

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：84420

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19395

研究課題名（和文）霊長類COVID-19モデルによる新型コロナウイルス再感染における肺炎病態の検討

研究課題名（英文）Study of pneumonia in SARS-CoV-2 reinfection by primate COVID-19 model

研究代表者

保富 康宏（Yasutomi, Yasuhiro）

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター・センター長

研究者番号：90281724

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：武漢株を用いた検討により、カニクイザルはヒトの病体を反映するモデルであることが示された。武漢株間での再感染は全ての個体において確認されなかったが、感接種に肺炎を発症した個体ではサイトカインストーム様症状を認めた。そこで、異種株間における再感染と病態の検討並びに現行mRNAワクチンを用いて感染における肺病態を検討した。変異株を用いた検討では、異種株間・同一株間においても再感染が認められた個体があった。mRNAワクチンの解析では、武漢株に対するウイルス感染抑制効果を認めたが、オミクロン株BA.5に対しては認められなかった。一方で、肺におけるウイルス抑制効果は武漢株・BA.5に対して認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パンデミックとなったCOVID-19に対し、迅速なワクチン開発および積極的なワクチン接種により一定の効果が得られているが、続的な新規変異株の出現と流行により、感染が拡大し長期化している。それらに病原性の解明や現行ワクチンの効果が課題となっている。さらに、感染により誘導される免疫システムの解析は、ワクチン戦略や公衆衛生管理、今後の感染予測において極めて重要な意味を持つ。これらを明らかにするためには、有効な動物モデルを用いた解析が必須であり、本研究で得られた知見は今後のワクチン戦略にも貢献できることが期待され、高い波及効果をもたらす可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The study with the Wuhan strain demonstrated that the cynomolgus macaque reflects human COVID-19 pathological conditions. We confirmed that re-exposure to the Wuhan strain did not result in PCR re-positivity; however, one elderly monkey developed transient pneumonia with increased levels of various serum cytokines and chemokines such as cytokine storm-like symptoms after re-exposure Wuhan strain. Therefore, we examined reinfection and pathogenesis among VOC strains and evaluate mRNA vaccine efficacy on pulmonary pathology using the COVID-19 cynomolgus macaque model. Re-infection was confirmed between different virus strains and between the same VOC strain in some cases. Analysis using the mRNA vaccine showed inhibition of viral infection against the Wuhan strain, but not against the Omicron BA.5. On the other hand, viral propagation was suppressed in the lungs against both the Wuhan strain and BA.5 in vaccinated-cynomolgus macaques.

研究分野：免疫学

キーワード：COVID-19 霊長類モデル 再感染 肺炎 mRNAワクチン

1. 研究開始当初の背景

SARS-CoV-2 による COVID-19 は世界的なパンデミックを引き起こし、この新たなウイルスに対し、迅速なワクチン開発・実用化が行われたが、申請時においては開発中であった。病原性についても未知の部分が多く、ウイルス・病態を理解すること、そして、新規の治療薬・予防法の確立が求められ、有効な動物モデルによる宿主免疫応答や病態の解析は重要な意味を持つと考えられた。加えて、SARS-CoV-2 への再感染についても複数報告がなされ、ワクチン等予防法開発における戦略への影響も含め精査が必須である。また、研究開発当初には変異株も出現し、免疫回避および病態の解明が急務であった。これらを明らかにするためには、人の病態を反映し、外挿性の高い有用な動物モデルを用いた検証が必要であり、申請者らが作製した SARS-CoV-2 感染カニクイザルモデルによる検証が最適であると考えた。

