厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
分担研究報告書

スパイクタンパク質検出文献の分析法信頼性評価研究(IHC 以外)

研究代表者　齊藤公亮　国立医薬品食品衛生研究所　医薬安全科学部　第二室長

研究要旨
2019 年末に出現した新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、パンデミックを引き起こしたが、本邦でも主に流通した mRNA ワクチン等により一定の収束に至ることができた。一方で、接種件数も多く、社会的な注目度が高いことから、接種開始以来、安全性上の懸念も提唱されている。そこで本研究では、分担研究より抽出された、ワクチン由来スパイクタンパク質を検出した文献のうち、免疫組織染色法以外で検出した文献 6 報を対象に、分析法の信頼性の観点から評価し、その評価結果と分析法で検出可能な分析対象に関する情報を整理することを目的とした。免疫組織染色法以外の手法でスパイクタンパク質を検出した文献は非常に数が少ないが、定量性及び信頼性があるランク A が 2 件、信頼性に欠けるランク C2 が 1 件、分析法の情報が不十分なランク D が 3 件という内訳であった。ランク A となった分析法については、定量的で信頼性の高いスパイクタンパク質の検出が可能と考えられ、LBA を用いた A ランクを含む 4 文献は、全て定量的に血中のスパイクタンパク質濃度を分析し、その測定濃度は 100 から 300 pg/mL 以下に収束していた。従って、ワクチン接種後のヒト血中において、最大数百 pg/mL の濃度で検出されうることを示唆している。一方で、全ての手法が抗体を用いて検出する手法であるため、総じて、SARS-CoV-2 感染由来のスパイクタンパク質との鑑別ができないことが分析法上の課題として挙げられる。また、陰性対照においても検出できてしまう等、特異性についても課題が残存している。さらに、スパイクタンパク質と S1 サブユニットを同じ検体で分析している報告においては、それぞれの検出量に整合性が欠けており、分析結果の一貫性にも懸念がある。従って、血中におけるスパイクタンパク質の残存、特に有害事象と関連するような長期的な残存を評価するためには、SARS-CoV-2 感染由来と鑑別可能、かつ陰性対照で検出されないような特異性を向上させた分析法の開発が必要不可欠と考えられた。

研究分担者
橋本晨(孫雨晨)　国立医薬品食品衛生研究所　医薬安全科学部　主任研究官
薄田健史　国立医薬品食品衛生研究所　医薬安全学部　主任研究官

A. 研究目的

2019 年末に出現した新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、パンデミックを引き起こした。この未曾有の感染症の出現を受け、製薬企業は mRNA 技術を基盤としたワクチンの開発および製造を加速させ、特例承認という形であったものの、約 1 年という非常に短期間で一般利用が可能となり、新型コロナワクチン接種は、2020 年から

2024 年の間に約 250 万人の死亡を回避したと推定されている[1]。 ワクチン接種は現在も世界各地で継続されており、特に重症化しやすいとされている高齢者や基礎疾患を有する人、免疫が抑制状態の人は継続した接種が推奨されている。

コロナウイルス(SARS-CoV-2)RNA ワクチンは、病原体である重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2)のスパイクタンパク質をコードする mRNA が本体であり、接種後宿主細胞内に取り込まれることで、スパイクタンパクを発現させる。発現したスパイクタンパク質は抗原として提示されることで免疫応答を誘導し、抗体の産生及び細胞性免疫応答の惹起により、防御免疫の獲得につながる[2]。接種された mRNA はヌクレアーゼにより分解されるため、数日で消失することが審査報告書において記載されている。一方で、近年の研究では、ワクチン由来のスパイクタンパク質、あるいは接種された mRNA 自身が、接種後数日から数週間にわたり血中で検出される症例が存在することが報告された[3-5]。これに伴って、スパイクタンパク質や mRNA がヒト組織内に残存する可能性や、それに伴う安全性への影響について懸念を表する考えも提唱されている。一般に、安全性上の懸念は、有害事象報告の体系的な収集・評価・解析を通じて検討され、その結果に基づいて適切な安全対策が講じられる。しかしながら、コロナウイルス(SARS-CoV-2)RNA ワクチンは、社会的および科学的関心が非常に高く、情報が十分に検証されないまま安全性に関する不安を招く情報が発信・拡散されており、科学的根拠に基づく適切な情報理解を妨げる影響が危惧される。

