

令和 6年 1月 16日

報道機関 各位

広範なコロナウイルス株に効果のある抗体医薬品を 分子シミュレーションにてデザインすることに成功

■ ポイント

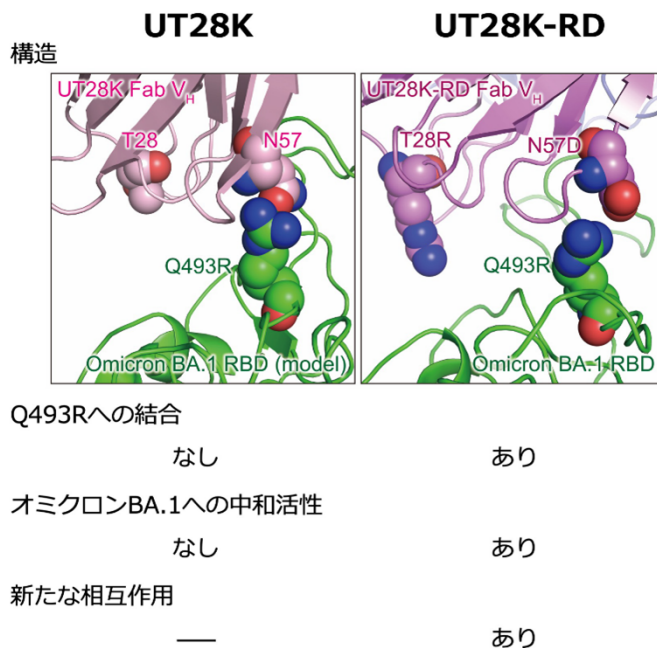
- ・近年、特定のウイルスに感染した患者から得られた抗ウイルス抗体タンパク質を医薬品として応用する抗体医療の研究が目覚ましい発展を遂げて注目を浴びています。
- ・富山大学が昨年取得し、「スーパー中和抗体」と命名した抗体医薬品：ヒト型・モノクローナル^{*1}中和抗体^{*2}（開発番号：UT28K^{*3}）は、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2^{*4}）のデルタ株までの変異株に対して中和活性^{*5}を示していましたが、オミクロン株 BA.1 株に対しては、オミクロン BA.1 株由来の変異により、医薬品の薬効が大幅に落ちることが示されていました。
- ・富山大学 先端抗体医薬開発センター・学術研究部医学系 小澤龍彦 准教授、京都大学アイセムス（高等研究院 物質-細胞統合システム拠点）池田幸樹 特定拠点助教、京都大学医生物学研究所 橋口隆生 教授、北海道大学大学院薬学研究院 前仲勝実 教授、同大学大学院医学研究院 福原崇介 教授、京都府立医科大学 医学系研究科 星野温 講師、富山県衛生研究所 谷英樹 部長らの研究グループは、変異の激しいコロナウイルスに対抗して、非常に素早く行える分子シミュレーションを活用した、抗体医薬品のユニバーサル化デザイン技術を考案し、実証実験を行いました。
- ・その結果、抗体医薬品のユニバーサルデザインに成功し、従来の効果に加えて、オミクロン株 BA.1 株に対しても動物実験において薬効が回復する改変抗体医薬品：UT28K-RD を作製することに成功しました。
- ・この抗体医薬品：UT28K-RD がオミクロン株 BA.1 株に対して実際に薬効があることを確認しました。
- ・今後、今回の分子シミュレーション解析^{*6}における抗体デザイン技術を応用することで、ウイルスの変異によって失われてしまう薬効を回復する抗体改変技術開発に繋がることが期待されます。
- ・インフルエンザウイルスやコロナウイルスなどの RNA ウイルスにおいては非常に素早い変異速度を持つことで医薬品のターゲットから逃れることが知られています。本研究はパソコンを使った分子シミュレーション技術の発展によって、これらウイルスの非常に素早い変異速度を超えて、迅速に新しい抗体医薬品を生み出すことが可能であることを示しました。