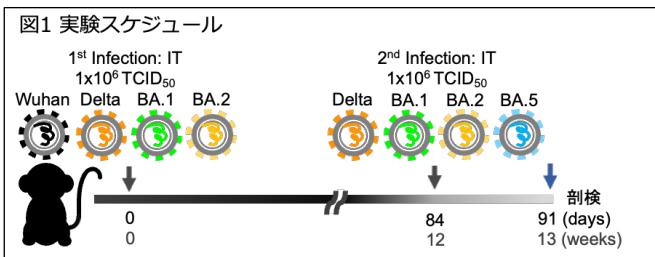
2. 研究の目的

本研究の目的は、申請者らが確立した COVID-19 カニクイザルモデルを用いて、SARS-CoV-2 感染および再感染時における病態を解き明かすことである (Urano E et al., PNAS 2021, Urano E et al., TRS 2022)。申請者らの所属機関では、世界的にも極めて貴重な高齢ザルの巨大コロニーを保有している。SARS-CoV-2 感染により、基礎疾患保有者や高齢者においては重症化リスクが高いことがパンデミック直後から報告されており、これら貴重な高齢ザルを用いて SARS-CoV-2 再感染モデルの検討を行ったところ、初回感染以上に強い肺炎像を示す個体も確認された。SARS-CoV-2 は継続的な変異株 (懸念される変異株: VOC) の出現により、再感染の有無や病態の解明が急務となった。このため、各種 VOC を用いて再感染について検討を行った。再感染の検証はワクチン戦略に重要な知見を得られることが期待される。このため、現行 mRNA ワクチンを用いてウイルス感染における肺病態についても検討を行った。

3. 研究の方法

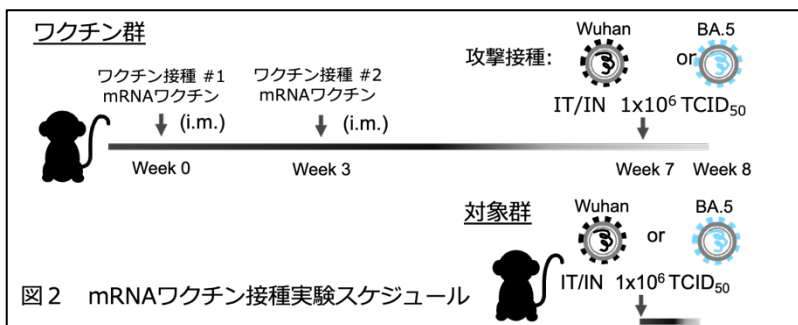
SARS-CoV-2 感染カニクイザルにおける病態の解析

- ・ カニクイザルに SARS-CoV-2 を経気道感染させ、感染急性期における肺炎像を CT 検査により精査し、定期的に採血を行い、血液性化学検査を継続的に行った。
- ・ SARS-CoV-2 感染カニクイザルのウイルス複製・増殖については、継続的な咽頭スワブの RT-PCR により、ウイルスの有無の確認と定量を行い、ウイルス排出期間を精査した。
- ・ SARS-CoV-2 感染カニクイザル血漿中のサイトカインプロファイルを感染前・感染後で精査した。
- ・ 初感染より一定の期間を空け、同一株または異なるウイルス株を経気道より再接種し、初感染時と同様に精査した。
- ・ SARS-CoV-2 感染カニクイザル血漿を用いて、SARS-CoV-2 特異的抗体の抗体価を測定し、抗体誘導能・抗体維持期間を解析した。



mRNA ワクチンを用いたウイルス感染時における肺病態の解析

- ・ カニクイザルに mRNA ワクチン (武漢型) を 2 回接種し、SARS-CoV-2 特異的抗体の抗体価を測定し、ワクチンによる抗体誘導能を精査した。
- ・ 2 回目のワクチン接種から 4 週後に武漢型、また直近の流行株であったオミクロン株 (BA. 5) の攻撃接種を行い、継続的な CT 検査、咽頭スワブの RT-PCR により、病態およびウイルス感染の有無、ウイルス定量を行った。
- ・ 攻撃接種後 7 日に剖検を行い、肺を含む主要組織におけるウイルス動態について精査した。



