

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

次々に出現したオミクロン以降の変異株の性状解析を積極的に推進し、世界的にもより素早く成果を発表することで、変異株に対する対策に大きく貢献した（福原、*Nature*, *Cell* 2本、*Cell Host Microbe* 2本、*Nat Commun* 3本など）。加えて、本事業をきっかけとして、複数の共同研究を推進することができた。豊嶋らが入手した臨床検体を用いて、臨床的にも意義深い研究を以下の通り推進できた。SARS-CoV-2 陽性者の唾液検体を用いて、直接 PCR でウイルスゲノムを増幅し、そのまま組替えウイルスを作製する Direct CPER 法を確立した（福原、豊嶋、論文投稿中）。また、血液悪性腫瘍患者の SARS-CoV-2 の持続感染のリスクに関する論文を発表した（福原、豊嶋、*Br J Haematol* 2023）。福原と豊嶋、久保田らの共同研究により、高速・高感度・高特異度な生体内因子の計測系としてナノポアを用いたコロナウイルス変異型識別法の開発を行い、ナノポアと機械学習を組み合わせた変異型ウイルスの検出法を、感度 100%、特異度 94%で確立することができた（*Lab Chip* 2023）。工学研究院の真栄城は、マイクロ流体デバイスを用いた超早期検出法の開発に取り組んだ。検出法を確立するための評価用モデル粒子として、*in vitro* 再構成ウイルス様粒子を新規に作製し、粒径および表面物性の制御、核酸の搭載に成功した。また、開発したマイクロ流体デバイスを用いて、作製したウイルス様粒子の高感度検出にも成功しており、福原が作製した様々な変異株を用いてその検査法の有用性を検証する。

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果及び参画によるプロジェクトへの効果

遺伝子病制御研究所の久保田は医学研究院の福原らと共同研究を行うことで、ナノポアを用いたコロナウイルス変異型識別法を開発し、高速・高感度・高特異度な生体内因子の計測系の概念実証を行った。現在は本プロジェクトで開発した手法をさらに発展させることで今後生じる新たな新興感染症に対応可能なプラットフォームに昇華させる予定である。工学研究院の真栄城は、マイクロ流体デバイスを用いた超早期診断法の開発に取り組んでいる。診断技術評価用の *in vitro* 再構成ウイルス様粒子の作製法を確立し、開発したマイクロ流体デバイスでの高感度検出に成功しており、今後はウイルスや臨床サンプルへの応用に展開する。本研究に参画した久保田、真栄城は感染症対策に資する研究の推進方法を経験することができたと考えられる。

なお、本プロジェクトで共同研究を開始した遺伝子病制御研究所の久保田と工学研究院の真栄城は、共同研究を通じて新たな着想を得ることで、「*In vitro* 再構成エクソソームによる微小炎症制御手法の開発」を開始した。現段階では論文文化や特許として結実していないが、今後も共同研究を継続することで社会に還元していく予定である。

