ナノポアデバイスでの検出に取り組んでいる。



## 2. 若手研究者のプロジェクトへの関与の状況、若手研究者育成への効及び参画によるプロジェクトへの効果

代表者である福原は、組換えウイルスの作製とそれを用いた応用研究を行うことで本プロジェクトを牽引している。分担者の豊嶋からは臨床検体を用いた解析を進めており、久保田と真栄城にはウイルスの共有を行うことで、中心的な役割を担っている。

免疫系解析による感染制御法開発を担当した久保田はシングルセル解析技術を用いることで COVID19 重症度に強く相関する新規 CD4+T 細胞集団を同定し、共同責任著者として論文を投稿中である。また1粒子計測が可能なナノポアセンサと AI 技術を組み合わせることで、複数のウイルス変異株について高精度判定を達成し、第二著者として論文を投稿中である。上記のように先端計測技術を用いた免疫系解析により感染制御方法の開発を主導している。

超早期診断法開発の開発を担当した真栄城は、粒径などの物性や表面のタンパク質量および内部の核酸量を精密に制御したウイルスモデル粒子を開発し、ナノポアデバイスによる早期検出に

取り組んでいる。ウイルスモデル粒子によって、各特微量とシグナルの関係性が明らかになりつつあり、超早期診断技術の開発が着実に進んでいる。また、研究成果は第一著者・責任著者として投稿準備を進めている。

### 3. 業績（プロジェクト開始以降）

#### （1）研究構想に記載した論文等に係る目標値の達成状況

論文としては、原著論文として 31 編が発表され、責任著者として、Cell が 2 編、Cell Host Microbe、Nat Commun が 2 編、J Clin Virol など一流誌にも十分に掲載されており、目標値以上の成果と考えられる。

【福原】査読付き原著論文数 13 編（うち国際共著論文数 4 編）

【久保田】査読付き原著論文数 5 編（うち国際共著論文数 1 編）

【真栄城】査読付き原著論文数 10 編（うち国際共著論文数 0 編）

【豊嶋】査読付き原著論文数 5 編（うち国際共著論文数 1 編）

#### （2）特許申請・取得状況

真栄城による申請が 9 件と十分な特許申請が行われている。

#### （3）外部資金獲得状況 ※課題名、研究期間、獲得総額等を記載

AMED 関連の代表者としての研究費を新規で 5 件採択され、創成特定研究事業のメンバーも各申請研究の分担に加わる形で研究を推進している。目標値を大きく上回る研究費の獲得ができていていると考えている。

以下に代表的な獲得資金に関する情報を記載する。

- ・AMED・CREST、R4-R9、革新的リバーシブルジェネティクスを駆使した新たなウイルス学研究所の創出、代表者（福原）、300,000 千円
- ・AMED・肝炎克服緊急対策事業、R4-R6、HBV 複製ヒト化マウスモデルおよび HBV 肝がんモデルを用いた 8 重ガイド RNA 発現ゲノム編集アデノベクター治療薬の開発、代表者（福原）、45,000 千円
- ・AMED・新興再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業、R4、革新的な組換え SARS-CoV-2 を用いた新規感染手法の確立と応用研究、代表者（福原）、30,000 千円
- ・AMED・新興再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業、R5、COVID-19 罹患後症状を評価できる動物モデルの確立と病態発現機構の解明、代表者（福原）、30,000 千円
- ・AMED・新興再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業、R4、変異型新型コロナウイルスに対する診断・予防・治療法研究プラットフォームの開発、代表者（豊嶋）、200,000 千円

