

新型コロナウイルス感染症に対する血清疫学調査データを用いた 抗ウイルス抗体価の感染予防効果の検証

研究分担者 鈴木 忠樹 国立感染症研究所
研究協力者 相内 章 国立感染症研究所
研究協力者 宮本 翔 国立感染症研究所
研究協力者 菅野 隆行 国立感染症研究所

研究要旨

【背景と目的】新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）ワクチン接種や感染によって誘導される抗スパイク（S）タンパク質抗体価の保有割合は我が国において95%以上であることが報告されている。しかし、SARS-CoV-2の流行は継続しており、S抗体保有そのものではウイルス感染や再感染に対する予防効果推定が困難であることを示唆している。本研究においては、S抗体価とウイルス感染のみで誘導される抗ヌクレオプロテイン（N）抗体価を用いてワクチン接種と感染歴をもつハイブリット免疫保有者が増加したオミクロン BA.5 流行期における感染リスク減少効果の推定を実施した。

【対象】本研究は、令和4年度新型コロナウイルス感染症に対する抗体保有状況を調査する前向きコホート研究の再解析である。宮城県、東京都、愛知県、大阪府、福岡県の1万5,000人の対象者候補のうち2022年12月の調査では8157人、2023年2-3月の調査では5627人が参加した。2回の調査に継続して参加した5627名を対象とした。観察期間中に新たにワクチンを接種した1044名を除外した。感染の判定にN抗体上昇を使用するために、初回試験日の30日前から試験日まで感染歴を持つ87名を除外した。この結果、新規感染の試験対象者は4496名であった。

【方法】感染歴のない参加者においてベースラインの初回試験日以降にCOVID-19検査陽性となった、もしくはN抗体価が陽転した参加者を新規感染者とした。感染歴をもつ者の再感染は、感染者のN抗体動態モデルを推定し、初回試験から2回目試験までに診断があった場合とN抗体価が4倍以上上昇した場合を新規感染とみなした。ベースラインとなる2022年12月の初回調査時の抗S抗体価と抗N抗体価を用いて、2023年2-3月までの調査期間における再感染を含む感染リスク減少効果を一般化加法モデルにより評価した。

【結果】N抗体価の条件付き効果においては、抗体価が高くなると感染リスクが対数スケールで減少することが推定された。N抗体価が20.4 COIのときに、N抗体陰性者に対する80%の相対リスクの減少が推定された。このN抗体価20.4 COIを維持する期間の中央値は初回診断後から約88日、再感染診断後から約456日と推定された。一方で、S抗体価の条件付き効果においては、高い抗体価で感染リスクの減少が推定されたがその効果は限定的であった。本調査参加者S抗体価の最大値523,000 BAU/mLにおいても77%の相対リスクの減少に留まっていた。N抗体とS抗体の組み合わせ効果を検証すると、上記の結果と同様にS抗体価の感染リスクの減少は限定的でN抗体価の上昇に伴う感染リスクが負に関連することが推定された。

【考察】2022年12月から2023年2月の観察期間における新規感染に対する予防効果を示す抗体価を評価し、オミクロン BA.5 流行期における再感染リスクの減少はN抗体価がログスケールで高い相関関係を示すことを明らかにした。一方でワクチンとウイルス感染の両方で誘導された祖先株のS抗体価はオミクロン流行期において相対的に限定的な相関関係であった。この結果は感染履歴をもつ個人においては、N抗体価によって診断後数百日の再感染リスクが評価可能であることを示し、血清疫学調査において、N抗体価によって特定の地域や集団の再感染リスクを推定できることを示唆する。

A. 研究目的

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) ワクチン接種や感染によって誘導される抗スパイク (S) タンパク質抗体価の保有割合は我が国において95%以上であることが報告されている。しかし、SARS-CoV-2の流行は継続しており、S抗体保有そのものではウイルス感染や再感染に対する予防効果推定が困難であることを示唆している。本研究においては、S抗体価とウイルス感染のみで誘導される抗ヌクレオプロテイン (N) 抗体価を用いてワクチン接種と感染歴をもつハイブリット免疫保有者が増加したオミクロン BA.5 流行期における感染リスク減少効果の推定を実施した。