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（R4-R5）

査読付き英語論文数:20（福原）、6（豊嶋）、10（久保田）、15（真栄城）

(2) 特許申請・取得状況

国内出願：1 件、PCT 出願：3 件、取得：特許第 6942376 号について、カナダ、台湾

(3) 外部資金獲得状況 ※課題名、研究期間、獲得総額等を記載

- 革新的リバーシジェネティクスを駆使した新たなウイルス学研究の創出（福原、AMED-CREST、代表）、2022-2027、300,000 千円
- HBV 複製ヒト化マウスモデル及び 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（福原、AMED、代表）、2022-2024、45,000 千円
- 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（福原、AMED、代表）、2023、30,000 千円
- 革新的な組替え SARS-CoV-2 を用いた新規感染手法（P2 感染モデル、In vivo imaging、汎用的マウスモデル）の確立と応用研究（福原、AMED、代表）2022、30,000 千円
- 革新的リバーシジェネティクス技術を用いた新たなウイルス学研究の創出（福原、武田科学、代表）2023、30,000 千円
- 造血幹細胞移植後の GVHD における腸・皮膚幹細胞の炎症記憶（豊嶋、挑戦的萌芽、代表）、2023-2025、5,000 千円
- COVID-19 および新興・再興感染症の感染制御に資する高速・高精度診断法の開発（豊嶋、AMED、代表）、2022、30,000 千円
- 微小炎症ネットワークの解明に資する全身全細胞解析技術の開発（久保田、若手研究、代表）、2022-2024、4,550 千円
- ゲノムバリエーションがもたらす細胞運命変化を予測する深層学習技術の開発（久保田、AMED、分担）、2023-2025、5,850 千円
- 神経免疫連環機構の解明に資する全身全細胞解析技術の構築（久保田、武田科学、代表）、2022-2024、2,000 千円
- 生体と共生するウイルス模倣エクソソームの開発（真栄城、学術変革 A、代表）、2023-2024、6,000 千円
- 長鎖核酸送達のための脂質・ポリマーハイブリッドナノ粒子の創製（真栄城、基盤 B、代表）、2023-2025、14400 千円
- CRISPR-Cas3 mRNA-LNP モダリティによる安全な in vivo ゲノム編集治療基盤の構築（真栄城、AMED、分担）、2023-2027、25000 千円

(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 受賞（久保田）
- 令和 4 年度 令和 4 年度北海道科学技術奨励賞（真栄城）
- 令和 4 年度 船井学術賞（真栄城）

【目的】 北海道における多施設が連携して検体収集し、**北海道大学大学院医学研究院・教授・福原崇介**を中心とした若手研究者が連携することでグローバル化に伴い世界的な問題となっているパンデミック制御に資する先制医療基盤を開発する。

COVID-19に関する
層別化データベースの構築

ウイルス感染症の超早期診断・治療法
の研究開発基盤



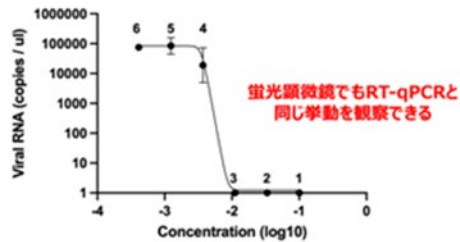
①新型コロナウイルスの制圧

②将来のパンデミックに対する先
制医療基盤の開発

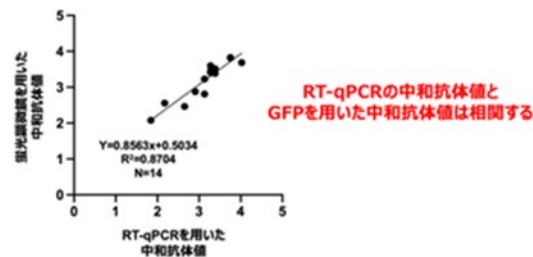


SARS-CoV-2感染のIn vivo Imaging

RT-qPCRと蛍光顕微鏡を用いた中和能比較



RT-qPCRによる中和抗体値と蛍光顕微鏡による中和抗体値の比較



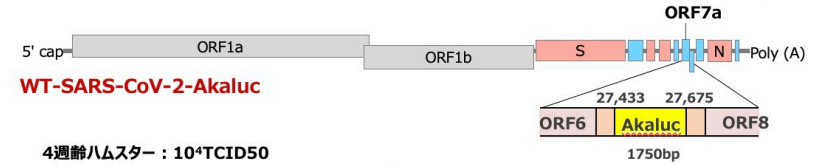
蛍光顕微鏡法とRT-qPCR法の比較

	顕微鏡法	PCR法
測定時間	3分以内 (1検体)	2時間 (3検体)
処理可能検体数	20検体/h	1.5検体/h
ランニングコスト	≒300円	≒2万円

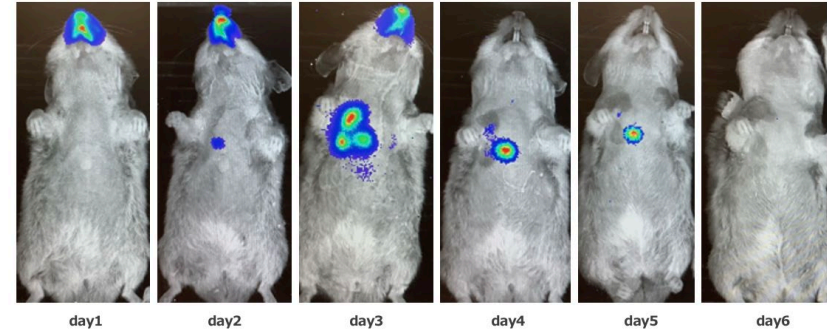
* : 1棟体を8段階希釈でそれぞれをN=3で測定した場合

A third dose of the BNT162b2 mRNA vaccine sufficiently improves the neutralizing activity against SARS-CoV-2 variants in liver transplant recipients