そこで本研究では、分担研究により、ワクチン被接種者においてスパイクタンパク質を検出した文献として抽出した文献 21 報のうち、免疫組織染色法を除く、リガンド結合法(LBA)、ウエスタンブロット法(WB)、及びフローサイトメトリー法(FCM)を用いて検出した文献 6 報を対象として、分析法を信頼性の観点から評価し、その評価結果と分析法で検出可能な分析対象に関する情報を整理することを目的とした。

B. 研究方法

抽出した文献について、分析法を信頼性の観点から評価した。具体的には、メソッド記載の有無、重要項目の記載の有無、選択性評価の有無、定量的評価の有無(検量線の有無)、及び定量的評価に対するバリデーションの有無、を評価し、それぞれの有無に応じてランク付けした(図 1)。文献が引用されている場合は直接引用を対象とし、孫引きについては情報なしと整理した。重要項目は、LBA、WB、及び FCM に対し、それぞれ設定した。LBA については、標準物質、結合試薬(抗体等)、及び検出試薬/プローブを設定した。WB については、結合試薬(抗体)を設定した。FCM については、結合試薬(抗体)、ゲーティングストラテジー、アイソタイプコントロールを設定した。また、文献上の記載情報を基に、主な抗体反応条件と検出可能な分析対象を整理した(表 1、表 2 及び図 2)。なお、評価対象とした文献は以下の通りである。

＜評価対象文献＞

評価文献 1. Bansal S, Perincheri S, Fleming T, et al. Cutting Edge: Circulating Exosomes with COVID Spike Protein Are Induced by BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) Vaccination prior to Development of Antibodies: A Novel Mechanism for Immune Activation by mRNA Vaccines. J Immunol. 2021;207(10):2405-2410. doi:10.4049/jimmunol.2100637

評価文献 2. Gimenez S, Hamrouni E, André S, et al. Monocytic reactive oxygen species-induced T-cell apoptosis impairs cellular immune response to SARS-CoV-2 mRNA vaccine. J Allergy Clin Immunol. 2025;155(5):1635-1646. doi:10.1016/j.jaci.2025.01.003

評価文献 3. Karaba AH, Swank Z, Hussain S, et al. Detectable plasma severe acute respiratory

syndrome coronavirus 2 spike antigen is associated with poor antibody response following third messenger RNA vaccination in kidney transplant recipients. Transpl Infect Dis. 2024;26(3):e14281. doi:10.1111/tid.14281

評価文献 4. Ogata AF, Cheng CA, Desjardins M, et al. Circulating Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Vaccine Antigen Detected in the Plasma of mRNA-1273 Vaccine Recipients. Clin Infect Dis. 2022;74(4):715-718. doi:10.1093/cid/ciab465

評価文献 5. Patterson BK, Yogendra R, Francisco EB, et al. Detection of S1 spike protein in CD16+ monocytes up to 245 days in SARS-CoV-2-negative post-COVID-19 vaccine syndrome (PCVS) individuals. Hum Vaccin Immunother. 2025;21(1):2494934. doi:10.1080/21645515.2025.2494934

評価文献 6. Yonker LM, Swank Z, Bartsch YC, et al. Circulating Spike Protein Detected in Post-COVID-19 mRNA Vaccine Myocarditis. Circulation. 2023;147(11):867-876. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.122.061025

