

## 14. 新型コロナウイルスワクチン接種後の血中ウイルス中和抗体に関する研究

○谷 英樹、板持雅恵、矢澤俊輔、稲崎倫子、佐賀由美子、五十嵐笑子、田村恒介、前西絵美、磯部順子、中村雅彦、高岡美紗、笹島 仁、川尻千賀子、大石和徳（富山県衛生研究所）

### 【研究の必要性と目的】

2019年12月に中国武漢市で発生した新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、2020年には世界的な大流行に発展し、その原因病原体である新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）は2020年12月以降、B.1.1.7（アルファ株）、B.1.351（ベータ株）、P.1（ガンマ株）、B.1.617.2（デルタ株）、B.1.1.529（オミクロン株）等、種々の変異株となって世界中で流行している。COVID-19に対するワクチン開発は極めて迅速に進み、2020年から世界的に導入された。我が国におけるCOVID-19ワクチンは、2021年2月から医療従事者へ、続いて、65歳以上の高齢者、基礎疾患を有する者、高齢者施設等の従事者へ優先的に接種された。ただし、ワクチンは武漢株を抗原として用いられていることから、ウイルスの抗原性の変化によるワクチンの防御効果の低下や、ブレイクスルー感染の増加が懸念されている。高齢者においては、若齢の成人に比較して、2回接種後の武漢株および変異株（アルファ株、ベータ株、ガンマ株）に対する液性免疫および細胞性免疫が低いことが報告されている（1, 2）。ワクチン効果の維持期間については、BNT162b2 ワクチン2回接種による抗体が6~7か月維持されることや（3, 4）、BNT162b ワクチンによる発症予防効果は2回接種211日後に23%まで減少すること（5）が報告されている。本調査では、ハイリスク者である高齢者における感染伝播を防ぎ、ワクチン接種体制について評価するため、オミクロン株を含む種々の変異株に対する中和抗体に関するコホート研究を実施した。

### 【方法】

#### 対象

富山県内の6高齢者施設の入所者142名（57~103歳）および施設職員194名（18~79歳）の計336名を対象とした（表1）。調査の実施に際し、富山県衛生研究所倫理審査委員会により承認を得た（承認番号R3-11）。研究対象者本人または代諾者には、本調査への協力について文書により同意を得た。

#### SARS-CoV-2 シュードタイプウイルス（SARS-CoV-2pv）中和活性の測定

ワクチン接種前、2回接種2か月後および5か月後、3回接種2か月後に血液を採取し、血中中和抗体について評価した。中和活性は、エンベロープ遺伝子を欠損した水疱性口内炎ウイルスにSARS-CoV-2の武漢株、アルファ株、デルタ株、オミクロン株（BA.1）のスパイクタンパク質を外套させたシュードタイプウイルス（SARS-CoV-2pv）による感染阻害率を、

ルシフェラーゼ活性を指標に算出した(6)。中和活性 (NT activity) は、陰性対照と中和後の SARS-CoV-2pv ルシフェラーゼ活性から被験血清と中和後の SARS-CoV-2pv ルシフェラーゼ活性の割合を除いた値とした。

### **IgG ELISA**

ELISA プレートに SARS-CoV-2 武漢株の Receptor binding domein (RBD) タンパク質 ( $1\mu\text{g/mL}$ ,  $50\mu\text{L/well}$ ) (ACRO Biosystems) を、 $4^{\circ}\text{C}$ 一晩固相化した。0.1%-Tween20 加 PBS で洗浄し 20% Blocking-One 加 PBST でブロッキング後、400 倍に希釈した血清を反応させた。洗浄後、anti-Human IgG HRP (Promega) を反応させ、洗浄し、ABTS 溶液を加え、4N 硫酸で反応を停止後、波長 405/490nm のプレートリーダーで酵素活性を検出した。

### **ワクチン接種後の有害事象に関するアンケート調査**

研究対象者の 1 回目、2 回目、および 3 回目ワクチン接種後の有害事象の有無について、アンケートを行った。有害事象の項目は、注射部位の痛み、発赤、腫脹、発熱、易疲労感、頭痛、悪寒、嘔吐、下痢、筋肉痛、関節痛、アナフィラキシーショック、その他とした。入居者における有害事象の有無の確認は施設職員に協力いただいた。