顕微鏡法を用いて短期間で
300検体以上を解析できた



4週齢ハムスター：10⁴TCID₅₀

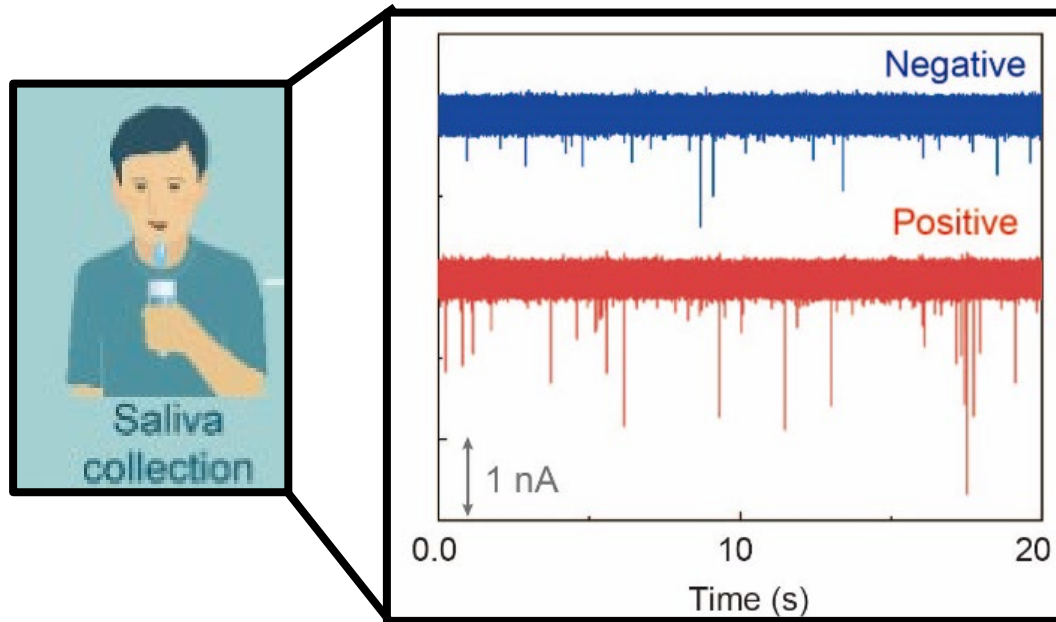


- ・ GFPを搭載し、様々なSを持つ組替えウイルスの作製
 - ・ Akalucを搭載した組替えウイルスを用いた*in vivo* imaging確立
 - ・ SARS-CoV-2の変異株の性状解析実施
- 文献（論文）