(倫理面への配慮)
該当なし

B. 研究結果・考察
評価文献 1
本文献では、血中エクソソーム中のスパイクタンパク質の検出に WB が用いられていた。メソッド記載はあるものの、重要項目として設定した結合試薬(抗体)について、S2 サブユニットに対する抗体とのみ記載され、具体的な製品情報が提示されていなかった。選択性評価としては、陰性対象の測定が行われていた。重要項目が欠けているため、ランク D と評価した。抗体の情報はなく、WB のため濃度的な評価はできないが、バンドの濃さで比較を行っていた。

分析法として、重要項目が欠けていることに加え、時系列の検出に不自然さはないものの、定量的な評価ができないこと、分子量マーカーや撮像ゲルが目的バンドのみであること、及びエクソソームの指標である CD9 量が検体間で大きくばらついていることが、検出の妥当性への懸念として挙げられた。

評価文献 2
本文献では、血中スパイクタンパク質の検出に LBA が用いられていた。メソッド記載はあり、重要項目として設定した標準物質、結合試薬(抗体等)、及び検出試薬/プローブに該当する情報として、利用したキット名は記載されていたが、特定するためのカタログ番号は明示されていなかった。ただ、Thermo 社で当該キットは 1 種類(Thermo #EH492RB)であるが、当該キットであるとしても、データシートには抗体の詳細情報は含まれていなかった。また、選択性評価として陽性対象と陰性対象の測定は行われていなかった。想定されるキット情報には、検量線用の標準物質と検量線の作成方法に加え、分析精度が開示されていた。検量線による定量的な評価を行う手法ではあるが、選択性評価がなされていないため、ランク C2(特定するカタログ No.が無いという点ではランク D)と評価した。

本文献では、スパイクタンパク質のサブユニット S1 中の受容体結合部位(RBD)の検出結果として提示されている。エピトープ等抗体の詳細情報は開示されていないが、S1 サブユニットの RBD を認識する抗体と記載されている。検出結果は、症例数から判断すると、検出下限以下を含むと考えられ、300 pg/mL 程度以下の濃度で検出されていた。

分析法としては、キット化されており、定量的な測定結果が得られるが、選択性が検証されてお

らず、解析に供した検体数が不明瞭であることが検出の妥当性への懸念として挙げられた。

評価文献 3

本文献では、血中スパイクタンパク質の検出に超高感度 LBA である SIMOA 法が用いられていた。メソッド記載はあり、重要項目として設定した結合試薬(抗体等)、及び検出試薬/プローブは引用文献において記載されていた。一方で、標準物質は引用文献において記載されておらず、そのまた引用文献で記載されていた。そのため本研究における取り扱いとしてはランク D と評価した。なお、引用文献は本研究における評価文献 6 であり、選択性評価として陽性対象と陰性対象の測定、検量線の作成、バリデーション項目の評価(スパイクの回収率、希釈直線性、特異性評価、及び QC 試料の真度・精度)もその引用文献で評価されているため、ランク A 相当と評価することも可能である。

本文献では、スパイクタンパク質のサブユニット S1 の検出結果として提示されている。サブユニット S1 の捕捉抗体には、レセプター結合部位を含む、306 番から 527 番までの 222 アミノ酸がエピトープとして用いられた抗体(Sino Biological, #40150-D001)が用いられており、検出にも同じ抗体が用いられていた。S1 サブユニットは、検出下限以下を含め 150 pg/mL 程度以下の濃度で検出されていた。

分析法としては、バリデートされているものの、ワクチン接種症例の接種直後 3 日目においても、75%以上が現出限界以下であること、一部の陰性対象で検出できてしまうこと、LOD が測定毎に変動し、最大 10 倍以上差があることが検出の妥当性への懸念として挙げられた。

