

厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

ワクチンの有効性・安全性と効果的適用に関する疫学研究

研究分担者	高橋 宜聖	国立感染症研究所
研究協力者	五十川正記	国立感染症研究所
研究協力者	松村 隆之	国立感染症研究所
研究協力者	小野寺大志	国立感染症研究所
研究協力者	安達 悠	国立感染症研究所
研究協力者	寺原 和孝	国立感染症研究所
研究協力者	森山 彩野	国立感染症研究所
研究協力者	上滝隆太郎	国立感染症研究所
研究協力者	高野 智弘	国立感染症研究所

研究要旨

本研究では「厚生労働行政推進調査事業・ワクチンの有効性・安全性と効果的適用に関する疫学研究」における枠組みのなかで、ファイザー社製新型コロナワクチンの接種希望者を対象に、ワクチン1回接種によるB細胞応答とT細胞応答の誘導と持続性を評価した。2021年5月から開始し、観察期間は1年とした。介入のない前向き観察研究であり、医療法人相生会ピーエスクリニックにより、以下の選定方針に合致する者85名が本臨床研究対象として選定された。①本臨床研究の参加について文書により同意を取得した者 ②20歳以上の男女 ③新型コロナワクチンの接種について、同意取得時点で接種の意向を有する者。対象者はそれぞれが希望するタイミングで2回目接種を受けた。新型コロナワクチン接種前、接種3週後、7週後、12週後、24週後、12カ月後のPBMCが分離・凍結された。血清は、接種前、接種3週後、7週後、12週後、16週後、20週後、24週後、8カ月後、12カ月後に採取された。2回目接種時期が1回目接種後7-12週、12-16週、16-24週の間であった対象者群に分け、スパイクタンパク(Sタンパク)中のレセプター結合部位(Receptor binding domain: RBD)に対するIgG+およびIgM+メモリーB細胞の頻度とSタンパクに対するCD4+およびCD8+T細胞の頻度を解析した。さらに、Sタンパクに対するT細胞から産生されるサイトカイン産生量を測定し、機能性の経時的変化を解析した。解析したほぼ全例でワクチン1回接種後にRBDタンパクに対するB細胞とT細胞が確認できた。Sタンパクに対するT細胞はIL-2、IFN γ 、Granzyme Bを産生し、Th0/Th1タイプを示した。2回目接種時期が異なっても、RBDに対するB細胞とSタンパクに対するT細胞の頻度、及びサイトカイン産生能に顕著な違いを認めなかった。

A. 研究目的

新型コロナワクチンの接種に関しては、使用実績が乏しい中、短期間で多くの国民に接種することとなる。本邦において薬事承認された新型コロナワクチンは、用法・用量について2回の接種が規定されているが、1回目の接種後においても一定の効果が報告されている。そこで本研究では、「厚生労働行政推進調査事業・ワクチンの有効性・安全性と効果的適用に関する疫学研究」における枠組みのな

かで、新型コロナワクチン1回接種により、新型コロナウイルスに対するメモリーB細胞応答とメモリーT細胞応答がどの程度誘導され、持続するか検討する。多くの対象者が希望するタイミングで2回目接種を施行したため、1回目接種と2回目接種の間隔が、抗体応答、メモリーB細胞応答、メモリーT細胞応答に及ぼす影響についても解析する。

B. 研究方法

本研究は、医療法人相生会ピーエスクリニックが主管となる、介入のない前向き観察研究であり、以下の選定方針に合致する者を85名、本臨床研究対象として選定した。

- ①本臨床研究の参加について文書により同意を得た者
- ②20歳以上の男女
- ③ファイザー社製新型コロナワクチン「コミナティ筋注」の接種について、同意取得時点で接種の意向を有する者

研究対象者の末梢血中の新型コロナウイルスのスパイクタンパク（以下Sタンパク）に対するB細胞応答とT細胞応答を評価するため、新型コロナワクチン接種前、接種3週後、7週後、12週後、24週後、12カ月後にピーエスクリニックが8ml×2本を採血した。検体は株式会社エスアールエルへ輸送され、PBMC分離・凍結がおこなわれた後、国立感染症研究所へ提供された。凍結細胞を融解し、フローサイトメトリーを用いて、Sタンパクを特異的に認識するメモリーB細胞とメモリーT細胞の頻度を解析した。さらに、Sタンパク特異的T細胞を刺激した培養液中のサイトカイン濃度を測定した。ワクチン接種後のSタンパクに対する抗体価（S抗体価）を測定するため、接種前、接種3週後、7週後、12週後、16週後、20週後、24週後、8カ月後、12カ月後にピーエスクリニックが血清を採取した。