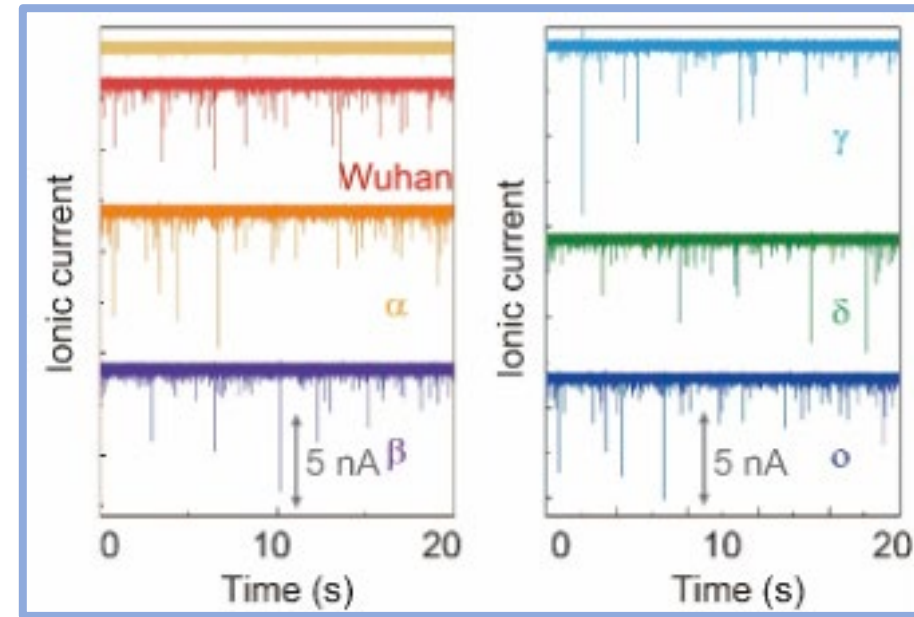
- 1) Suzuki R et al. The development of a rapid, highthroughput neutralization assay using a SARS-CoV-2 reporter. *J Virol Methods*. In press 2024.
- 2) Tamura T et al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron XBB.1.5 variant. **Nat Commun**. 15(1): 1176, 2024.
- 3) Tamura T et al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 BA.2.86 variant. **Cell Host Microbe**. In press, 2024.
- 3) Tamura T et al: Virological characteristics of the SARS-CoV-2 XBB variant derived from recombination of two Omicron subvariants. **Nat Commun**. 14(1): 2800, 2023.
- 4) Ito J et al: Convergent evolution of SARS-CoV-2 Omicron subvariants leading to the emergence of BQ.1.1 variant. **Nat Commun**. 14(1): 2671, 2023.
- 5) Torii S et al: Increased flexibility of the SARS-CoV-2 RNA-binding site causes resistance to remdesivir. **PLoS Pathog**. 19(3): e1011231, 2023
- 6) Saito A et al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2.75 variant. **Cell Host Microbe**. 30(11): 1540, 2022
- 7) Kimura I et al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 subvariants. **Cell**. 185(21): 3992-4007, 2022.
- 8) Yamasoba D et al. Virological characteristics of SARS-CoV-2 VA.2 variant. **Cell**. 185(12): 2103-2115, 2022.

パンデミック制御に資する先制医療基盤の開発: これまでの開発成果 (豊嶋、福原、久保田の共同研究成果)

豊嶋らが集めたSARS-CoV-2感染患者・非感染者の検体がナノポアを通過した時の電荷



福原らが作製した6種のSARS-CoV-2の亜型がナノポアを通過した時の電荷

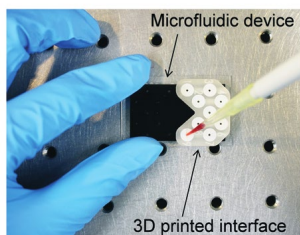


2021年10月から2022年5月にかけて、北海道大学病院、JCHO北海道病院、KKR札幌医療センター、国立病院機構北海道医療センターにおいて、**SARS-CoV-2感染者132名と非感染者109名**から採取した**唾液241検体**を分析し、それぞれの病院で採取時に示されRT-PCR結果と一致するかどうかを調べた。

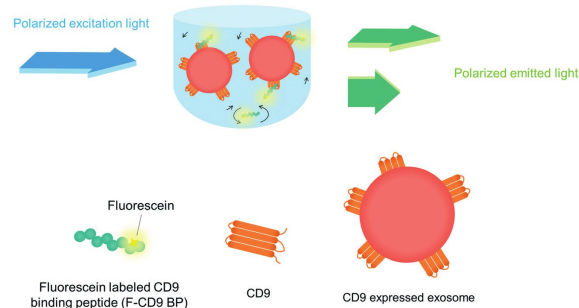
> **患者唾液の感度は100%、特異度は94%と非常に高い数値を示した。**

ペプチドトレーサーとマイクロ流体デバイスによる細胞外小胞の検出 : これまでの開発成果と今後の研究目標 (福原、真栄城の共同研究)

