

高親和性 ACE2 キメラ抗体分泌間葉系幹細胞による COVID-19 細胞療法の開発

池村奈利子

京都府立医科大学 循環器内科学

【研究の背景】

我々はこれまでに新型コロナウイルスの感染受容体である ACE2 を指向性進化法により親和性を 100 倍に高め、逃避変異が出現しない ACE2 製剤(中和蛋白製剤)を開発した。しかしバイオ医薬品の開発には年単位の時間がかかる問題点がある。一方、間葉系幹細胞(MSC)は GVHD など細胞治療として臨床使用されており、その免疫調整作用により COVID-19 の ARDS 治療薬として有効性が報告されている。さらに我々は以前にヒト MSC のマウス静脈投与後の動態に関して MSC の大部分が肺に集積する特徴を確認しており、これらをふまえ MSC の免疫調整作用及びウイルス中和製剤分泌による抗ウイルス作用のバイファンクショナルな細胞治療が実現できる可能性がある。

【目 的】

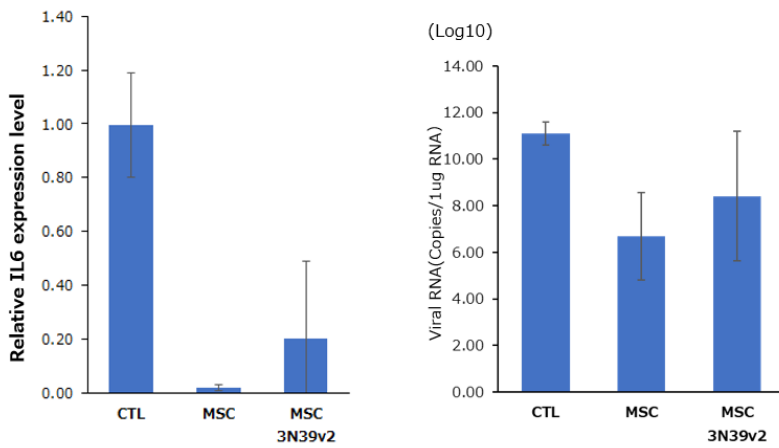
- ① 本研究では遺伝子導入により中和蛋白製剤を分泌する MSC を作製し、中和活性と免疫調整作用を併せ持ち、且つパンデミックに迅速に対応できる細胞治療の技術開発に取り組む。
- ② 我々が開発した ACE2 製剤の最適化に取り組み、昨今台頭している SARS-CoV2 オミクロン株に対する効果についてもその有効性を検討する。

【方 法①】

MSC に対する遺伝子導入方法についてベクター及びプロモーター(pHR SFFV)の最適化を確認し、さらに分泌シグナル(ACE 固有)、コドン(Genscript)の最適化を確認した後、N501Y 変異ウイルス感染マウスに対して、我々が開発した改変 ACE2(3N39v2)導入 MSC を静脈投与し、ウイルス量及び炎症所見への効果について qPCR で確認した。

【結 果①】

MSC 投与群で control 群と比較して、viral RNA 量、および炎症指標としての IL6 値の改善を認めたものの、MSC-control 群と MSC-ACE2製剤(3N39v2)群の比較においては control 群の方がより効果的であるという結果となり、ACE 製剤(3N39v2)分泌に伴う効果は確認できない結果となった(下図)。同結果は再現性があり、このような結果となった明らかな原因及び改善策が得られなかった。そのため、ACE2 製剤の最適化・及び SARS-CoV2 の様々な亜種に対する有効性の確認に尽力することとした。



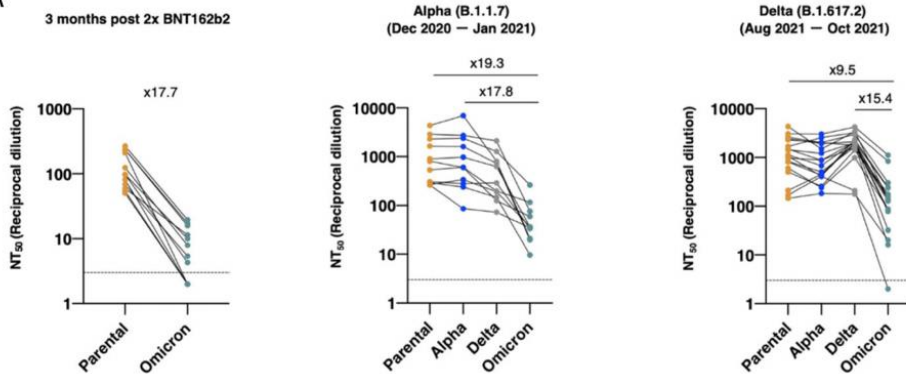
【方 法②】

昨今猛威を振るっているオミクロン株に対する有効性を確認する目的としてオミクロンのスパイクを保有する擬似型ウイルスを作成し、それに対するワクチン接種血清の中和活性を評価した。具体的に Pfizer-BioNTech 社製 2 種混合ワクチン BNT162b2 接種後 3 か月経過した血清、及び回復期患者血清を用いてウイルス中和測定を行った。測定方法としては、プラスミドに firefly を組み込み、擬似型ウイルスとして、ワクチン後血清と 1 時間 pre incubation 後に ACE2 が発現した HEK293T 細胞に感染させた。その 48 時間後に firefly の luciferase 値を ONE-Glo™ Luciferase Assay System を用いて測定した。また現在日本で承認されている中和抗体製剤としてソトロビマブとカシリビマブ・イムデビマブのカクテル抗体製剤についても同手法でオミクロン株に対しての有効性を確認した。