4. 研究成果

SARS-CoV-2 感染カニクイザルにおける病態の解析

先行研究にて、武漢株間における再感染は認められなかった。しかしながら、ウイルス再接種後に高齢個体で複数のサイトカインやケモカインの上昇を伴い肺炎を発症した個体が認められた。本研究では、VOC の中でも急速に感染拡大が起こった、デルタ株およびオミクロン株 (BA. 1, BA. 2, および BA. 5) を用いて再感染の検討を行った。1x10⁶ TCID₅₀ の SARS-CoV-2 を経気道より感染させ、初感染より 12 週後に SARS-CoV-2 の再接種を行った。

咽頭スワブ PCR により再感染の有無について精査したところ、再感染時にデルタ株を接種した個体では全ての個体で咽頭スワブよりウイルスが検出されたが、オミクロン株を接種した個体ではウイルスの検出率は 50%であった。このことは、ウイルスの増殖性と一致しており、増力効率の高いデルタ株では再感染=PCR 再陽性が起こると考えられる。実際に、2 回目の感染時における咽頭スワブ中のピークウイルス量は低く、排出期間も短かった。一方で、オミクロン株のウイルス増殖能力は低いが 50%で再感染が認められた。さらに、再感染後に肺炎が認められたのは、オミクロン株接種個体のみであり、デルタ再感染個体では認められなかった。このことから、オミクロン株の免疫原性の低さが示唆された。抹消中の各種 VOC のレセプター結合領域に対する抗体価を ELISA にて測定したところ、武漢株やデルタ株の初感染個体では、効率的に抗体が誘導され、再感染時にはブースター効果が認められるのに対して、オミクロン株初感染個体では抗体誘導能が低く、ブースター効果も限定的であった。これらの、知見は今後のワクチン戦略を議論するうえで極めて重要な知見である。現在、再感染時における病態と相関する因子について精査中である。

表 1 再感染時におけるウイルス検出と肺炎像の有無

| 2nd Virus strain | PCR | Lung inflammation |
|------------------|-----|-------------------|
| Delta | 4/4 | 0/4 |
| BA.1 | 3/4 | 1/3 |
| BA.2 | 1/2 | 0/2 |
| BA.5 | 0/2 | 2/2 |

mRNA ワクチンを用いたウイルス感染時における肺病態の解析

カニクイザルに mRNA ワクチン (武漢型) を 2 回接種し、SARS-CoV-2 特異的抗体の抗体価を測定したところ、武漢株に対する抗体誘導は 1 回接種後および 2 回接種後に段階的に強く誘導されていたが、オミクロン株 BA. 5 に対する抗体誘導はほとんど誘導されなかった。武漢株の攻撃接種後、対象個体の咽頭スワブ中からウイルスは検出されたのに対し、ワクチン接種個体では検出限界であった。一方で、BA. 5 攻撃接種後の咽頭スワブ中のウイルス量に差は認められなかった。攻撃接種 7 日目に全身主要臓器・組織におけるウイルスゲノムの検出を試みたところ、武漢株攻撃接種ワクチン群では全て検出以下であり、BA. 5 攻撃接種群においても 1/3 頭でのみ、肺の一部でウイルスゲノムが検出されたが、対象群と比較するとウイルス量も低く限定的であった。また、ワクチン接種個体で肺炎は認められなかった。

武漢型 mRNA ワクチンの新規流行株に対する感染予防効果は認められなかったが、感染 7 日後に肺等生体内におけるウイルス増殖即効効果は新規流行株 BA. 5 に対しても武漢株と同程度に認められ、ワクチンの重症化予防効果について実験的に明らかにすることができた。