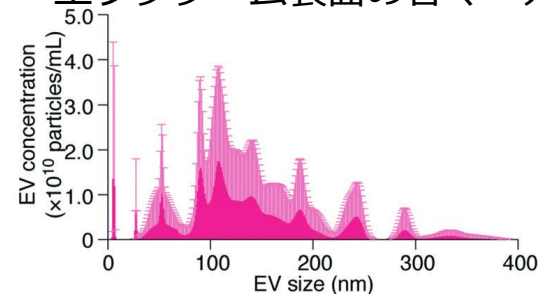
デバイス



非競合蛍光偏光免疫測定



エクソソーム表面の各マーカータンパク質の測定に成功



Lab Chip, **22**, 2971 (2022)

今後の計画

Antibody detection by non-competitive FPIA



Biosens. Bioelectron., **190**, 113414 (2021)

- コロナ感染患者中のIgG抗体の検出が可能
- トレーサーとして, 抗体断片, ペプチド, 核酸アプタマーなど様々な分子を利用可能

- 設計自由度が高い核酸アプタマーを用いて, ウイルスの変異が検出感度および検出用トレーサーの設計に与える影響を解明
- 将来の新興感染症にも対応可能な検出プラットフォームを構築

新型コロナウイルスワクチン接種コホートの解析

新型コロナウイルス患者の後遺症コホートおよびワクチン接種コホートからの血液検体



Centrifugation

Blood

Ficoll-Paque PLUS

PBMC

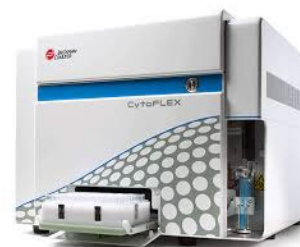


plasma

Lymphocytes, monocytes, platelets

Ficoll-Paque PLUS

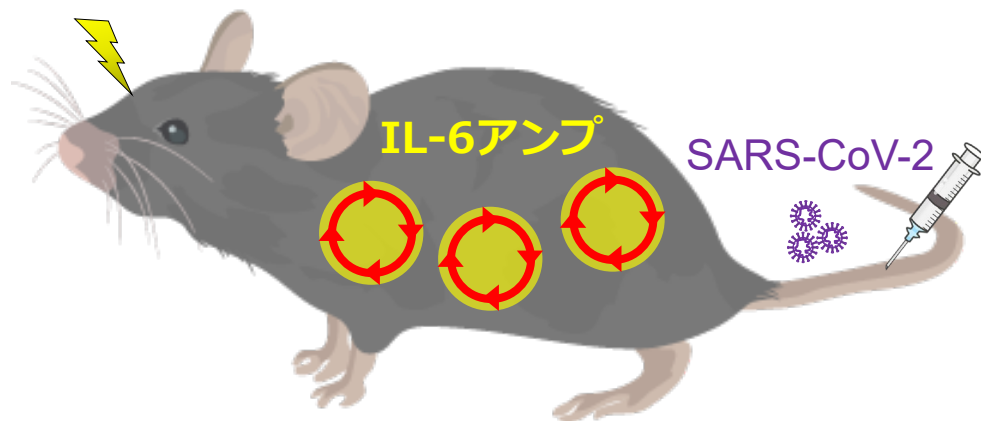
granulocytes, erythrocytes



27種類の免疫細胞解析

サイトカインストームモデルマウスを用いた解析

ストレス



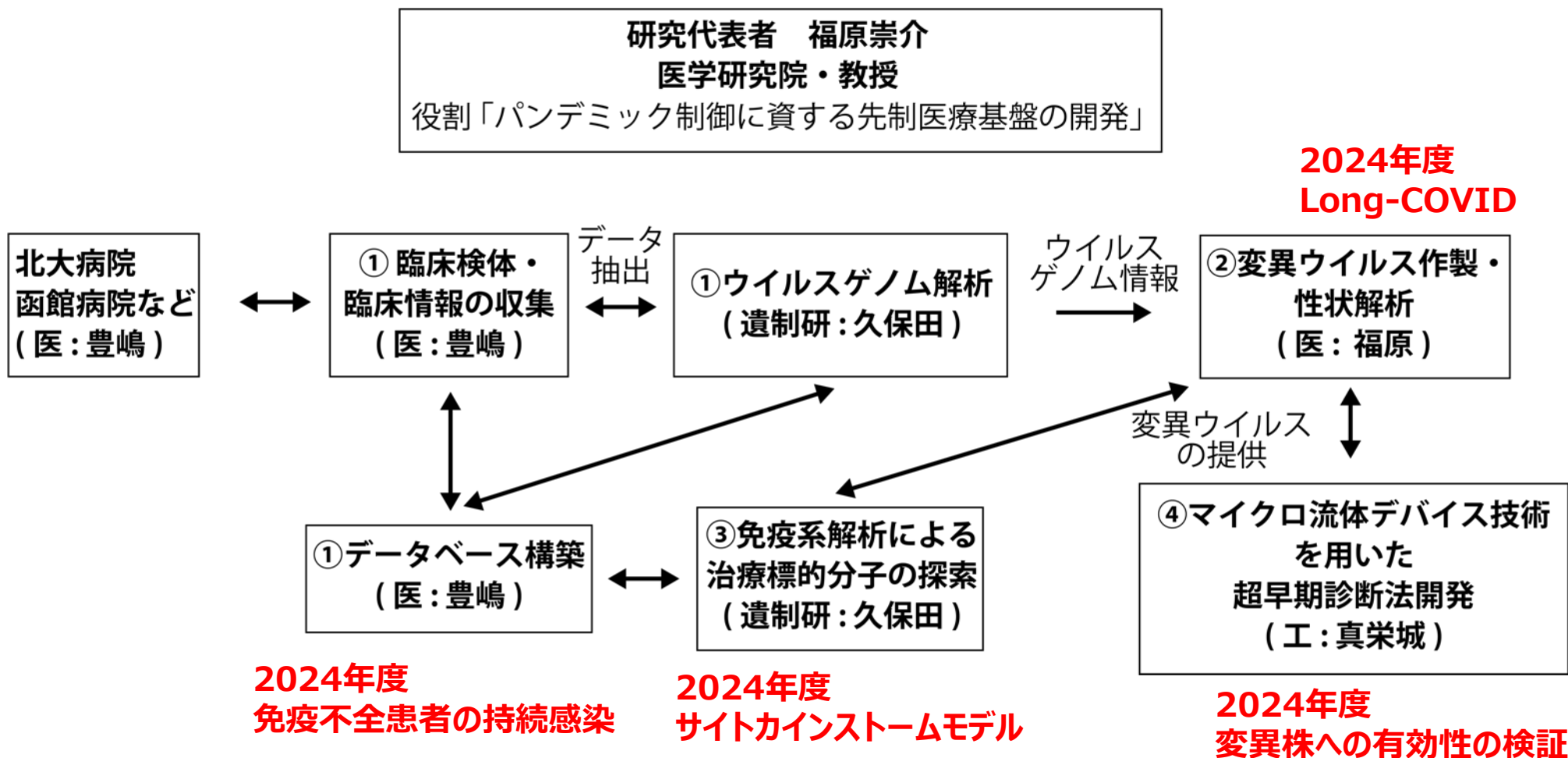
ウイルス感染後の各組織の炎症部位におけるIL-6アンプ制御分子の同定

COVID-19患者末梢血におけるIL-6アンプ制御分子の検証

パンデミック制御に資する先制医療基盤の開発

北海道における多施設が連携して検体収集し、北大多部局の若手研究者が連携することで将来の新興感染症によるパンデミック制御に資する診断・治療法の研究開発基盤を整備する。

(赤字：2024年度に新たに行うテーマ)



パンデミック制御に資する先制医療基盤の開発

成果指標

査読付き英語論文数：20編（R4:10, R5: 10）

将来の500万円以上の外部資金獲得目標数：10（R6: 4, R7: 4）

達成済み！！

北海道大学 新興感染症診断法・治療法開発プラットフォーム

新規薬剤
候補物質

創薬研究
最適化

非臨床試験

治 験

薬事申請

薬事承認
上市

臨床実装・
エビデンス
構築

北海道大学・医学研究院
福原 崇介

北海道大学・工学研究院
真栄城 正寿

北海道大学・遺伝子病制御研究所
久保田 晋平

臨床研究中核病院

北海道大学病院

医療・ヘルスサイエンス研究開発機構
臨床研究開発センター

薬事支援

治験計画立案

治験実施調整

Phase I unit

データ管理

統計解析

北海道大学
医学研究院
豊嶋 崇徳