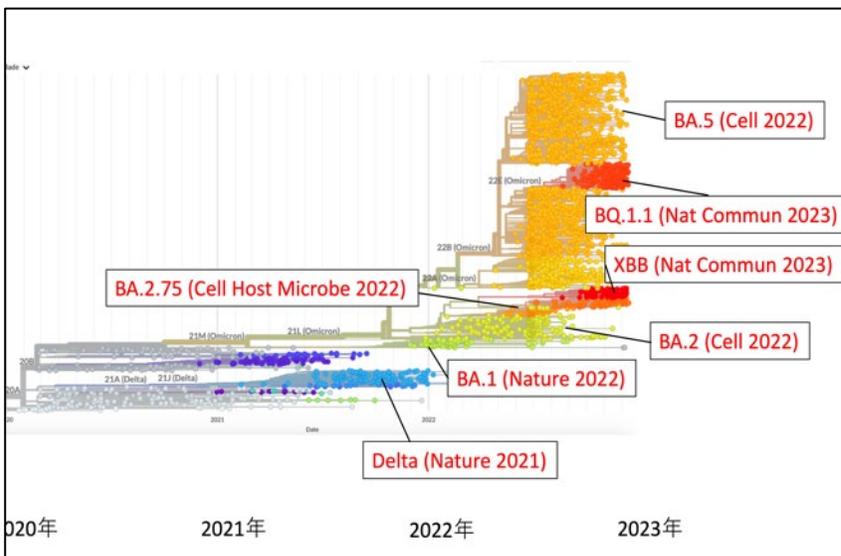
加えて、分担研究者での研究費採択は多数。

#### （4）その他特筆すべき業績

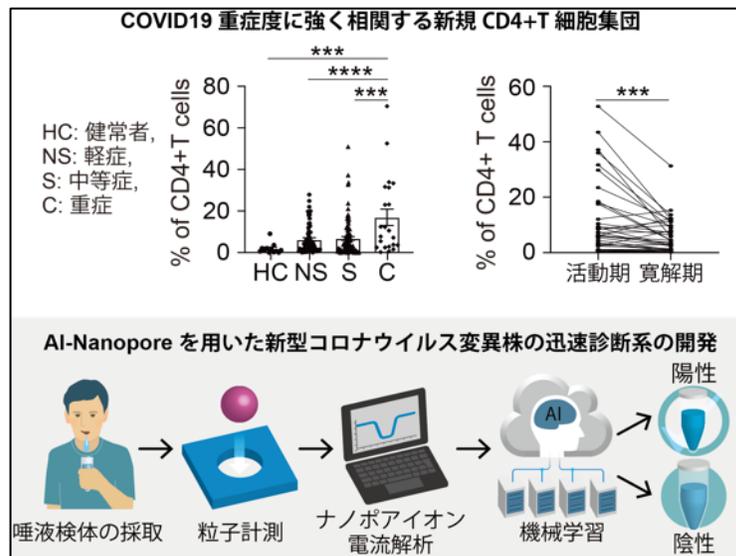
令和 5 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰・若手科学者賞（久保田）

# 実績概要

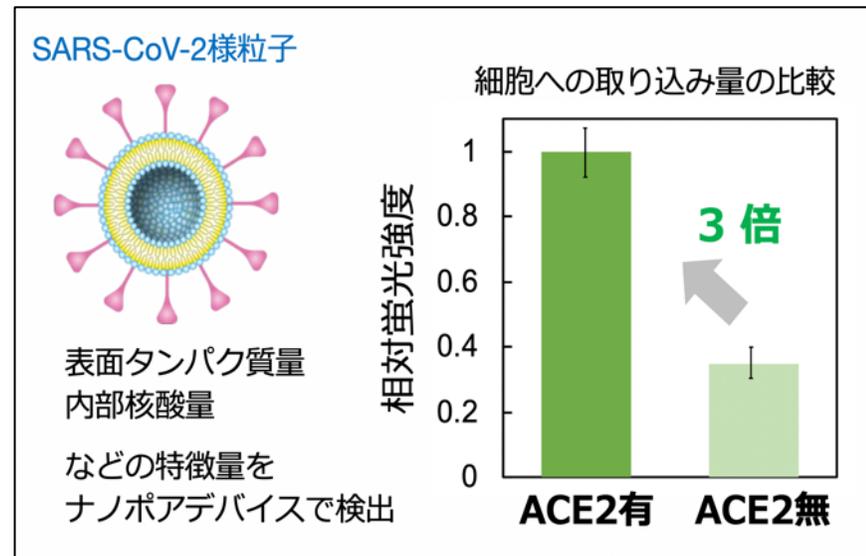
## 組換えウイルスを用いた変異株の解析



## SARS-CoV-2の免疫解析



## マイクロ流体デバイスを用いた超早期診断法の開発



## 業績

論文業績：原著論文31報（責任著者として、Cellが2報、Cell Host Microbe、Nat Communが2報、J Clin Virol）  
 特許申請：分担の真栄城から9件の申請があり、福原も準備中  
 外部資金：AMED-CRESTを含む代表での研究費獲得がこの1年で5件