B. 研究方法

【試験対象】 本研究は、令和4年度新型コロナウイルス感染症の大規模血清疫学調査として、一般人口における新型コロナウイルス感染症に対する抗体保有状況を調査する前向きコホート研究の再解析である。住民基本台帳を元に宮城県、東京都、愛知県、大阪府、福岡県の住民を対象として、性別、年齢分布が人口分布を反映する様に無作為抽出された20歳以上の成人を調査対象者候補とした。1万5,000人の対象者候補のうち2022年12月の調査では8157人、2023年2-3月の調査では5627人が参加した。2回の調査に継続して参加した5627名を対象とした。観察期間中に新たにワクチンを接種した1044名を除外した。感染の判定にN抗体上昇を使用するために、初回試験日の30日前か試験日まで感染歴を持つ87名を除外した。この結果、新規感染の試験対象者は4496名であった。感染歴のない参加者においてベースラインの初回試験日以降にCOVID-19検査陽性となった、もしくはN抗体価が陽転した参加者を新規感染者とした。感染歴をもつ者の再感染は、感染者のN抗体動態モデルを推定し、初回試験から2回目試験までに診断があった場合とN抗体価が4倍以上上昇した場合を新規感染とみなした。

【血清学的検査】 採血を伴う研究に同意した調査対象者は指定された採血会場に来場し、2ヶ月間隔で2回の自記式質問紙への回答と採血を実施された。採血会場で採取された血液検体から血清を分離し、新型コロナウイルスに対する抗体を測定した。抗N抗体および抗S抗体の測定はロシュ・ダイアグ

ノシス社 Elecsys® Anti-SARS-CoV-2、および Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S を用いて実施した。陽性判定については、メーカーの規定したカットオフ値 (抗N抗体カットオフインデックス (COI) ≥ 1.0 ; 抗S抗体 ≥ 0.8 BAU/mL) に従った。なお、国内で現在までに使用されているワクチン (mRNA ワクチン、ウイルスベクターワクチン、組換えタンパク質ワクチン) は、いずれもS抗原をコードする配列以外のウイルスゲノム配列を有していないことから、抗S抗体は、ウイルス感染とワクチン接種により誘導され、抗N抗体はウイルス感染のみで誘導される。よって、既感染者は抗N抗体の有無で検出することができる。

【統計解析】 ベースラインとなる2022年12月の初回調査時の抗S抗体価と抗N抗体価を用いて、2023年2-3月までの調査期間における再感染を含む感染リスク減少効果をベイズ一般化加法モデルにより推定した。新規感染者と新規感染のなかった者では参加者集団に属性の偏りがあるため、ロジスティック回帰モデルを用いた新規感染の有無についての確率を予測し、その逆確率重み付けをすることで抗体価と予測リスクに関するバイアスを調整した。予測変数は年齢65歳以上かどうか、性別、基礎疾患の有無、調査地域、ワクチン接種回数、感染歴及びオミクロン対応ワクチン接種の有無を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は国立感染症研究所「人を対象とする生命科学・医学系研究倫理審査委員会」に承認されて実施している。採血会場に入場し、電磁的方法により本研究の説明を視聴し、同意が確認できた者を研究対象者として登録した。研究に関わる全ての資料 (同意書、アンケート調査票、採血管) は研究用IDにて仮名加工した。

C. 研究結果

はじめに感染後の抗体応答の変化から新規の感染者の判定が可能となる抗体上昇倍率の閾値を検討した。ベースラインとなる初回試験日まで感染歴を持たない参加者において、新規感染者のN抗体価の倍率上昇を比較すると、ベースラインに対して2回目測定日のN抗体価は中央値292.6倍 (四分位範囲, 152.0-782.5) に上昇した。一方で、新規感染者のS抗体価は中央値5.5倍 (四分位範囲, 2.3-10.7) と限定的な上昇を示した。また、全参加者に