本研究成果は、日本時間 1月16日（火） 午前1時（米国東部時間 1月15日（月）午前11時）に国際学術雑誌「Structure」に掲載されました。

■ 概要

富山大学が昨年取得し、「スーパー中和抗体」と命名したヒト型・モノクローナル中和抗体（開発番号：UT28K）は、新型コロナウイルスのデルタ株までの変異株に対して、中和活性を示していました。一方オミクロン株 BA.1 株に対しては、オミクロン BA.1 株由来の変異により、中和活性が大幅に落ちることが示されていました。

今回、富山大学先端抗体医薬開発センター（医学部、工学部、附属病院の連携組織）、富山大学学術研究部医学系、京都大学、富山県衛生研究所、北海道大学、京都府立医科大学の共同研究グループ（代表 小澤龍彦 准教授、研究体制：表 1）は、オミクロン BA.1 株に対して中和活性を持つ抗体を作出するため、実験的に観察された UT28K と RBD^{*7} の立体構造を元に、オミクロン株 BA.1 株に対して中和活性が回復する改変抗体 UT28K-RD を分子シミュレーション解析にてデザインしました。そして実際に作製し解析を行ったところ、中和活性が確かに回復していることを実験的に確認しました。



概要図

分子シミュレーション解析を用いて、UT28Kの2アミノ酸の変異(T28RとN57D)をデザインし、この改変型抗体をUT28K-RDと命名した。実際に作製して解析を行ったところ、

- 1) オミクロンBA.1株由来の変異であるQ493Rに対して結合活性が回復
- 2) オミクロンBA.1株に対して中和活性が回復
- 3) UT28K-RDとRBDとの間に新たな相互作用が追加
これら3点が実験的に観察された。

■ 研究の背景

COVID-19 は様々な変異株が出現して主感染株が刻々と置き換わっています。ワクチンには高い予防効果がありますが、その有効性は変異株の種類やワクチン投与後期間に依存します。富山大学らの研究チームが2021年に取得した「スーパー中和抗体」（開発番号 UT28K）は、多種の変異株（野生株、アルファ株、ベータ株、ガンマ株、カップタ株、デルタ株、エプシロン株）に対して中和活性を示すことを実験的に確認していました。

一方オミクロン株 BA.1 株に対しては、オミクロン BA.1 株由来の変異により、中和活性が大幅に落ちることを実験的に確認していました。

■ 研究の内容・成果

UT28K が RBD と結合する際に必要なエピートプ（標的部位）の 1 つに Q493^{*a} があります。一方でオミクロン BA.1 株は様々な変異が起っています。その中の 1 つに Q493R 変異があり、この変異によりオミクロン BA.1 株は UT28K に対して耐性を獲得したことが考えられました。そこで分子シミュレーション解析を用いて元々 Q493 との結合に必要なだった UT28K のアミノ酸に変異 (N57D^{*a}) を導入しました。更にオミクロン BA.1 株に対しての結合を強化する目的で、分子シミュレーション解析を用いて UT28K と RBD の間に存在した隙間を埋めるための変異 (T28R^{*a}) を UT28K に導入しました。(図 1) この改変した UT28K を UT28K-RD と命名しました。