（倫理面への配慮）

「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」の「インフォームド・コンセント等」に則り、本臨床研究は、新たに試料・情報を取得して研究を実施しようとする研究に該当する。

本臨床研究開始に先立ち、博多クリニック臨床試験審査委員会（治験実施計画番号：2063CP）、及び国立感染症研究所ヒトを対象とする医学的研究倫理審査委員会（受付番号：1265）の承認を得た。承認が得られた説明文書及び同意文書を用いて、研究責任医師等が説明し、研究対象者が内容を十分理解したことを確認した後に、本臨床研究への参加について研究対象者の自由意思による同意を文書により得た。同意文書には、研究対象者及び説明した研究責任医師等が署名又は記名押印及び日付を記入し、

医療法人相生会ピーエスクリニックで原本を保存し、写しを研究対象者に交付した。個人情報に関しては、医療法人相生会ピーエスクリニックにて被験者番号にて匿名化し、対応表を作成し、厳重に保存する。国立感染症研究所には、匿名化対応表は共有されず、国立感染症研究所においては個人の識別はできない。

C. 研究結果

85名の対象者から、ワクチン接種前、接種3週後、7週後、12週後、24週後、12カ月後の凍結細胞検体を回収した。残念ながら接種前と接種3週後に分離した細胞は状態が悪く、解析には使用できなかった。その後、株式会社エスアールエルの血液分離工程を精査・改善し、7週後からは解析可能な検体が調整可能となった。1回接種後3-7週間に1名、7-12週間に16名、12-16週間に41名、16-20週間に7名、20-24週間に18名が2回目接種を受けた。対象者ほぼ全員が2回目接種からおよそ6カ月後に3回目接種を受けており、1回目接種後8-10カ月の間に54名、10-12カ月の間に24名が3回目接種を受けた。1名は研究期間を通して2回目接種を受けなかった。途中中止例は1例であった。

2回目接種時期が1回目接種後7-12週、12-16週、16-24週の間であった対象者群をそれぞれA群、B群、C群とし（図1）、RBDに対するIgG+およびIgM+メモリーB細胞の頻度（A：n=9、B：n=17、C：n=14）とSタンパクに対するCD4+およびCD8+T細胞の頻度（A：n=9、B：n=11、C：n=14）を解析した。図2、図3に示すように、1回目接種7週間後には、RBDに対するメモリーB細胞、Sタンパクに対するメモリーT細胞が誘導された。1回目接種24週後と48週後におけるA群、B群、C群での有意差検定をおこなったところ、24週におけるIgG+メモリーB細胞の頻度と48週におけるIgM+メモリーB細胞の頻度はC群で高い傾向にあった（図4）。これは、C群では2回目接種、および3回目接種から解析日までの間隔が短かったことを反映していると考えられた。一方で、Sタンパクに対するCD4+およびCD8+T細胞の頻度には、いずれのタイムポイントでも群間で有意差を認めなかった（図5）。Sタンパク特異的T細胞によるサイトカイン産生を見てみると、1回目接種7週後に、IL-2、IFN γ 、Granzyme Bが検出されたが、IL-4、IL-5、IL-10の産生は弱く、既報の通り、Th1タイプのT細胞応答が誘導される

事がわかった (図 6)。IL-2、IFN γ 、Granzyme B の産生は、1 回目接種 7 週後から、52 週後にかけて高くなる傾向を認めたが、統計的有意差はみとめなかった。また、ワクチン 2 回目接種時期の違いが S タンパク特異的 T 細胞の機能性に及ぼす影響もほぼ認めなかった。