### **統計解析**

年齢、性別の IgG 抗体価、ウイルス株に対する中和活性、ワクチン接種後の有害事象の発生頻度を、危険率 5%未満を有意とし、IBM SPSS Statistics 27.0 を用いて検定を行った。

#### **【実施内容・結果】**

#### **RBG IgG 抗体価および SARS-CoV-2pv 中和活性の変動**

武漢株 RBD IgG 抗体価の平均値は、ワクチン 2 回接種 2 か月後に  $1.7\times 10^4\text{ U/mL}$  と上昇し、5 か月後では  $7.3\times 10^3\text{ U/mL}$  と、3 か月間で約 4 割の値に減少したが、ワクチン 3 回接種 2 か月後では、 $3.3\times 10^4\text{ U/mL}$  と 2 回接種後の 1.5 倍の値に上昇した (図 1A)。武漢株、アルファ株、デルタ株、オミクロン株 SARS-CoV-2pv に対する中和活性の幾何平均値は、ワクチン 2 回接種 2 か月後ではそれぞれ 35.9 倍、6.6 倍、2.8 倍、1.2 倍と上昇した (図 1B)。5 か月後ではそれぞれ 22.4 倍、5.9 倍、2.3 倍、1.0 倍と漸減したが、ワクチン 3 回接種 2 か月後では、それぞれ 326.0 倍、118.2 倍、44.0 倍、6.1 倍と顕著に上昇した (図 1B)。

#### **ウイルス株、年齢別、性別の IgG 抗体価および SARS-CoV-2pv 中和活性**

各年齢区分におけるワクチン 2 回接種 2 か月後の武漢株 RBD IgG 抗体価の平均値は、90 歳以上の  $9.7\times 10^3\text{ U/mL}$  から 29 歳以下の  $2.6\times 10^4\text{ U/mL}$  までを示し、年齢が低いほど高くなった。同様に、年齢区分別の 2 回接種 2 か月後における SARS-CoV-2pv による中和活性の幾何平均値は、武漢株では 90 歳以上の 10.2 倍から 29 歳以下の 104.3 倍までを、アルファ株では 90 歳以上の 2.9 倍から 29 歳以下の 16.8 倍までを、デルタ株では 90 歳以上の 1.4 倍から 29 歳以下の 6.2 倍までを示し、年齢が低いほど中和活性が高くなった。オミクロン株 pv に対する中和活性は、90 歳以上の 1.0 倍から 29 歳以下の 1.4 倍までを示し、全年齢層で低かった。また、2 回接種 5 か月後においても 2 か月後と同様に年齢が高くなるに従

い、RBD IgG 抗体価および変異株に対する中和活性は低くなった。

一方、3 回接種 2 か月後においては、武漢株 RBD IgG 抗体価の平均値は、80~89 歳の  $2.9 \times 10^4$  U/mL から 29 歳以下の  $4.9 \times 10^4$  U/mL までを示した。29 歳以下と 80-89 歳、29 歳以下と 80-89 歳、40-49 歳と 80-89 歳との間で IgG 抗体価の平均値に有意差がみられた以外は、年齢区分別で抗体価に差がみられなかった。3 回接種 2 か月後における SARS-CoV-2pv に対する中和活性は、武漢株では 90 歳以上の 161.0 倍から 60~69 歳の 1,324 倍まで、アルファ株では 90 歳以上の 64.0 倍から 60~69 歳の 300.0 倍まで、デルタ株では 90 歳以上の 21.3 倍から 60~69 歳の 83.3 倍、オミクロン株では、90 歳以上の 4.1 倍から 29 歳以下の 9.9 倍までをそれぞれ示した。すべての株に対する中和活性が、すべての年齢区分で 2 回目接種後よりも 3 回目接種後で上昇した。しかしながら、オミクロン株に対する中和活性の幾何平均値は、すべての年齢区分で武漢株に対する中和活性の幾何平均値の 0.6-2.6% の値であり、中和抗体の応答が低かった。