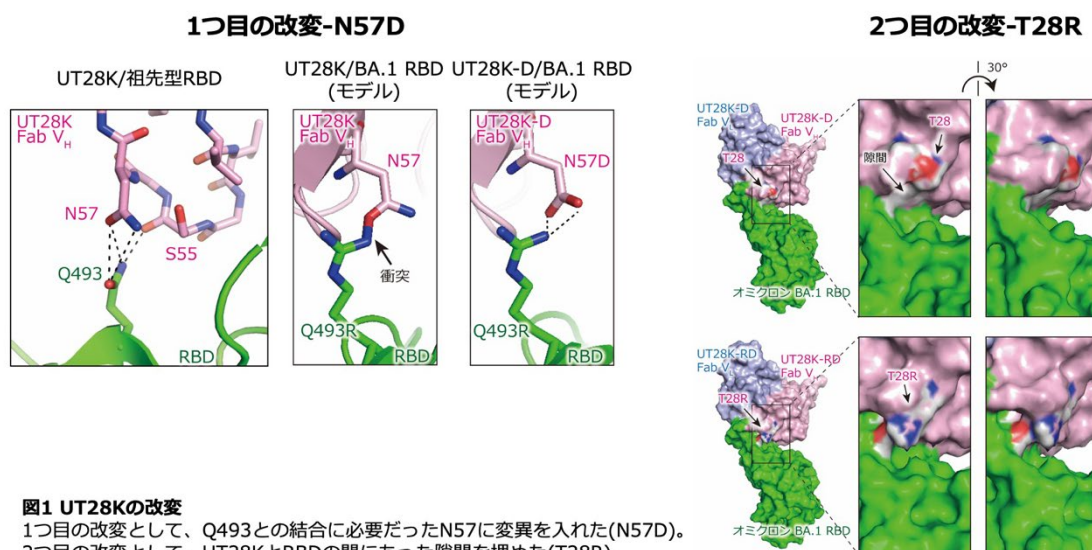


図1 UT28Kの改変

1つ目の改変として、Q493との結合に必要なだったN57に変異を入れた(N57D)。2つ目の改変として、UT28KとRBDの間にあった隙間を埋めた(T28R)。

オミクロン BA.1 株をハムスターに感染させ、その後 UT28K-RD を投与する中和活性測定実験を行いました。UT28K-RD を投与することで、肺におけるウイルスが減少することが、ウイルスの RNA 量を測定した PCR 法と、ウイルスのタンパク質量を測定した病理診断法により確認されました。(図 2)

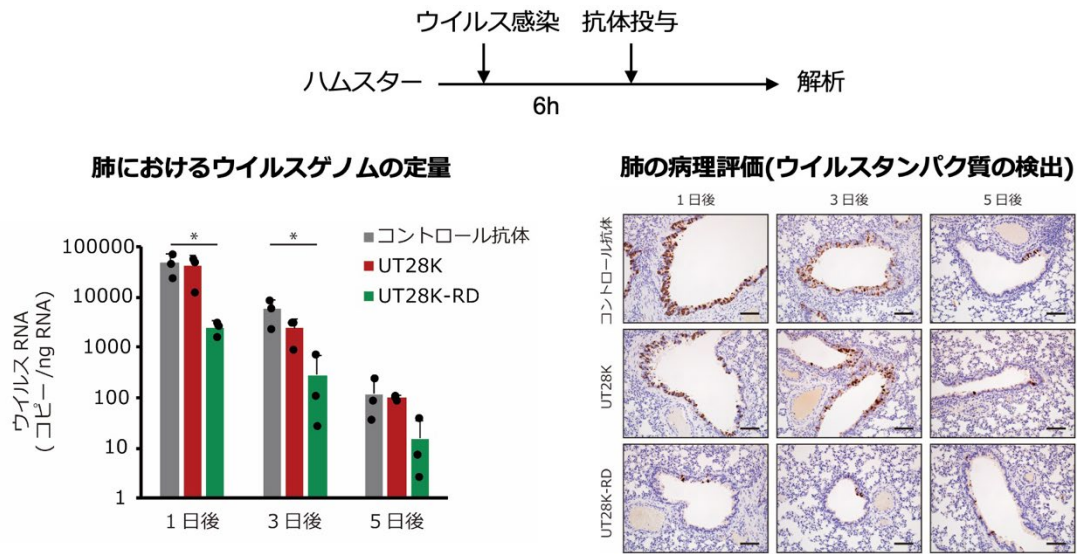


図2 動物モデルを用いたUT28K-RDの中和活性評価
 ハムスターにオミクロンBA.1を鼻腔感染させ、6時間後に抗体を腹腔内投与した。その後、肺におけるウイルスゲノムの定量と肺における病理評価を行った。

