

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の 患者血清中に含まれる抗ウイルス抗体の検出に成功

横浜市立大学学術院医学群 微生物学 梁 明秀教授を中心とする研究グループは、ELISA 法^{*1}とイムノクロマト法^{*2}を用いて、新型コロナウイルス患者血清中に含まれる抗ウイルス抗体（IgG）の検出に成功しました。今後、これらの検出法について臨床的意義などの有用性を多数の患者検体で検証し、診断法の確立や試薬キットの開発、実用化を目指します。

研究成果のポイント

ELISA法の概要



イメージ図

概要 : 新型コロナウイルスに対する抗体価 (IgG) の定量分析
検体 : 血清
必要量 : 100 μ L
所要時間 : 血清添加後、約2時間半
特徴 : 多検体を定量的に測定可能

イムノクロマト法の概要



イメージ図

概要 : 新型コロナウイルスに対する抗体 (IgG) の定性分析
検体 : 血清
必要量 : 100 μ L
所要時間 : 血清添加後、約15~30分
特徴 : 簡単な操作で迅速な分析が可能

- 発症後 7~10 日程度経過した肺炎患者などへの使用に有効
- 特別な装置を必要とせず、簡単な操作で短時間にウイルス感染の可能性を調べることが可能
- どちらも血液を用いる診断法のため、検体が採取しやすく、検体採取時の医療従事者などへの二次感染リスクが比較的低い
- PCR 法と併用することで、よりの確な診断を行うことが可能

研究の背景

2019-新型コロナウイルス（2019-nCoV/SARS-CoV-2）の患者は、わずか2ヶ月の間に世界中で約10万人の感染者と3,000人を超える死亡者が報告されており、世界的に公衆衛生上の非常に大きな問題として早急な対策が求められています。一方で、このウイルスの性状や病原性などの解析は未だ十分ではなく、医療現場で使用可能な迅速診断法や血清抗体診断法は確立されていません。

梁教授ら研究グループは、コロナウイルスを構成するタンパク質を、梁教授の保有技術であるコムギ無細胞タンパク質合成法^{*3}で調製し、2019-nCoV 感染症（COVID-19）に対する血清学的診断法（抗体検出法）の研究を進め、このタンパク質を用いて、ELISA 法とイムノクロマト法を用いた新型コロナウイルスの血清診断法につながる IgG 抗体の検出に成功しました。

研究の内容

一般的に、ウイルス感染後に産生される IgG 抗体は、発症後1週間ほど経過した後に上昇するため、その時点での感染状態を必ずしも反映しない場合もあります。しかしながら、COVID-19 は、多くの症例において、潜伏期が数日から2週間程度と比較的長く、風邪症状が出現してから約5~7日程度経過した後に、症状が急速に悪化し肺炎に至るため、血清抗体の有無が、本感染症の確定診断や治療法の選択に役立つことが期待されます。実際、発症後10日以上経過している COVID-19 患者由来の臨床検体（6例）を用いた解析では、PCR 陽性患者検体すべてで陽性反応を示しました。また、本抗体測定法は、過去にさかのぼって回顧的に新型コロナウイルス感染の既往の有無について検証できるため、今後の疫学調査においても有用であると考えられます。

ELISA 法は抗体価を定量分析するもので、検出感度が高く、かつ多検体の処理に向いています。また、ペア血清*4 を用いた、病勢分析や治療効果の判定などにも活用できます。一方、イムノクロマト法は目視判定による定性分析が可能であるため、特別な装置を必要とせず、簡単な操作で短時間にウイルス感染の可能性を調べることができます。どちらも血液を用いる診断法のため、検体が採取しやすく、検体採取時の医療従事者などへの二次感染リスクが比較的低いことも特徴に挙げられます。

今後は、このウイルス抗原タンパク質を関東化学株式会社の試薬キット化技術と組み合わせることで、臨床現場で望まれる形態のキット構築を目指します。

さらに症例数を増やした検討が必要ですが、検査診断法の中でも、外来やベッドサイドで実施可能な迅速診断法を確立し、精度の向上を図ることができれば、PCR 法と併用することでより適切な治療を行うことが可能になると考えられます。この新型コロナウイルスの血清診断法のさらなる改良を行っていくとともに、関連機関と連携して実証研究を推進する予定です。

※今回公表した研究成果は、現時点では「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」に基づく体外診断用医薬品などの承認を得ておらず、実証研究段階のものとなりますので、同法に抵触するような取扱や広報は避ける必要があることから、その点につきましてご配慮のほど、よろしくお願いたします。

用語説明

*1 ELISA 法 (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) :

抗原または抗体を使った免疫学的測定法の 1 つ。試料溶液中に含まれる目的の抗原または抗体を、特異抗体あるいは抗原で捕捉し、酵素反応を利用して検出および定量を行う。

*2 イムノクロマト法 :

抗原抗体反応と毛細管現象を応用した免疫測定試薬。簡単な操作で病原体などを目視で検出することが可能であり、既にインフルエンザウイルスや妊娠診断などで実用化されている。

*3 コムギ無細胞タンパク質合成法 :

タンパク質合成阻害物質を除去した小麦胚芽抽出液に、アミノ酸などの基質と目的 mRNA を加えるだけで、安定・効率的にタンパク質を合成する技術。本手法を用いることで従来合成が困難とされてきたウイルスタンパク質の大量合成が可能となる。

*4 ペア血清 :

通常、ウイルス感染後に産生される抗体価は、過去にそのウイルスに感染したことを回顧的に示すだけで、現在の感染状態を必ずしも反映しない。そのため、急性期と回復期の 2 点で血清を採取し (ペア血清)、それらの間で抗体価の比較が行われる。一方、今回のような新興ウイルスの場合、原則的に、過去に感染した人がいないため、一度の抗体測定であっても、抗体価が上昇していれば、現在または過去に感染があったことを示すことができると考えられる。

※本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の診断法開発に資する研究 (研究代表者: 国立感染症研究所 感染病理部 鈴木忠樹部長)」の支援を受けて行われました。また、橋渡し研究は関東化学株式会社との共同研究として実施されました。

YCU
横浜市立大学

お問い合わせ先

研究企画・産学連携推進課長 渡邊 誠

TEL : 045-350-6516 E-mail : kenkyupr@yokohama-cu.ac.jp