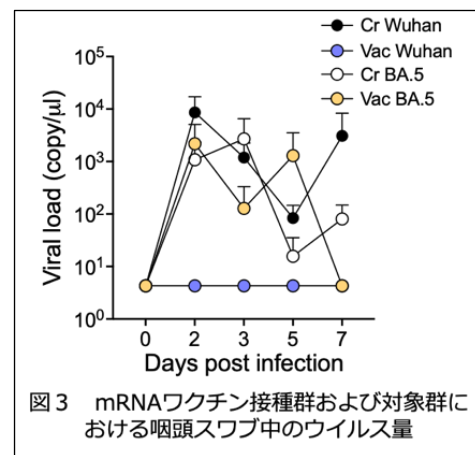


図 3 mRNAワクチン接種群および対象群における咽頭スワブ中のウイルス量

本研究で得られた成果は、ワクチン戦略や公衆衛生管理、今後の感染予測において極めて役立つ知見であると期待される。

参考文献

- [Urano E, Okamura T, Ono C, Ueno S, Nagata S, Kamada H, Higuchi M, Furukawa M, Kamitani W, Matsuura Y, Kawaoka Y, Yasutomi Y. COVID-19 cynomolgus macaque model reflecting human COVID-19 pathological conditions. PNAS. 2021 Oct 26;118\(43\)](#)
- [Urano E, Okamura T, Kamitani W, Kawaoka Y, Yasutomi Y. Comparison of young and elderly COVID-19 cynomolgus macaque models reflecting human COVID-19 pathological conditions. Translat Regulat Sci. 4\(1\): 20–24, 2022.](#)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 Urano E, Okamura T, Kamitani W, Kawaoka Y, Yasutomi Y. | 4. 巻 118 |
| 2. 論文標題 Comparison of young and elderly COVID-19 cynomolgus macaque models reflecting human COVID-19 pathological conditions. | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 J Translational and Regulatory Science | 6. 最初と最後の頁 印刷中 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Urano E, Okamura T, Ono C, Ueno S, Nagata S, Kamada H, Higuchi M, Furukawa M, Kamitani W, Matsuura Y, Kawaoka Y, Yasutomi Y. | 4. 巻 118 |
| 2. 論文標題 COVID-19 cynomolgus macaque model reflecting human COVID-19 pathological conditions. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A | 6. 最初と最後の頁 1-2 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2104847118. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Asaka MN, Utsumi D, Kamada H, Nagata S, Nakachi Y, Yamaguchi T, Kawaoka Y, Kuba K, Yasutomi Y. | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Highly susceptible SARS-CoV-2 model in CAG promoter-driven hACE2-transgenic mice. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 JCI Insight | 6. 最初と最後の頁 1-2 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.152529. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Yamaguchi T, Hoshizaki M, Minato T, Nirasawa S, Asaka MN, Niiyama M, Imai M, Uda A, Chan JF, Takahashi S, An J, Saku A, Nukiwa R, Utsumi D, Kiso M, Yasuhara A, Poon VK, Chan CC, Fujino Y, Motoyama S, Nagata S, Penninger JM, Kamada H, Yuen KY, Kamitani W, Maeda K, Kawaoka Y, Yasutomi Y, Imai Y, Kuba K. | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 ACE2-like carboxypeptidase B38-CAP protects from SARS-CoV-2-induced lung injury. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Nat Commun | 6. 最初と最後の頁 1-2 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-27097-8. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Emiko Urano, Tomotaka Okamura, Yasuhiro Yasutomi |
| 2. 発表標題 Analysis of SARS-CoV-2 pathogenicity in COVID-19 cynomolgus macaque model reflecting human COVID-19 pathological conditions. |
| 3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 浦野恵美子, 岡村智崇, 保富康宏 |
| 2. 発表標題 COVID-19カニクイザルモデルを用いたSARS-CoV-2各種変異株の感染病態と再感染の検討 |
| 3. 学会等名 第69回日本ウイルス学会学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Emiko Urano, Tomotaka Okamura, Yasuhiro Yasutomi |
| 2. 発表標題 Analysis of SARS-CoV-2 pathogenicity in COVID-19 cynomolgus macaque model reflecting human COVID-19 pathological conditions. |
| 3. 学会等名 IMMUNOLOGY2022 (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Emiko Urano |
| 2. 発表標題 COVID-19 cynomolgus macaque models reflecting human COVID-19 pathological conditions; contribute to the vaccine development against the next variant |
| 3. 学会等名 7th International Conference on Vaccines Research & Development (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------|---|---|----|
| 研究 分担 者 | 浦野 恵美子 (Urano Emiko) (40794988) | 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研 究所 霊長類医科学研究センター・主任研究員 (84420) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|