おける S 抗体と N 抗体の相関は低かった。これは感染によって誘導された N 抗体応答が、ワクチンによって誘導された抗体を含む S 抗体応答と比較して顕著に大きく、SARS-CoV-2 感染の検出により適していることを示唆した。次に、1 回感染者と診断された再感染者における抗 N 抗体動態を推定した。本試験参加者の 1 回感染者と再感染者の診断後日数別の抗 N 抗体価からその減衰モデルを作製したところ、一回感染における抗 N 抗体価は診断後 69 日にピークに達し、621 (95% 信用区間, 522 - 754) 日に陽性閾値の 1.0 を下回ることが推定された。再感染者においては、一回感染に対して 4.8 倍高いピーク抗体価とより長い 1.0 COI 以上の抗体価の持続が推定された。このモデルを使用して、観察期間と同程度の 60 日後における再感染後に誘導される抗 N 抗体価の上昇倍率を推定した。初回診断後 69 日に再感染した場合に再感染 60 日後の抗体価上昇は 4.2 (95% 信用区間, 2.7-7.3) 倍の下限値を示し、その後、上昇倍率は初回診断後日数の延長に応じてより高くなることが推定された。この N 抗体の 1 回感染者と再感染者の N 抗体倍率上層の動態の傾向は同じ Roche assay において過去の報告と一致した (Yamamoto *et al.* J Infect. 2023; Loesche *et al.* Emerg Infect Dis. 2022)。感染歴のない新規感染者の N 抗体は 99.1% (N=347) が 4 倍以上に上昇した。4 倍以上の N 抗体価の上昇は、初回試験日までに感染歴を持たない参加者においては上記の新規感染者を感度 99.1%, 特異度 99.9% で判定された。S 抗体価においては 58.8% (N=206) の新規感染者のみが 4 倍以上の上昇を認めた。また、診断された再感染者の N 抗体の倍率上昇の中央値は 65.9 倍 (95% 信頼区間, 4.4-488.7) に上昇した。この結果をもとに、ベースラインの初回試験日までに感染歴をもつ者の再感染は、初回試験から 2 回目試験までに診断があった場合と N 抗体が 4 倍以上上昇した場合を新規感染とみなした。感染歴をもつ個人においては、観察期間に新規感染のあった個人の N 抗体価において、ベースラインの初回抗体測定時は Non-newly infected の個人よりも低い傾向にあり、2 回目測定時の再感染後は Non-newly infected の個人よりも高い傾向を示した。一方、既感染者において S 抗体応答は新規感染の有無で区別できず明確な S 抗体の倍率上昇も観察されなかった。

2022 年 12 月の初回試験時の血清 S 抗体価と N 抗体価から 2023 年 2 月から 3 月までの観察期間に

おける新規感染を推定する絶対リスクを既報の逆確率重み付けを施した一般化加法モデルから推定した。N 抗体価の条件付き効果においては、抗体価が高くなると感染リスクが対数スケールで減少することが推定された。N 抗体価が 20.4 COI のときに、80% の N 抗体価陰性者に対する相対リスクの減少が推定された。この N 抗体価 20.4 COI を維持する期間の中央値は初回診断後から 88 (95% 信用区間 <50 - 108) 日、再感染診断後から 456 (252 - >1000) 日と推定された。一方で、S 抗体価の条件付き効果においては、高い抗体価で感染リスクの減少が推定されたがその効果は限定的であった。本試験参加者 S 抗体価の最大値 523,000 BAU/mL においても 77% の相対リスクの減少に留まっていた。N 抗体と S 抗体の組み合わせ効果においても上記の結果と同様に S 抗体価の絶対リスクの減少は限定的で N 抗体価の上昇に伴う絶対リスクが負に相関することが推定された。ワクチン接種回数や感染歴による抗体価の影響を確認するため、ベースラインにおける接種回数と感染歴別の抗体価を評価した。既感染者の N 抗体価はワクチン接種回数による差は観察されなかった。一方で、S 抗体価はワクチン接種回数による抗体価の上昇と、どのワクチン接種回数においても既感染者が未感染の参加者に比べて高い傾向が示された。特に、感染リスクの減少が推定される 10,000 BAU/mL の S 抗体価を持つ参加者には既感染者の割合が高く、感染歴の有無が高い S 抗体価における感染リスクのばらつきに関連していることを示唆した。まとめると、N 抗体価はウイルス感染に伴う抗体応答を反映しており、SARS-CoV-2 の再感染においては、血清 S 抗体価よりも、N 抗体価が感染予防効果に相関する免疫応答指標で有ることを示唆した。

D. 考察

N 抗体価が再感染予防に対する免疫応答指標となることが示されたが、N 抗体はウイルス感染によって誘導されるウイルス粒子内部のヌクレオプロテインを標的とした抗体である。したがって、原理的に直接感染性ウイルス粒子を中和する活性は持たず、実際には感染防御免疫に相関するような免疫応答指標 (non-mechanical Correlate of Protection; nCoP) であると考えられる。4 歳から 15 歳の子供においても N 抗体価が再感染に対する免疫応答指標となる可能性が報告されており、本研究成果と一