#### ワクチン接種による有害事象の発生頻度

注射部位の痛みは、69 歳以下の 65%以上において、1 回目、2 回目、3 回目のすべての接種後にみられた (図 2A)。発赤の発生頻度は、1 回目接種では 29 歳以下が 10.0% (3/30) と高く、2 回目接種では、50-59 歳の 30.8% (12/39)、30-39 歳の 23.7% (9/38)、3 回目接種では 50-59 歳の 35.9% (14/39)、30-39 歳の 26.3% (10/38) が高く、79 歳以下のほとんどすべての年齢区分で、接種回数を重ねるに従い、有害事象の発生頻度が高くなった。腫脹、発熱、易疲労感、頭痛、悪寒、筋肉痛、関節痛についても、79 歳以下のほとんどすべての年齢区分で、接種回数を重ねるに従い、有害事象の発生頻度が高くなった。3 回目接種で 38℃以上の発熱の発生頻度が高かったのは、30-39 歳の 71.1% (27/38)、40-49 歳の 58.8% (30/51)、29 歳以下の 50.0% (15/30) であった。

有害事象の重症度について、注射部位の痛み、易疲労感、頭痛、寒気、筋肉痛、関節痛で日常生活に支障があった人の割合も、69 歳以下の年齢区分で接種回数を経るに従い、高くなった (図 2B)。年齢別では、59 歳以下の青年から中年における日常生活に支障があった人の割合が 60 歳以上の高齢者に比較して多かった。日常生活に支障があった有害事象の種類別では、3 回接種後の易疲労感で、40-49 歳で 54.9% (28/51)、30-39 歳で 42.1% (16/38)、50-59 歳で 35.9% (14/39) と高かった。

#### 【考察と今後の課題】

本調査では、高齢者施設の入居者および職員における COVID-19 ワクチン (コミナティ : BNT162b2) 3 回接種 2 か月後までの武漢株、および変異株に対する中和抗体の応答を解析した。高齢者施設を対象とした 3 回目接種後の抗体調査については、フィンランドや米国の研究グループから報告されており、高齢の入居者においては若齢の施設職員と比較して抗体価は低いものの、ブースター接種によって Wuhan 株、Omicron 株に対する中和抗体価

が上昇することが示されている。今回の調査では、さらに高齢者を年齢別に細分化したところ、90歳以上の超高齢者においても3回のワクチン接種による免疫効果がみられることが示された。

ワクチンは、武漢株を基に作製されたものであるが、変異株に対する中和活性について比較したところ、アルファ株、デルタ株、オミクロン株では2回接種2か月後、5か月後、3回接種2か月後のすべてで中和活性は武漢株に比較して顕著に低かった。特にオミクロン株に対しては、すべての年齢区分で武漢株の中和活性の0.6-2.6%の値であり、中和抗体の応答が低かった。3回目のブースター接種によりオミクロン株についても抗体が上昇する報告があるが(7)、抗体価は武漢株やデルタ株よりも低い。流行株の抗原性は1-2年で変化したことから、流行株と抗原性が適合するワクチン開発に関する検討は毎年必要であると考えられる。

年齢別では、高齢者においては、若齢者と比較して武漢株 RBD IgG 抗体価および武漢株、アルファ株、デルタ株、オミクロン株 SARS-CoV-2pv に対する中和活性が顕著に低かった。高齢になるほど SARS-CoV-2 に対する中和活性が低くなったことは、既報と合致する(8)。このことは、多数の高齢者が生活する高齢者福祉施設では、個人のみならず集団における感染のリスクおよび重症化リスクが高いことを示している。SARS-CoV-2 感染に対する免疫反応には、年齢以外にも、免疫疾患の有無、遺伝的多様性、肥満、HLA 型等、種々の要因があることが知られており、今回の調査ではこれらの要因については調べていないが、若齢者でも中和活性の低い人は感染リスクと感染対策について注意する必要がある。

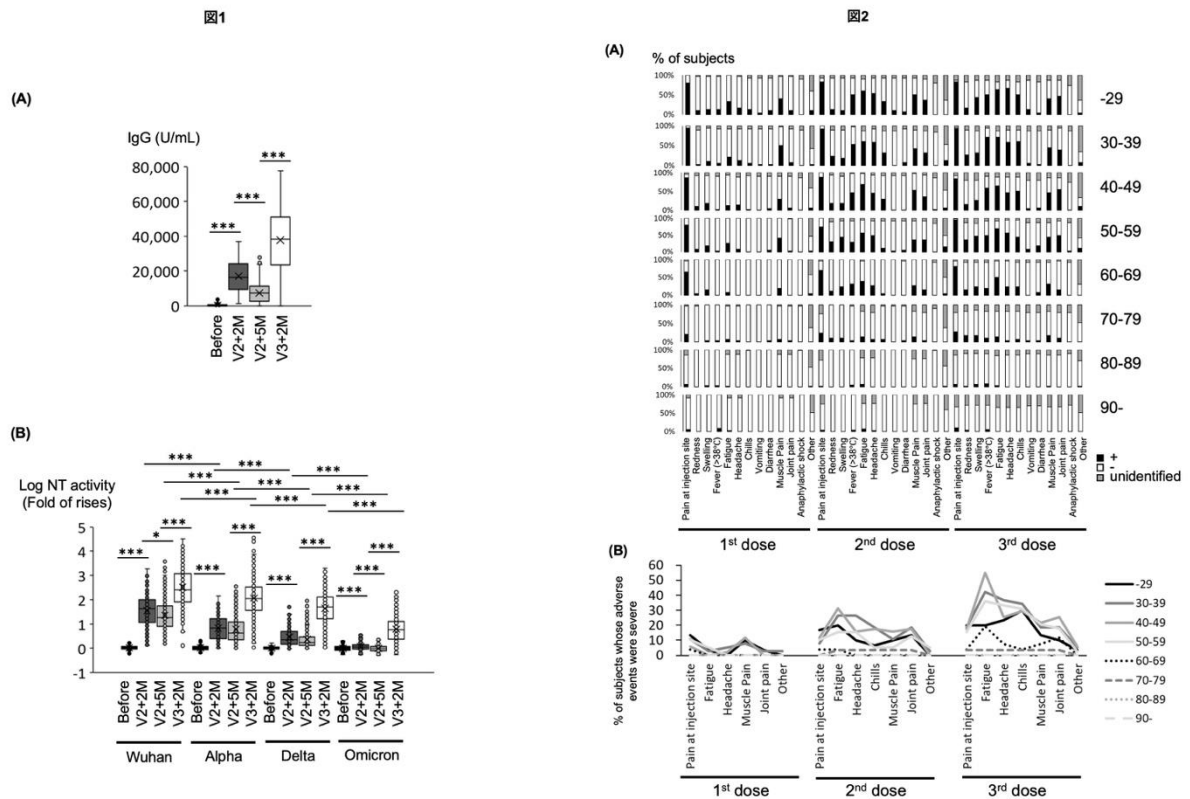
2022年現在、我が国においても追加接種(3回~4回目ワクチン接種)が進められている。今後も集団免疫の状況や、流行株とワクチン株との抗原性の違いとワクチン効果について、継続して監視することが重要と考えられる。

### 【謝辞】

本研究にご協力いただいた高齢者施設の皆様、富山市医師会等、関係各位に深くお礼申し上げます。本研究は、日本公衆衛生学会、大同生命厚生事業団、黒住医学研究振興財団の助成を得て実施しました。

### 【参考文献】

1. Collier DA, et al., Nature 2021; 596: 417-422.
2. Müller L, et al., Clin Infect Dis 2021; 73: 2065-2072.
3. Maeda K, et al., Sci Rep. 2021; 11: 22848.
4. Levin EG, et al., N Engl J Med. 2021; 385: e84.
5. Nordström P, et al., Lancet. 2022; 399: 814-823.
6. Tani H, et al., Virol. J, 2021; 18: 16.
7. Garcia-Beltran WF, et al., Cell. 2022; 185: 457-466.e4.



【経費使途明細】

使 途	金 額
抗 SARS-CoV-2 S-RBD IgG ELISA キット	87,307 円
採血業務手数料 44名 (被採血者 15名あたり 5,000 円)	12,663 円
採血業務手数料 95名 (被採血者 15名あたり 5,000 円)	31,776 円
採血業務費用	52,111 円
採血管ネオチューブ NP-SP0513 ニプロ, 30-128 他 5	67,617 円
ブラストサイジン S 塩酸塩・HEPES 溶液 1ml	7,738 円
バキューエット採血管 2.5ml 13×75 プルキャップ 紙ラベル 赤色	14,630 円
採血業務手数料 61名 (被採血者 15名あたり 5,000 円)	20,443 円
ダルベッコ変法イーグル培地 5本入 他 1	5,715 円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円