D. 考察

ファイザー社製新型コロナワクチン 1 回接種により、S タンパク特異的メモリー B 細胞応答とメモリー T 細胞応答の誘導が認められた。T 細胞応答の機能性に関しても、ワクチン 1 回接種で Th1 タイプに特徴的なサイトカインを産生することがわかった。ほぼすべての対象者が、1 回目接種 7 週以降に 2 回目接種をうけたため、ワクチン 1 回接種による B 細胞応答と T 細胞応答の持続性を評価することは困難と考えられる。一方で、本研究ではワクチン 2 回目接種のタイミングが様々であり、ワクチン接種間隔がメモリー B 細胞応答とメモリー T 細胞応答の誘導と持続に及ぼす影響を評価することが可能であった。2 回目接種時期が 1 回目接種後 7-12 週、12-16 週、16-24 週の間であった対象者群のうち、1 回目接種 16-24 週後に 2 回目接種をうけた群で IgG+ メモリー B 細胞の頻度 (24 週) と IgM+ メモリー B 細胞の頻度 (48 週) が高い傾向にあったが (図 4)、2 回目接種から解析日までの間隔が影響していると考えられた。一方で、S タンパク特異的 T 細胞の頻度及びサイトカイン産生能に関しては、上記 3 群間で顕著な違いを認めなかった。

E. 結論

ファイザー社製新型コロナワクチンを 1 回接種したほぼ全例で、S タンパクに対する B 細胞応答と T 細胞応答が誘導された。ワクチン接種 1 回目と 2 回目の接種間隔の違いは、B 細胞応答と T 細胞応答にほとんど影響を及ぼさなかった。

F. 健康危険情報

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

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

図1. 2回目接種時期の違いによる群分け

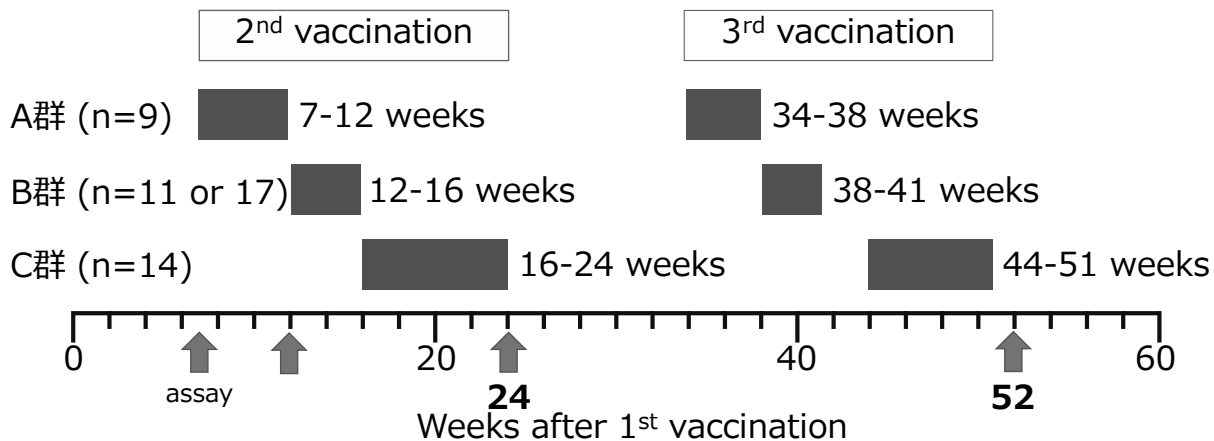
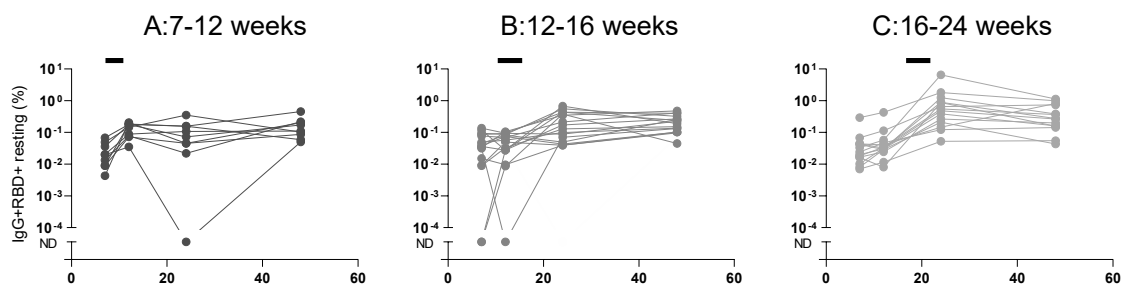