UT28K-RDがQ493R変異に結合できるようになったのか、またUT28K-RDに改変したことでRBDに対する結合に影響が出るのかを確認しました。そのために、RBDの変異ライブラリーを作製し、そのライブラリーとUT28K-RDとの結合を網羅的に解析しました。元のUT28KはQ493Rにより結合活性が失われていましたが、UT28K-RDはQ493Rにも結合することが実験的に認められました。またUT28K-RDに改変しても、UT28Kと同様の結合が認められ、結合に負の影響がないことが確認されました。(図3)

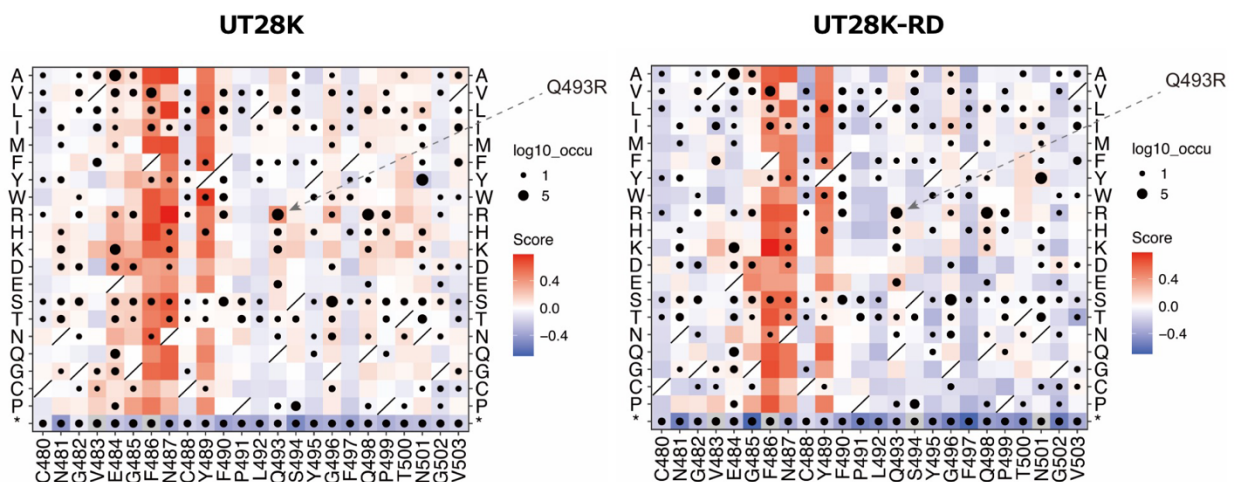


図3 UT28K-RD改変による結合への影響
 UT28KはQ493R変異には結合できないが、UT28K-RDはQ493Rに結合できる。赤は結合ができなくなる変異、青は結合ができる変異。斜線は祖先型(武漢株)のアミノ酸、黒いドットの大きさは、GISAIDデータベースによるウイルスゲノム配列中の頻度を反映する。

分子シミュレーション解析でデザインし予測した抗体の構造と、実際に実験的に観察される抗体の構造を比較することは、分子シミュレーション解析による抗体デザインの精度向上の為に必要です。そこで実際に UT28K-RD とオミクロン BA.1 株の RBD との構造を観察しました。

まず UT28K-RD の T28R 変異ですが、T28R 変異により I31 が RBD の Y489 と結合するようになると予測していましたが、実験的にも I31 が RBD の Y489 と結合していました。他にも T28R 変異で起こる影響を予測しており、実験的に観察された構造と概ね同じでした。(図4)