評価文献 4

本文献では、血中スパイクタンパク質の検出に超高感度 LBA である SIMOA 法が用いられていた。メソッド記載はあり、重要項目として設定した標準物質、結合試薬(抗体等)、及び検出試薬/プローブも引用文献における記載を含めると全て記載されていた。また、選択性評価として陽性対象と陰性対象の測定も引用文献で行われていた。検量線も作成されており、バリデーション項目として、スパイクの回収率、希釈直線性、特異性評価、及び QC 試料の真度・精度が引用文献で評価されており、ランク A と評価した。

本文献では、サブユニット S1 と全長のスパイクタンパク質の検出結果として提示されている。サブユニット S1 の捕捉抗体には、レセプター結合部位を含む、306 番から 527 番までの 222 アミノ酸がエピトープとして用いられた抗体(Sino Biological, #40150-D001)が用いられており、検出抗体にも同じ抗体が用いられていた。一方、全長の捕捉/検出抗体には、S1 の抗体に加え、686 番から 1213 番までの 528 アミノ酸がエピトープとして用いられた、S2 サブユニットを認識する抗体(Sino Biological, #40590-T62)が用いられていた。なお、どちらの抗体が捕捉抗体/検出抗体かについては、明確な記載は認められなかった。S1 サブユニットおよびスパイクタンパク質は、検出下限以下を含め 100 pg/mL 程度以下の濃度で検出されていた。

分析法としては、バリデートされているものの、ワクチン接種症例の接種直後においても、半数以上が検出限界以下であること、一部の陰性対象で検出できてしまうこと、LOD が測定毎に変動し、最大 10 倍以上差があること、及び S1 と全長スパイクタンパク質の存在量に整合性が欠けていることが検出の妥当性への懸念として挙げられた。

評価文献 5

本文献では、$CD16^{+}$単球中のスパイクタンパク質の検出に FCM が用いられていた。メソッド記載はあるものの、重要項目として設定した結合試薬(抗体)、ゲーティングストラテジー、アイソタイプコントロールのうち、アイソタイプコントロールの情報が欠けていた。また、本文中には記載がないが、先行研究において、選択性評価として

陽性対象と陰性対象の測定が行われていた。重要項目が欠けているため、ランク D と評価した。

本文献では、サブユニット S1 の検出結果として提示されているが、用いられている抗体(R&D System, #FAB105403V)はスパイクタンパク質全長をエピトープとして用いていた抗体であり、製品特性として、S1 サブユニット全長に反応することが確認された抗体であった。検出結果は陽性細胞のポピュレーションとして算出し比較されていた。

分析法として重要項目が欠けており、解析対象症例についても、特に明記されず絞り込まれていること、定量的な評価ができないことが、検出の妥当性への懸念として挙げられた。

評価文献 6

本文献では、血中スパイクタンパク質の検出に超高感度 LBA である SIMOA 法が用いられていた。メソッド記載はあり、重要項目として設定した標準物質、結合試薬(抗体等)、及び検出試薬/プローブも記載されていた。また、選択性評価として陽性対象と陰性対象の測定も行われていた。検量線も作成されており、バリデーション項目として、QC 試料の真度・精度、希釈直線性が評価されており、ランク A と評価した。

本文献では、サブユニット S1 と全長のスパイクタンパク質の検出結果として提示されている。サブユニット S1 の捕捉抗体には、レセプター結合部位を含む、319 番から 537 番までの 218 アミノ酸がエピトープとして用いられた抗体(Sino Biological, #40150-D006)が用いられていた。一方、全長の捕捉抗体には、1029 番から 1192 番までの 218 アミノ酸がエピトープとして用いられた、S2 サブユニットを認識する抗体(Invitrogen, #MA5-35946)が用いられていた。それぞれの検出抗体には、エピトープは開示されていないが、S1 サブユニットの RBD を認識とされる抗体(Leinco, #LT1900)が用いられていた。S1 サブユニットおよびスパイクタンパク質は、検出下限以下を含め 100 pg/mL 程度以下の濃度で検出されていた。