致している (Dowell et al. *J Infect.* 2023)。実際にウイルス感染の予防効果との関連が報告されている免疫応答指標は鼻粘膜における S 特異的粘膜分泌型 IgA 抗体 (Marking et al. *Lancet Infect Dis.* 2023) であり、感染後のウイルス排出期間の短縮にも鼻粘膜における S 特異的粘膜分泌型 IgA 抗体 (Miyamoto et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2023) や血中の S 特異的活性化 (CD38⁺) CD8⁺T 細胞 (Kousakos et al. *Immunity.* 2023) の関連が報告されている。また、血中の N 特異的 CD4⁺T 細胞が上気道のピークウイルス量と負に相関することも報告されている (Eser et al. *Nat Commun.* 2023)。上記に挙げられる免疫応答指標はすべて共通してウイルス感染にตอบสนองした液性免疫や細胞性免疫であり、血中 N 抗体価も同様にウイルス感染に対する抗体応答としてこれらの上気道免疫応答に関連した指標であることが考えられる。まとめると、血清 N 抗体価の高さは上気道ウイルス感染レベルによって上昇した免疫応答の強さを反映していると考えられ、本研究において再感染予防効果の nCoP として推定されたと考えられる。

上述の通り、N 抗体は直接的なウイルス排除効果をもたらすかどうかは不明であるが、これまで新型コロナウイルス感染症発生後継続して国内の大規模血清疫学調査においてウイルス感染者数の推定のために血清 N 抗体価と S 抗体価は共に測定されてきた実績がある。鼻咽頭ぬぐい液や血中免疫細胞と比較して、血清・血漿保管や移動は容易であり、抗体価の定量性・再現性も高く確保されているため汎用性高く各地域における特定集団の感染リスク判定推定に利用できる可能性がある。

E. 結論

本研究では、2022年12月から2023年2月の観察期間における新規感染に対する予防効果を示す抗体価を評価し、オミクロン BA.5 流行期における再感染リスクの減少は N 抗体価がログスケールで高い相関関係を示すことを明らかにした。一方でワクチンとウイルス感染の両方で誘導された祖先株の S 抗体価はオミクロン流行期において相対的に限定的な相関関係であった。この結果は感染履歴をもつ個人においては、N 抗体価によって診断後数百日の再感染リスクが評価可能であることを示し、血清疫学調査において、N 抗体価によって特定の地域や集団の再感染リスクを推定できることを示唆する。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表 (発表雑誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 論文発表

1. W. Ito, T. Fukumori, N. Asaoka, N. Imakita, T. Nishimura, R. Furukawa, Y. Nishihara, H. Fujikura, T. Sekine, N. Yamaguchi, Y. Hirata, S. Miyamoto, T. Kanno, H. Katano, T. Suzuki, K. Kasahara. Acute acalculous cholecystitis following extended administration of nirmatrelvir/ritonavir for persistent SARS-CoV-2 infection. *Journal of Infection and Chemotherapy.* <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2023.12.014>. 2024 Jan.
2. S. Miyamoto, T. Nishiyama, A. Ueno, H. Park, T. Kanno, N. Nakamura, S. Ozono, K. Aihara, K. Takahashi, Y. Tsuchihashi, M. Ishikane, T. Arashiro, S. Saito, A. Ainai, Y. Hirata, S. Iida, H. Katano, M. Tobiume, K. Tokunaga, T. Fujimoto, M. Suzuki, M. Nagashima, H. Nakagawa, M. Narita, Y. Kato, H. Igari, K. Fujita, T. Kato, K. Hiyama, K. Shindou, T. Adachi, K. Fukushima, F. Nakamura-Uchiyama, R. Hase, Y. Yoshimura, M. Yamato, Y. Nozaki, N. Ohmagari, M. Suzuki, T. Saito, S. Iwami, T. Suzuki. Infectious virus shedding duration reflects secretory IgA antibody response latency after SARS-CoV-2 infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 120(52) e2314808120. 2023 Dec.
3. K. Kamegai, N. Iwamoto, N. Itoh, M. Ishikane, Y. Asai, N. Akazawa, N. Fuwa, J. Takasaki, M. Hojo, A. Hangaishi, T. Togano, K. Teruya, T. Kanno, K. Takahashi, S. Miyamoto, Y. Hirata, T. Saito, H. Katano, T. Suzuki, N. Ohmagari. Duration of Infectious Virus Shedding by SARS-CoV-2 Omicron Variant among Immunocompromised Patients. *Open Forum Infectious Diseases.* 10(Supplement_2). 2023 Nov.