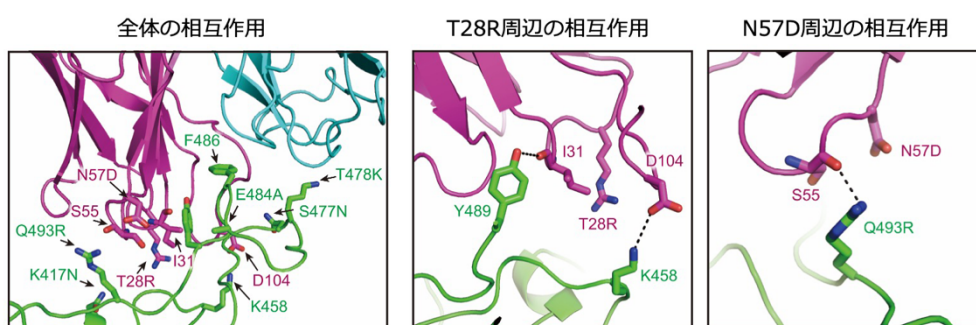


図4 UT28K-RDとオミクロンBA.1 RBDの立体構造解析

T28R変異により、UT28K-RDのI31とオミクロンBA.1のY489が相互作用することが観察された。またN57D変異により、UT28K-RDのS55とオミクロンBA.1のQ493Rが相互作用し、N57DはS55とQ493Rの結合をサポートすることが観察された。

次に UT28K-RD の N57D 変異ですが、当初 N57D が RBD の Q493R と結合すると予測していましたが、実際は S55 が Q493R と結合していたことが観察されました。一方 N57D 変異は、S55 が Q493R と結合するためのサポート役をしていることが観察されました。

最後に元となった UT28K と今回の UT28K-RD の比較です。元の UT28K は RBD の F486 及び N487 を主要なエピトープとしていることが既に観察されていました。UT28K-RD も UT28K と同様に F486 及び N487 を主要なエピトープとしていることが観察されました。これらの観察結果は図3の結果と同様で、F486 及び N487 に変異が入ると結合しなくなることと一致します。即ちこの結果は、UT28K-RD はオミクロン BA.1 株に対して中和活性がある一方で、現在主流のオミクロン XBB1.5 株や EG.5 株などは F486 に変異が入っているため、UT28K-RD の中和活性が損なわれることを示唆しています。

■ 今後の展開

ウイルスは常に変異が起こり、これまで有効だった中和抗体が無効になることがしばしば起こります。特に SARS-CoV-2 はそれが顕著であり、ウイルスの変異により中和抗体開発が頓挫した例が数多くあります。今回の研究で、ウイルスの変異により中和活性が無効となってしまった抗体を、分子シミュレーション解析を用いて改変することで中和活性を回復させられることを示しました。

しかしながら分子シミュレーション解析を用いた改変は万能ではありません。精度の向上の為に世界中で様々な改変法が研究されていますが、成功例は殆どありません。発表した論文では分子シミュレーション解析での抗体改良予測と実験的に観察される構造の両方のデータから、今回の予測手法が果たして信頼できるものなのかについて評価をフィードバックしているのが強みです。今回の我々の方法は、抗体医薬品の改良設計を1ヶ月程度で実施可能であることからウイルスの変異速度と並びうる迅速なデザインができること、そしてスーパーコンピューターによる高価かつ高コストな計算を使わず設計に成功したことが技術的革新と言えます。今後同様の事例を積み重ねることで分子シミュレーション解析での予測精度の向上が見込まれ、ウイルスの変異に対抗できる中和抗体開発が進むことが期待されます。

■ 研究体制（表1）

所属		氏名	
富山大学	学術研究部医学系 免疫学 先端抗体医薬開発センター	小澤 龍彦	准教授 副センター長、 抗体取得・TCR 解析部門
		岸 裕幸	特別研究教授 抗体取得・TCR 解析部門長
	学術研究部医学系 臨床分子病態検査学 先端抗体医薬開発センター	仁井見 英樹	教授 臨床検体評価 部門長
		平林 健一	教授
京都大学	アイセムス（高等研究院物質- 細胞統合システム拠点） 医生物学研究所 ウイルス制御分野	野口 映	助教
		池田 幸樹	特定拠点助教
富山県衛生研究所	ウイルス部	橋口 隆生	教授
		佐々木 慈英	大学院生
		谷 英樹	部長
		五十嵐 笑子	研究員
北海道大学	大学院薬学研究院	佐賀 由美子	主任研究員
		稲崎 倫子	主任研究員
		前仲 勝実	教授

