

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

異なる接種間隔による新型コロナウイルス mRNA ワクチン免疫原性評価

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回目接種をうけた。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・凍結がされた。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。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。上記3群間では、RBDに対するB細胞とSタンパクに対するT細胞の頻度に顕著な違いを認めなかった。ワクチン接種間隔がSタンパクに対する抗体価に及ぼす影響を検討するため、1回目接種3週後に2回目を接種する標準スケジュールでワクチン接種された対象群を追加した。標準接種スケジュール群の対象者はAMED研究班「免疫プロファイリングを基盤にしたCOVID-19ワクチンバイオマーカーの探索研究」(代表 高橋宜聖)の枠組みで解析された。12-16週後に2回目接種された対象者におけるS抗体価は、3-4週後に接種された対象者に比べて、有意に高値を示した。この結果は、1回目接種と2回目接種の間隔をあけることで、ワクチン効率が上昇することを示唆しており、今後はこの現象のメカニズムを明らかにする必要があると考えられる。

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取得した者
- 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。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)。

次に、ファイザー社製新型コロナワクチン 2 回目接種を 1 回目接種 12-16 週後にうけた対象者 (n = 39) と 1 回目接種 3-4 週間後にうけた対象者 (n=49) における S タンパクに対する抗体価を比較した (図 6)。

後者は AMED 研究班「免疫プロファイリングを基盤にした COVID-19 ワクチンバイオマーカーの探索研究」(代表 高橋宜聖) の枠組みで、国立感染症研究所が主管となり対象者の選定、サンプルの取得および解析を行った (Kotaki R, Takahashi Y, et al., Sci Immunology, 2022)。図 7 に示すように、12-16 週後に 2 回目接種された対象者における抗体価は、3-4 週後に接種された対象者に比べて、短期 (8 週まで) では 5 倍以上高く、2 回目接種およそ 5 カ月後でも有意に高値を示した。

D. 考察

ファイザー社製新型コロナワクチン 1 回目接種により、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。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 回目接種による 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、T 細胞応答は上記 3 群間で顕著な違いを認めなかった。接種間隔の違いがメモリー B 細胞とメモリー T 細胞の機能性に及ぼす影響を検討する必要があると考えられる。

通常スケジュール (1 回目接種 3 週後) で 2 回目接種された対象者と本研究において、1 回目接種後 12-16 週に 2 回目接種された対象者における S 抗体価を比較したところ、12-16 週で 2 回目接種をうけた対象者で、抗体価が 5 倍以上高くなることがわ

かった。このことから、1 回目接種から 2 回目接種までの間隔を広げることで、抗体誘導効率が改善することが示唆された。接種間隔を広げることによる抗体誘導効率の改善理由として、2 回目接種前の 1) メモリー B 細胞の頻度の増加、2) メモリー B 細胞の機能性の成熟、3) ヘルパー T 細胞の機能性の成熟、などが考えられる。今後はこれらの可能性について検討する。

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。1 回目接種から 2 回目接種までの間隔を広げることで、抗体誘導効率が改善することが示唆された。

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

- 1) 高橋宜聖 ワクチン開発と評価に求められる免疫研究の役割 第 26 回日本ワクチン学会 学術集会 シンポジウム (香川 11 月)