4. T. Hosoya, S. Oba, Y. Komiya, D. Kawata, M. Kamiya, H. Iwai, S. Miyamoto, M. Kataoka, M. Tobiume, T. Kanno, A. Ainai, H. Sato, A. Hirakawa, Y. Mitsui, T. Satoh, K. Wakabayashi, T. Yamada, Y. Otomo, Y. Miyazaki, H. Hasegawa, T. Suzuki, S. Yasuda. Apple-shaped obesity: A risky soil for cytokine-accelerated severity in COVID-19. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 120(22) e2300155120. 2023 May.
5. S. Miyamoto, Y. Kuroda, T. Kanno, A. Ueno, N. Shiwa-Sudo, N. Iwata-Yoshikawa, Y. Sakai, N. Nagata, T. Arashiro, A. Ainai, S. Moriyama, N. Kishida, S. Watanabe, K. Nojima, Y. Seki, T. Mizukami, H. Hasegawa, H. Ebihara, S. Fukushi, Y. Takahashi, K. Maeda, T. Suzuki. Saturation time of exposure interval for cross-neutralization response to SARS-CoV-2: implications for vaccine dose interval. *iScience*. 26(5) 106694-106694. 2023 April.
6. T. Suzuki, S. Morioka, K. Yamamoto, S. Saito, S. Iida, K. Teruya, J. Takasaki, M. Hojo, K. Hayakawa, S. Kutsuna, S. Miyamoto, S. Ozono, T. Suzuki, E. N. Kodama, N. Ohmagari. Nasopharyngeal SARS-CoV-2 may not be dispersed by a high-flow nasal cannula. *Scientific Reports*. 13(1) 2669-2669. 2023 Feb.
7. T. Arashiro, S. Arai, R. Kinoshita, K. Otani, S. Miyamoto, D. Yoneoka, T. Kamigaki, H. Takahashi, H. Hibino, M. Okuyama, A. Hayashi, F. Kikuchi, S. Morino, S. Takanashi, T. Wakita, K. Tanaka-Taya, T. Suzuki, M. Suzuki. National seroepidemiological study of COVID-19 after the initial rollout of vaccines: Before and at the peak of the Omicron-dominant period in Japan. *Influenza and other respiratory viruses*. 17(2) e13094. 2023 Feb.
2. 学会発表
 1. 宮本翔, 鈴木忠樹. SARS-CoV-2 ブレークスルー感染者血清抗体価を用いた適切なブースターワクチン接種間隔の推定. 第27回日本ワクチン学会・第64回日本臨床ウイルス学会合同学術集会. 2023年10月
 2. K. Kamegai, N. Iwamoto, N. Itoh, M. Ishikane, Y. Asai, N. Akazawa, N. Fuwa, J. Takasaki, M. Hojo, A. Hangaishi, T. Togano, K. Teruya, T. Kanno, K. Takahashi, S. Miyamoto, Y. Hirata, T. Saito, H. Katano, T. Suzuki, N. Ohmagari. Duration of Infectious Virus Shedding by SARS-CoV-2 Omicron Variant among Severely and Moderately Immunocompromised Patients. *IDWeek 2023*. 2023年10月.
 3. 宮本翔, 西山尚来, 上野朗, Hyeongki Park, 菅野隆行, 大園誠也, 中村直俊, 岩見真吾, 鈴木忠樹. SARS-CoV-2 ウイルス排出に対する上気道粘膜抗体応答による制御. 第70回日本ウイルス学会学術集会. 2023年9月.
 4. 宮本翔, 鈴木忠樹. SARS-CoV-2 ブレークスルー感染における交差中和反応モデリング. 第17回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2023年6月.
 5. S. Oba, T. Hosoya, Y. Komiya, D. Kawata, M. Kamiya, H. Iwai, S. Miyamoto, T. Kanno, T. Minoru, A. Ainai, T. Suzuki, H. Hasegawa, S. Yasuda. The Underlying Mechanisms of Obesity-Related COVID-19 Exacerbations. the 23rd Annual Meeting of the Federation of Clinical Immunology Societies (FOCIS 2023) .2023年6月.
 6. 宮本翔, 鈴木忠樹. SARS-CoV-2 ブレークスルー感染者血清抗体価を用いた適切なワクチン接種間隔の推定. 第一回新型コロナウイルス研究集会. 2023年6月.
 7. Y. Komiya, T. Hosoya, S. Oba, D. Kawata, M. Kamiya, H. Iwai, S. Miyamoto, T. Kanno, T. Minoru, A. Ainai, T. Suzuki, H. Hasegawa, S. Yasuda. Inhibition of FAS-mediated alveolar epithelial cell death suppresses lung injury and subsequent inflammasome activation in murine COVID-19 model. The 2nd International Symposium of Clinical Immunology. 2023年5月.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし