



NIHS 医薬品安全性情報 Vol.18 No.18 (2020/09/10)

新型コロナウイルス関連情報

目次

●SARS-CoV-2抗体関連

- COVID-19患者におけるIgG抗体およびIgM抗体の応答パターン (編集長へのレター)
[Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):1269-1274]2
- 健康非感染者およびCOVID-19患者におけるSARS-CoV-2反応性T細胞
[Nature. 2020 Jul 29].....4

「NIHS 医薬品安全性情報」は、医薬安全科学部が海外の主な規制機関・国際機関等から発信された医薬品に関する安全性情報を収集・検討し、重要と考えられる情報を翻訳または要約したものです。

['○○○']の○○○は当該国における販売名を示し、医学用語は原則としてMedDRA-Jを使用しています。略語・用語の解説、その他の記載については<http://www.nihs.go.jp/dig/sireport/weekly/tebiki.html>をご参照ください。

※本情報を参考にされる場合は必ず原文をご参照ください。本情報および本情報にリンクされているサイトを利用したことによる結果についての責任は負いかねますので、ご了承ください。

<https://www.nihs.go.jp/dig/covid19/index.html>

↑ COVID-19 治療薬候補ごとの情報をまとめた特設サイトはこちら

新型コロナウイルス関連文献情報

●[SARS-CoV-2抗体関連](#)

Vol.18(2020) No.18(08/31)L01

●COVID-19患者におけるIgG抗体およびIgM抗体の応答パターン (編集長へのレター)

[Patterns of IgG and IgM antibody response in COVID-19 patients \(Letter to the Editor\)](#)

Liu X, Wang J, Xu X, et al.

[Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):1269-1274]-peer reviewed (査読済み)

(抜粋・要約)

◇背景

COVID-19(SARS-CoV-2感染症)の確定診断には、鼻咽頭ぬぐい液、喀痰、あるいは気管支肺胞洗浄液の検体でのRT-PCRによるSARS-CoV-2 RNA検出が用いられているが、最近では、SARS-CoV-2特異的IgM抗体およびIgG抗体の検出も、過去のSARS-CoV-2感染のエビデンスとして理解されてきている。しかし、COVID-19患者でのSARS-CoV-2抗体応答については未だ十分解明されていない。本研究では、SARS-CoV-2感染時の液性免疫応答を明らかにするため、COVID-19患者におけるSARS-CoV-2に対する抗体応答パターンを検討した。

◇方法

◇COVID-19患者の研究組み入れと重症度分類

COVID-19確定診断を受けた患者32例を本研究に組み入れた。全員が鼻咽頭ぬぐい液、喀痰、あるいは気管支肺胞洗浄液の検体を用いたRT-PCR検査でSARS-CoV-2陽性であった。以下の症状のうち1つ以上を呈する患者をCOVID-19重症に分類した。(a)呼吸窮迫(呼吸数 \geq 30回/分)、(b)安静時酸素飽和度 \leq 93%、(c) $P_aO_2/F_iO_2^A \leq 300$ mmHg、(d)機械的換気を要する呼吸不全、(e)敗血症性ショックの発現、または(f)ICUでの治療を要する重要臓器不全。上記の基準を満たさない患者をCOVID-19軽症に分類した。

◇SARS-CoV-2抗体の検出

患者32例から計217の血液検体を採取した(1例あたり平均6.8検体)。量子ドット蛍光免疫測定法^Bを用いて、IgM抗体およびIgG抗体を半定量的に検出した。検出には、中国・重慶市のChongqing Xinsaiya Biotechnology^C社の抗SARS-CoV-2 IgGおよびIgMキットを使用した。本法は、量子ドットを用いたサンドイッチイムノブロット法を用いている。すべての血清検体について3反復で測定し、測定値の平均を最終的な検査結果とした。

^A 動脈血酸素分圧(P_aO_2)と吸入気酸素濃度(F_iO_2)の比(P/F比)

^B quantum dot immunofluorescence assay

^C 重庆新赛亚生物科技有限公司

◇結果

◇患者特性

患者32例の年齢中央値は55歳で、約2/3は男性であった。32例のうち、18例(56.3%)は重症、14例(43.7%)は軽症であった。発症時の症状で最も多かったのは、発熱、咳嗽、疲労、呼吸困難、および頭痛であった。本研究は、Chongqing Public Health Medical Center^Dの倫理委員会の承認を受け、血液検体採取前に全被験者からインフォームド・コンセントを得て行った。

◇SARS-CoV-2に対するIgG抗体およびIgM抗体の応答パターン

SARS-CoV-2スパイク(S)タンパク質特異的なIgG抗体およびIgM抗体はいずれも、感染のごく初期(Day-0~Day-3)には検出不能であった。SARS-CoV-2(S)特異的IgM抗体は、Day-4以降に検出可能となり、経時的に抗体価が上昇し、Day-20頃ピークに達した後に減少し始めた。IgM抗体の陽性率は60%に過ぎず、発症から4週間後には抗体価は顕著に減少した。SARS-CoV-2(S)特異的IgG抗体は、Day-7以降に検出可能となり、Day-25頃ピークに達し、感染から4週間後も高い抗体価を維持していた。

◇軽症例と重症例における抗体応答の比較

さらに、COVID-19の軽症と重症とで抗体検出に差がみられるか検討した。血清IgG抗体レベルは、感染初期には臨床的重症度と有意な相関はなかったが、Day-15以降、軽症と重症とでIgG抗体レベルに統計的に有意な差が見出され[Day-15 ($N^E = 17$), Day-20 ($N = 6$), Day-21 ($N = 11$)において、いずれも $p < 0.05$]、COVID-19重症例では軽症例に比べ、SARS-CoV-2に対するIgG応答が強い傾向がみられた。軽症者の中にはDay-9以降に強いIgG抗体応答を示すものもいたが、軽症者の21.43%ではIgG抗体が十分生成されなかったことは留意すべき点である。また、本研究結果から、軽症例の方が重症例よりも、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質特異的IgM応答がピークに達する時期が早い傾向が示された(軽症例では発症から約17日後、重症例では約21日後)。もう1つ注目すべき点として、IgM抗体は、軽症例、重症例ともに、発症から4週間後には消失していた。

◇結論

以上を要約すると、(1) SARS-CoV-2に対するIgM抗体は、IgG抗体より早く出現し、早くピークに達した。(2) COVID-19患者において、IgM抗体は発症後3週間で低下し始めたが、IgG抗体は持続し、維持された。(3) COVID-19重症例では軽症例に比べ、IgG抗体、IgM抗体ともに、COVID-19疾患により強く応答する傾向がみられた。本研究結果は、抗SARS-CoV-2抗体検査の結果を解釈し、SARS-CoV-2感染の液性免疫応答パターンを理解する上で意義があると考えられる。重要な点として、IgM抗体およびIgG抗体が出現するタイミングは患者ごとに大きく異なっ

^D 重慶市公共衛生医療救治中心

^E N は血液検体数。

おり, この違いは年齢や併存疾患と関連している可能性がある。

Vol.18(2020) No.18(09/07)L02

●健康非感染者および COVID-19 患者における SARS-CoV-2 反応性 T 細胞

[SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19](#)

Braun J, Loyal L, Frentsch M, et al.

【Nature. 2020 Jul 29】-peer reviewed(査読済み)

◇背景

SARS-CoV-2感染症であるCOVID-19の臨床症状は、無症状から呼吸不全までさまざまであるが、重症化を決定付けるメカニズムは未だ解明されていない。現在、急性期のCOVID-19診断はPCR検査にて行われるが、検査数に限界があり、有症状者が優先的に検査されることから、感染者数の過小評価や致死率の過大評価につながっている。抗体検査により、無症状感染者の検出が可能と考えられるが、普及には至っておらず、また抗体応答は変動しやすく短命であることも課題となっている。コロナウイルスに対する細胞性免疫応答は液性免疫よりも持続的であると予測されているものの、その特性は明らかとされていない。一方、コロナウイルス構造タンパク質中に存在するいくつかのT細胞エピトープが予測または特定されており、特にヘルパーT細胞の応答と中和抗体の生成との関連も示唆されている。そこで、本研究では、COVID-19患者のSARS-CoV-2スパイク糖タンパク質(S)反応性CD4⁺T細胞の特性(存在比率^A、および表現型)について、SARS-CoV-2に曝露されていない健康なドナー(HD)^Bとの比較とともに、解析した。

◇方法

◇研究対象者

本研究には、18人のCOVID-19患者(平均年齢:約53歳;女性28%;症状発現後の検体採取日:平均約15日)と、68人のHD(平均年齢:約42歳;女性約60%)を組み入れた。対象としたCOVID-19患者は、2020年3月1日～4月2日の期間にPCR検査で陽性が確認され、ベルリン市内のシャリテ・ベルリン医科大学病院に入院した症例とし^C、疾患重症度[軽症:入院・酸素補充なし、重症:入院・酸素補充あり(ハイフロー^Dを含む)、重篤:入院・侵襲的人工呼吸]にもとづき分類された。

^A フローサイトメリーによる解析で、対象とする細胞の、測定サンプル中における存在比率。

^B healthy donor

^C ベルリン COVID-19 前向き観察研究(PA-COVID-19)に登録。

^D high-flow nasal cannula(HFNC) 高流量鼻カニューラ酸素療法

◇血清学的検査

抗SARS-CoV-2 IgGはELISAキット(EUROIMMUN社製)を用い、常在性の「感冒」ヒトコロナウイルス(HCoV)^Eに対するIgG測定には、各HCoV由来の組換えスパイクタンパク質を発現させたVeroB4細胞を用いる組換え免疫蛍光アッセイ(rIFA)を用いた。

◇結果

◇スパイク糖タンパク質(S)反応性CD4⁺T細胞の同定

スパイク糖タンパク質のN末端側およびC末端側のエピトープ領域を含む2種のペプチドプールの(S-IおよびS-II)にて^F、患者およびHDから採取した末梢血単核細胞を刺激し、4-1BB^GとCD40L^Hの共発現をマーカーとして抗原反応性CD4⁺T細胞を同定した。患者18人中の67%にS-I反応性の、83%にS-II反応性のCD4⁺T細胞が検出された。COVID-19重篤患者の多くは、S-I反応性を示さなかった。また、HD 68人中の35%にもS-II反応性CD4⁺T細胞が検出された〔以下、RHD(SARS-CoV-2反応性の健康なドナー)と呼ぶ〕。S-I反応性CD4⁺T細胞は約6%で検出され、HDの全例で、Sサブユニット1(S1)特異的なIgG抗体は陰性であった。なお、患者およびRHDのS反応性CD4⁺T細胞は、メモリー細胞であり、その大部分はTh1への分化を示すIFN γ を発現していた。

◇RHDのS反応性CD4⁺T細胞の常在性コロナウイルスとの交差反応性

SARS-CoVのMHC-IIエピトープに関して、HCoV-229E、-NL63、-OC43、および-HKU1との相同性は、ペプチドプールS-IIの方がS-Iに比べて高い。このことから、HDでみとめられたS-IIに特徴的な反応性は、HCoVに対する過去の免疫応答に由来した可能性が考えられる。HD 18人について、4種の常在性HCoVに特異的な抗体を測定した結果、全例で4種すべてのIgG抗体が検出された。また、RHDのS-II反応性CD4⁺T細胞を単離し、OC43および229E由来のS(HCoV)-IおよびS(HCoV)-IIにて再刺激した結果、S(HCoV)-IIに対する強い応答性が確認された。

◇COVID-19患者に特異的な活性化シグネチャ

COVID-19患者のS反応性CD4⁺T細胞は、最近の活性化を意味するCD38、HLA-DR、およびKi-67を多く発現していたが、RHDのS反応性CD4⁺T細胞では、CD38、HLA-DRおよびKi-67の発現はみられないか、もしくはその発現割合は非常に低かった。

^E human endemic “common cold” coronavirus: HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1の4株を用いた。

^F SARS-CoVのMHC-IIエピトープ情報をもとに設計した、SARS-CoV-2スパイク糖タンパク質由来ペプチド混合物。スパイク糖タンパク質のN末端側(1-643;21種類のエピトープを含む)をカバーするS-I(158種の15-merの混合物)およびC末端側(633-1273;13種類のエピトープを含む)をカバーするS-II(156種の15-merまたは17-mer)の2つのペプチドプールを調整した。中和抗体の標的サブユニットS1の受容体結合ドメイン(RBD)のペプチドはS-Iに含まれている。

^G 別名CD137。活性化CD4⁺T細胞表面に発現するTNFスーパーファミリーに属するリガンドタンパク質(TNFRSF9)。

^H 別名CD154。活性化CD4⁺T細胞表面に発現するTNFスーパーファミリーに属するリガンドタンパク質であり、抗原提示細胞表面のCD40(TNFRSF5)と結合する。

◇考 察

HDに検出されたS反応性T細胞は、HCoVのC末端エピトープへの交差反応性を示すことから、過去にHCoVに感染した際に獲得された細胞性免疫に由来すると推察される。冬季の「感冒(上気道感染症)」の約20%がHCoVに由来するとされ、疫学的なデータにもとづくと、成人では2~3年ごとにHCoVに感染すると推定される。なお、HDに存在するS交差反応性CD4⁺ T細胞のCOVID-19における臨床的な役割はなおも不明であり、より大規模なコホートによる調査が必要である。

◇結 論

本研究から、SARS-CoV-2患者のみならず抗体陰性の非感染者においても、ある程度の割合でSARS-CoV-2のSタンパク質に交差反応性を示す細胞性免疫が存在していることが明らかになった。これは、ヒト常在性コロナウイルスに対する過去の細胞性免疫の獲得に由来する可能性がある。本知見は、今後のワクチン開発を進める上でも重要な示唆を与える。

以上

連絡先

医薬安全科学部第一室：青木 良子