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

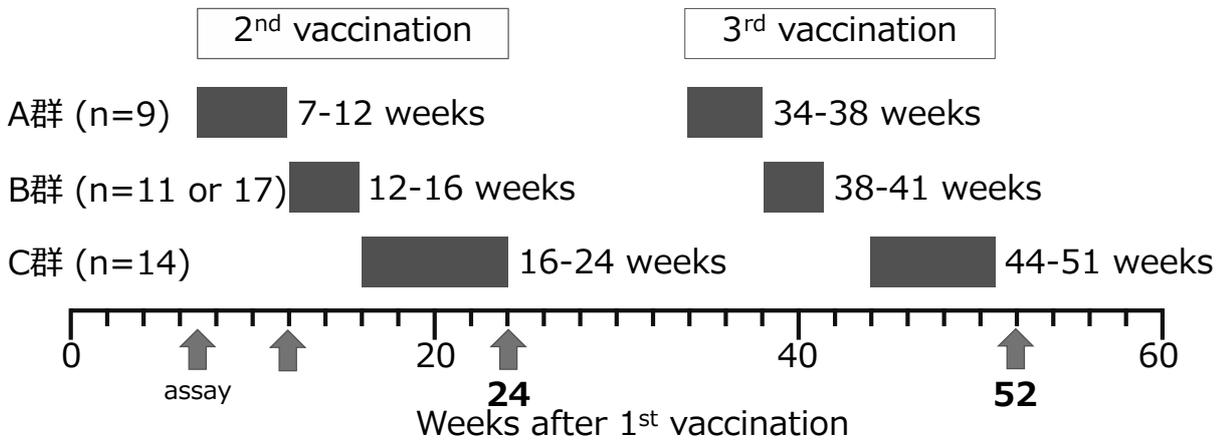
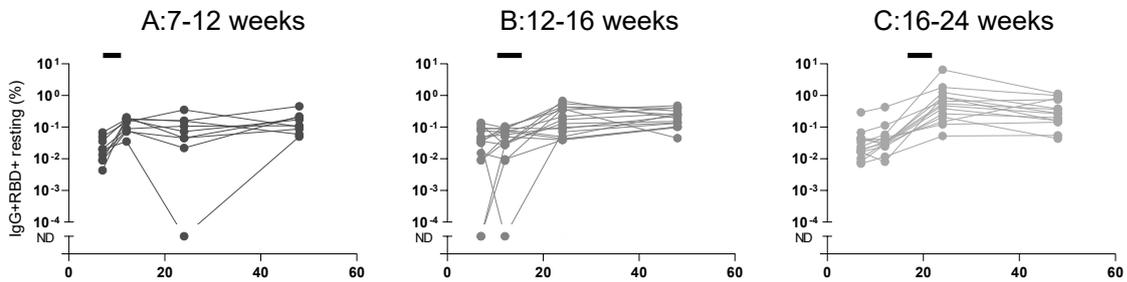