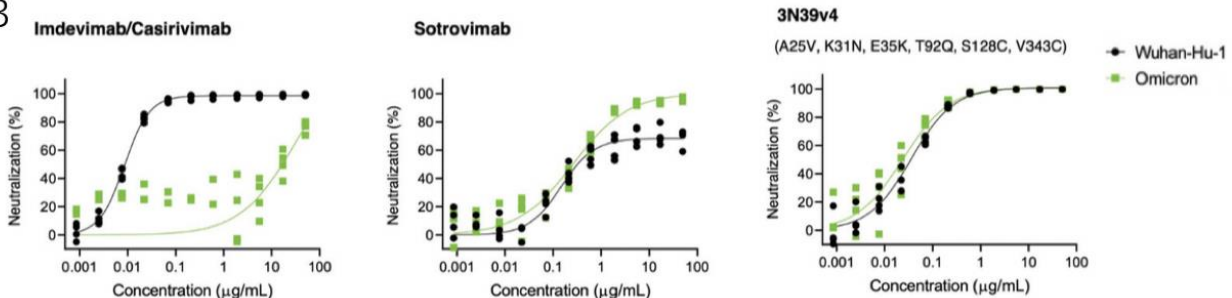
【結 果②】

BNT162b2 ワクチン 2 回目接種後 3 か月の血漿において武漢株と比較するとオミクロン株に対しては中和活性が 17.7 倍低下していた。またアルファ株とデルタ株感染患者血漿では、武漢株やアルファ株、デルタ株と比較して、オミクロン株では 10~20 倍中和活性が低下していた(下図 A)。また中和抗体製剤のうち、ソトロビマブは有効であるのに対してカクテル抗体製剤では中和活性が消失していた。一方、我々が開発した高親和性 ACE2 製剤は亜型である BA.2 も含めてオミクロン株に有効であった(下図 B)。

A



B



【考 察】

中和蛋白製剤を分泌する MSC について、CAR-T に代表されるような腫瘍免疫療法での細胞治療がすでに行われており、事前段階として MSC 自体は大部分が肺に集積する特徴は確認できていたが、注入した製剤の十分な分泌・治療効果までは確認できなかった。本研究においては In vitro での MSC 分泌過程におけるさらなる改良が要される。

ACE2 製剤の有効性について、オミクロン株はスパイク蛋白に約 30 個の変異を有し、これまでの様々な報告においてもワクチンや回復期患者血清での中和活性は 10~50 倍低下することが示されている。カクテル製剤においても同様に中和活性の低下が指摘される中、我々の ACE2 製剤ではオミクロン株の亜種にも有効性が示され、治療戦略としてのデコイ受容体の強さを浮き彫りにしたと考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

我々が今回開発した中和蛋白製剤は薬剤耐性変異株が出現しないという治療薬として大きな利点があり、また本製剤はウイルス受容体の情報があれば、患者由来サンプル等は不要で 1~2 か月でデザインが可能である。本研究のように蛋白製剤をより迅速に製剤化できる方法が今後改良できれば、さらなる変異株にも対応可能な魅力的な新規モダリティの技術基盤を確立でき、今後ウイルス感染症のパンデミックに対しても緊急に対応できると考える。

【参考・引用文献】

1. Ikemura N, Taminishi S, Inaba T, Arimori T, Motooka D, Katoh K, Kirita Y, Higuchi Y, Li S, Suzuki T, Itoh Y, Ozaki Y, Nakamura S, Matoba S, Standley DM, Okamoto T, Takagi J, Hoshino A. An engineered ACE2 decoy neutralizes the SARS-CoV-2 Omicron variant and confers protection against infection in vivo. *Sci Transl Med*. 2022 Jun 22;14(650):eabn7737. doi: 10.1126/scitranslmed.abn7737. Epub 2022 Jun 22. PMID: 35471044 →別紙郵送
2. Higuchi Y, Suzuki T, Arimori T, Ikemura N(Co-first), Mihara E, Kirita Y, Ohgitani E, Mazda O, Motooka D, Nakamura S, Sakai Y, Itoh Y, Sugihara F, Matsuura Y, Matoba S, Okamoto T†, Takagi J†, Hoshino A.† Engineered ACE2 receptor therapy overcomes mutational escape of SARS-CoV-2. *Nat Commun* 2021 doi: 10.1038/s41467-021-24013-y. PMID: 34155214
3. Arimori T, Ikemura N, Okamoto T, Takagi J, Standley DM, Hoshino A. Engineering ACE2 decoy receptors to combat viral escapability. *Trends Pharmacol Sci*. 2022 Oct;43(10):838-851. doi: 10.1016/j.tips.2022.06.011. Epub 2022 Jul 25. PMID: 35902282