図2. 2回目接種時期の違いがメモリー B 細胞応答に及ぼす影響

IgG+RBD+ 記憶B細胞



IgM+RBD+ 記憶B細胞

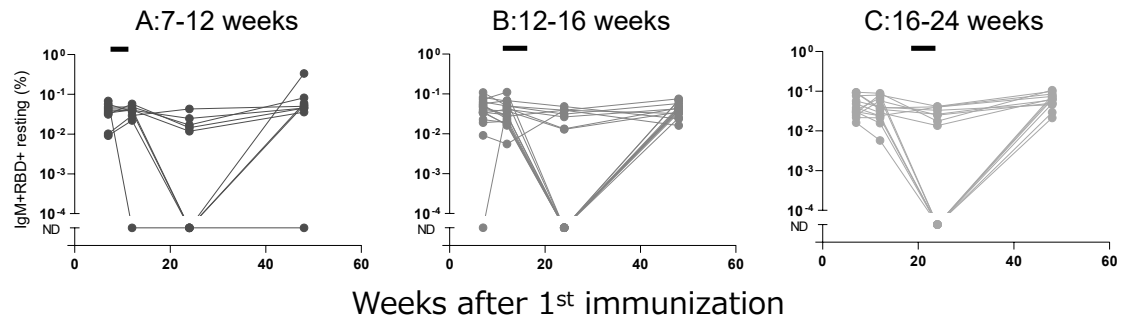


図3. 2回目接種時期の違いがメモリーT細胞応答に及ぼす影響

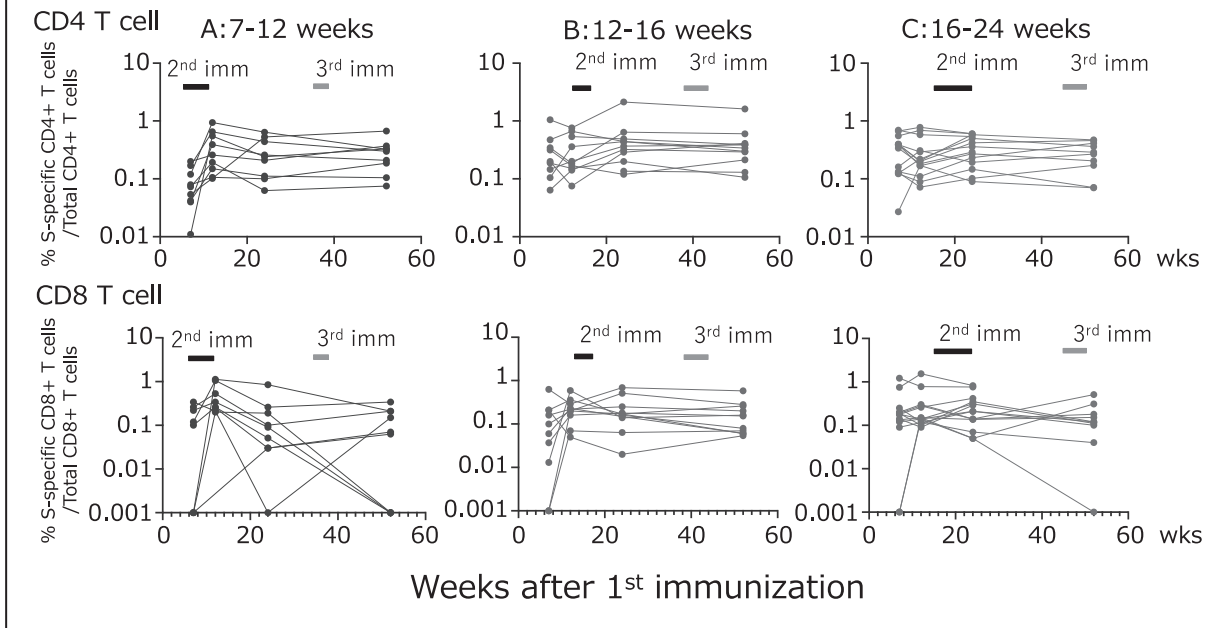