	創薬科学部門生体機能科学分野	喜多 俊介	助教
	生体分子機能学研究室	安楽 佑樹	大学院生
		Liuan Chen	大学院生
	人獣共通感染症国際共同研究所	福原 秀雄	准教授
大学院医学研究院 病原微生物学教室	病原体構造解析部門		
		福原 崇介	教授
京都府立医科大学	医学系研究科 循環器内科	鈴木 理滋	助教
		星野 温	講師
	医学系研究科 腎臓内科	民西 俊太	大学院生
		桐田 雄平	助教

■ 本研究へのサポートについて

本研究は、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(仁井見・小澤)、日本医療研究開発機構(AMED)次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業(国際競争力のある次世代抗体医薬品製造技術開発)(JP21ae0121018:池田・小澤)、AMED 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業(BINDS)(JP17am0101093:小澤、JP22ama121010:小澤、JP17am0101093:前仲、JP22ama121037:前仲)、AMED SCARDA「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業」ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点群 北海道シナジーキャンパス(北海道大学 ワクチン研究開発拠点)(JP223fa627005:前仲)、AMED SCARDA「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業」ヒト免疫に関する京都大学サポート機関(JP223fa627009:橋口)、京都大学医生物学研究所「ウイルス・幹細胞システム医生物学共同研究拠点」共同研究(前仲)、公益財団法人 武田科学振興財団(前仲)、科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(GREST)(JPMJCR20H8:橋口・福原)、日本学術振興会 Core-to-Core Program A(橋口)、JSPS 科研費(JP23H02776:池田)などの支援を受けて行われました。

【用語解説】

※1 モノクローナル抗体：

単一の抗体産生細胞が作り出す、ただ1種類の抗体。抗原にある沢山の目印(抗原決定基)の中から1種類の目印とだけ結合する抗体である。

※2 中和抗体：

ウイルスに結合し、ウイルスのヒト細胞への感染を防ぐ能力をもつ抗体。

※3 UT28K :

富山大学が作製し 2022 年 5 月 12 日にプレスリリースした SARS-CoV-2 に対するモノクローナル抗体。デルタ株までの多数の変異株に対して中和活性を有しているが、オミクロン BA.1 株に対しては中和活性が損なわれていた。

※4 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」と名付けている。

※5 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。

※6 分子シミュレーション解析 :

タンパク質の 3 次元構造をコンピューター上に描出し、タンパク質同士や低分子化合物などとの物理的・化学的相互作用を解析する方法。

※7 RBD :

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であり、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する。) 内にある ACE2 受容体と結合する部分。

※8 Q493R、N57D、T28R 変異 :

それぞれ 493 番目のグルタミンがアルギニンに、57 番目のアスパラギンがアスパラギン酸に、28 番目のスレオニンがアルギニンに変異したもの。

【論文詳細】

論文名 :

Rational in silico design identifies two mutations that restore UT28K SARS-CoV-2 monoclonal antibody activity against Omicron BA.1.

著者 :

Tatsuhiko Ozawa, Yoshiki Ikeda, Liuan Chen, Rigel Suzuki, Atsushi Hoshino,

Akira Noguchi, Shunsuke Kita, Yuki Anraku, Emiko Igarashi, Yumiko Saga,
Noriko Inasaki, Shunta Taminishi, Jiei Sasaki, Yuhei Kirita, Hideo Fukuhara,
Katsumi Maenaka, Takao Hashiguchi, Takasuke Fukuhara, Kenichi Hirabayashi,
Hideki Tani, Hiroyuki Kishi, Hideki Niimi

掲載誌 :

Structure, Volume, 2024 – Issue

DOI :

<https://doi.org/10.1016/j.str.2023.12.013>