図2. 2回目接種時期の違いがメモリー B細胞応答に及ぼす影響

IgG⁺RBD⁺ 記憶B細胞



IgM⁺RBD⁺ 記憶B細胞

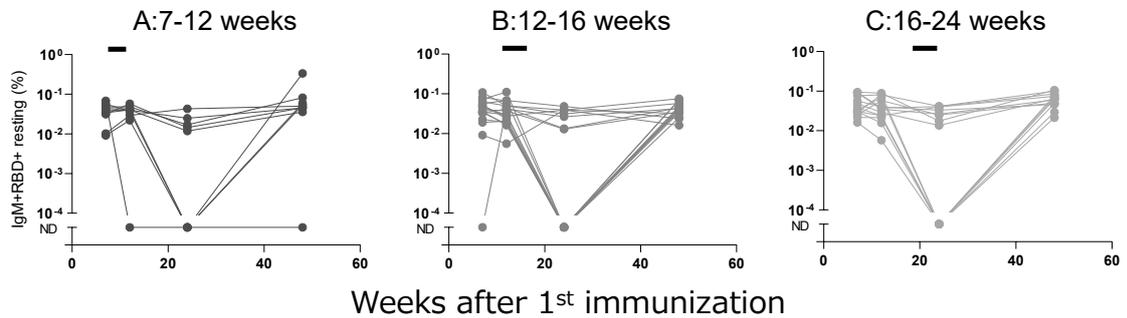


図3. 2回目接種時期の違いがメモリーT細胞応答に及ぼす影響

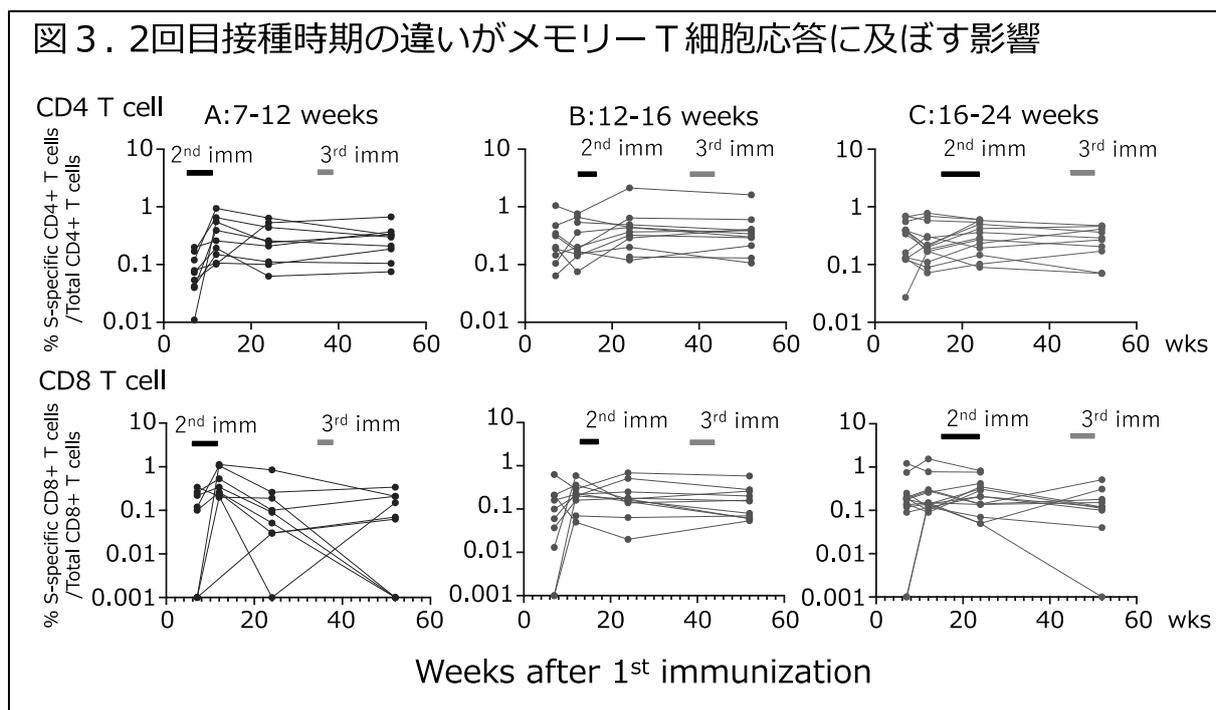


図4. 2回目接種時期の違いがメモリーB細胞応答に及ぼす影響