図4. 2回目接種時期の違いがメモリーB細胞応答に及ぼす影響

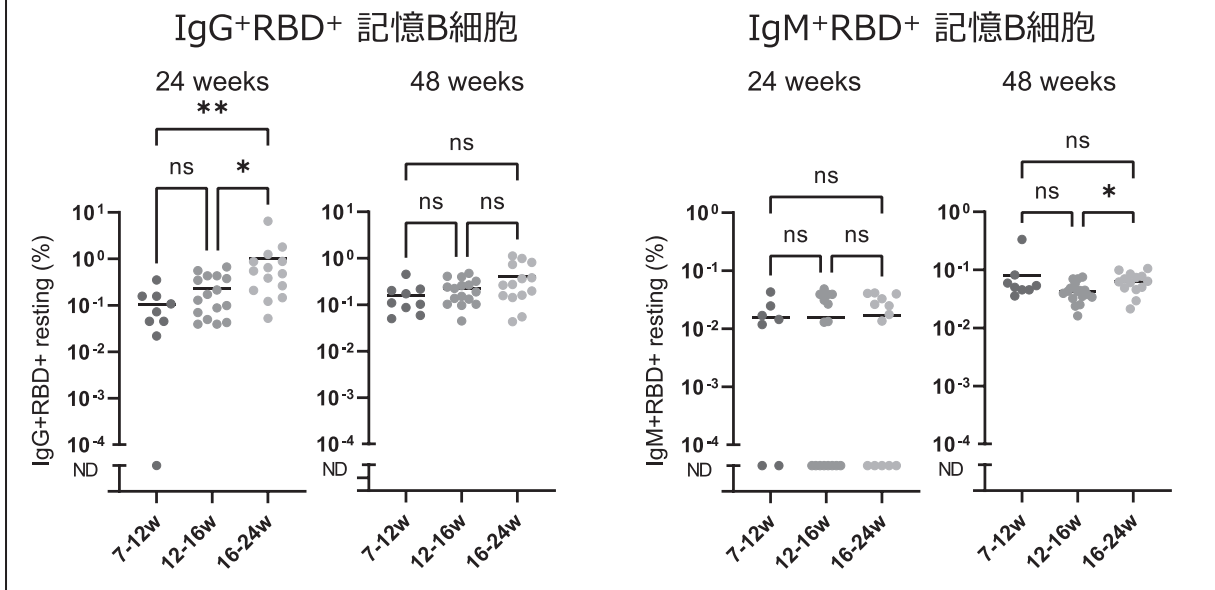


図5. 2回目接種時期の違いがメモリー T細胞応答に及ぼす影響

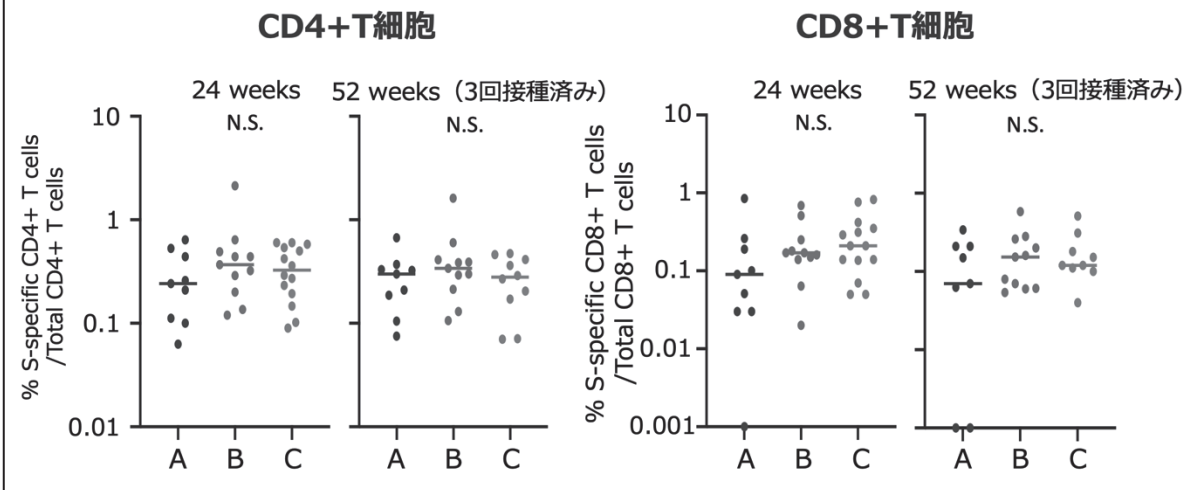


図6. 2回目接種時期の違いがサイトカイン産生能に及ぼす影響