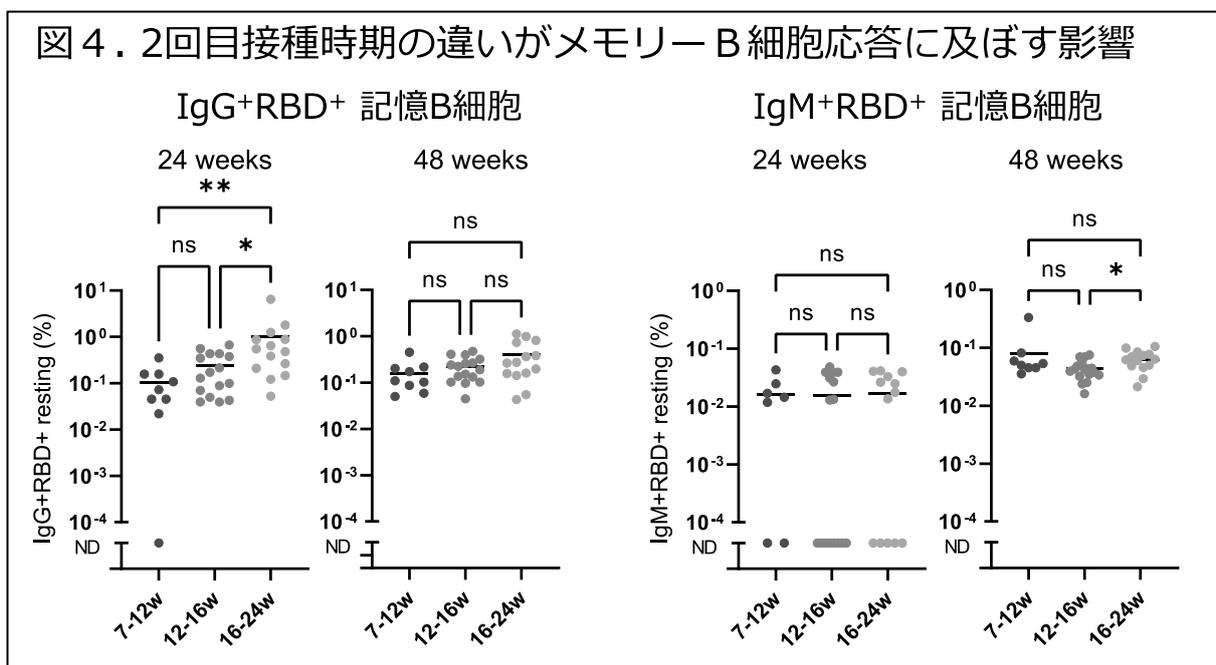


図5. 2回目接種時期の違いがメモリーT細胞応答に及ぼす影響

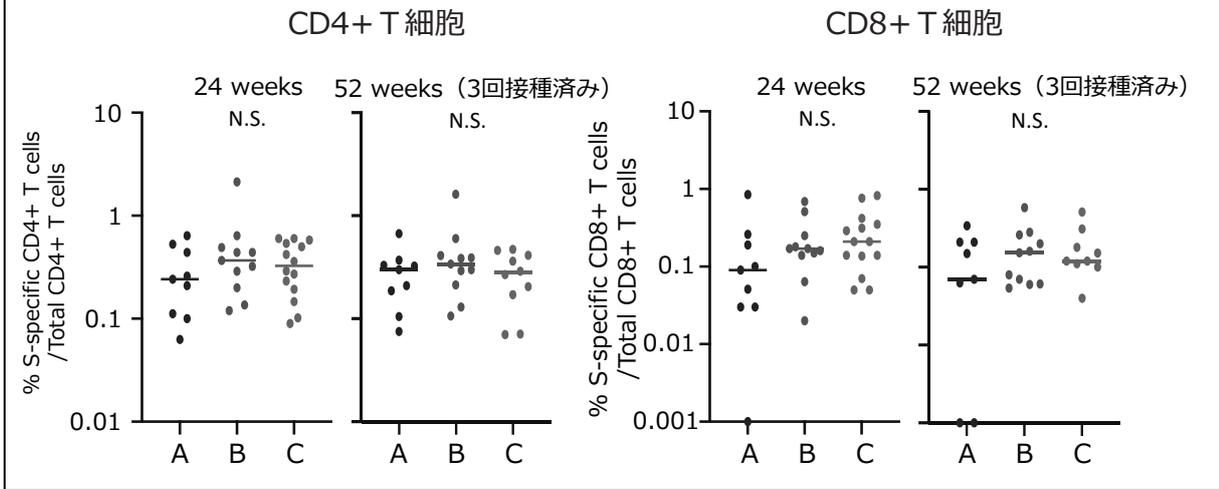


図6. 標準スケジュール接種群との比較

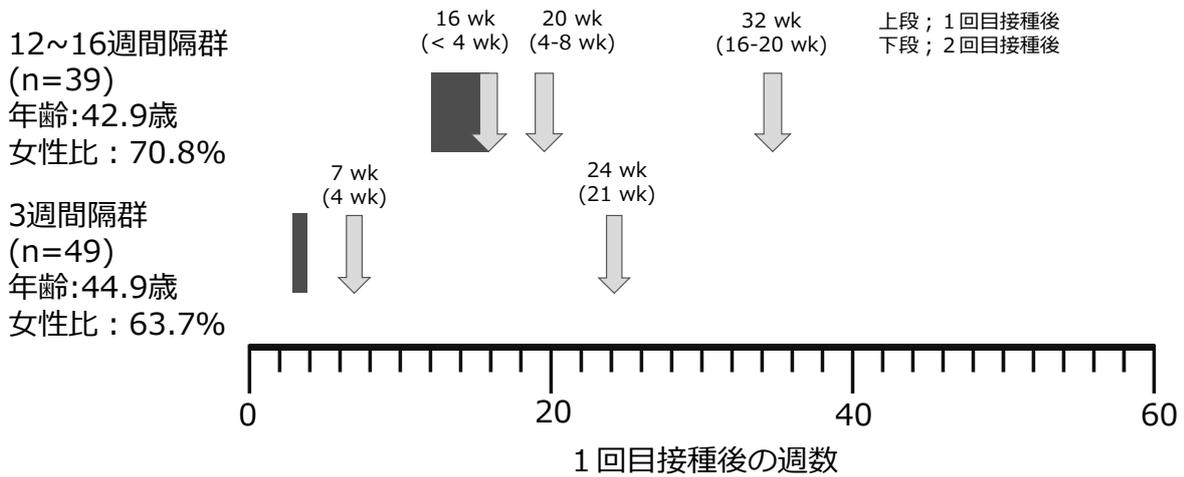


図7. 2回目接種遅延による抗体応答の増強