分析法としては、バリデートされているものの、一部の陰性対象で検出できてしまうこと、及び S1 と全長スパイクタンパク質の存在量に整合性が欠けていることが検出の妥当性への懸念として挙げられた。また、評価文献 6 と同じグループからの論文であるが、一部抗体が変更されており、時系列的に分析法の改良がおこなわれている可能性が高い。

D. 結論

本研究では、ワクチン被接種者においてスパイクタンパク質を検出した文献として、LBA、WB、及び FCM を用いて検出した文献 6 報を対象として、分析法の信頼性の観点からの評価、及びその分析法が検出可能な分析対象に関する情報を整理した。免疫組織染色法以外の手法でスパイクタンパク質を検出した文献は非常に数が少ないが、ランク A が 2 件(孫引きを許容すると 3 件)、ランク C2 が 1 件(特定するためのキットのカタログ番号が欠けていることを考慮するとランク D)、ランク D が 3 件という内訳であった。ランク A あるいは相当となった分析法については、定量的で信頼性の高いスパイクタンパク質の検出が可能と考えられる。また、LBA を用いた A ランクを含む 4 文献は、全て定量的に血中のスパイクタンパク質濃度を分析しているが、その測定濃度は 100 から 300 pg/mL 以下に収束しており、ワクチン接種後のヒト血中において、最大数百 pg/mL の濃度で検出されうることを示唆している。一方で、全ての手法が抗体を用いて検出する手法であるため、総じて SARS-CoV-2 感染由来のスパイクタンパク質との鑑別ができないことが分析法上の課題として挙げられる。また、陰性対照においても検出できてしまう等、特異性についても課題が残存している。さらに、スパイクタンパク質と S1 サブユニットを同じ検体で分析している報告においては、それぞれの検出量に整合性が欠けており、分析結果の一貫性にも懸念がある。従って、血中におけるス

パイクタンパク質の残存、特に有害事象と関連するような長期的な残存を評価するためには、SARS-CoV-2 感染由来と鑑別可能、かつ陰性対照で検出されないような特異性を向上させた分析法の開発が必要不可欠と考えられた。

E. 研究発表
該当なし

F. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

G. 引用文献

1. Ioannidis JPA, Pezzullo AM, Cristiano A, Boccia S: Global Estimates of Lives and Life-Years Saved by COVID-19 Vaccination During 2020-2024. JAMA Health Forum, 6, e252223 (2025).
2. National Academies of Sciences E, and Medicine. Evidence Review of the Adverse Effects of COVID-19 Vaccination and Intramuscular Vaccine Administration. (Rosenberg D, Kumova OK, Stratton K, Bass AR ed.)^eds.), Washington (DC), (2024).
3. Ogata AF, Cheng CA, Desjardins M, Senussi Y, Sherman AC, Powell M, Novack L, Von S, Li X, Baden LR, Walt DR: Circulating Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Vaccine Antigen Detected in the Plasma of mRNA-1273 Vaccine Recipients. Clin Infect Dis, 74, 715-718 (2022).
4. Yonker LM, Swank Z, Bartsch YC, Burns MD, Kane A, Boribong BP, Davis JP, Loiselle M, Novak T, Senussi Y, Cheng CA, Burgess E, Edlow AG, Chou J, Dionne A, Balaguru D, Lahoud-Rahme M, Arditi M, Julg B, Randolph AG, Alter G, Fasano A, Walt DR: Circulating Spike Protein Detected in Post-COVID-19 mRNA Vaccine Myocarditis. Circulation, 147, 867-876 (2023).
5. Fertig TE, Chitoiu L, Marta DS, Ionescu VS, Cismasiu VB, Radu E, Angheluta G, Dobre M, Serbanescu A, Hinescu ME, Gherghiceanu M: Vaccine mRNA Can Be Detected in Blood at 15 Days Post-Vaccination. Biomedicines, 10, (2022).



図 1. 分析法評価のフローチャート

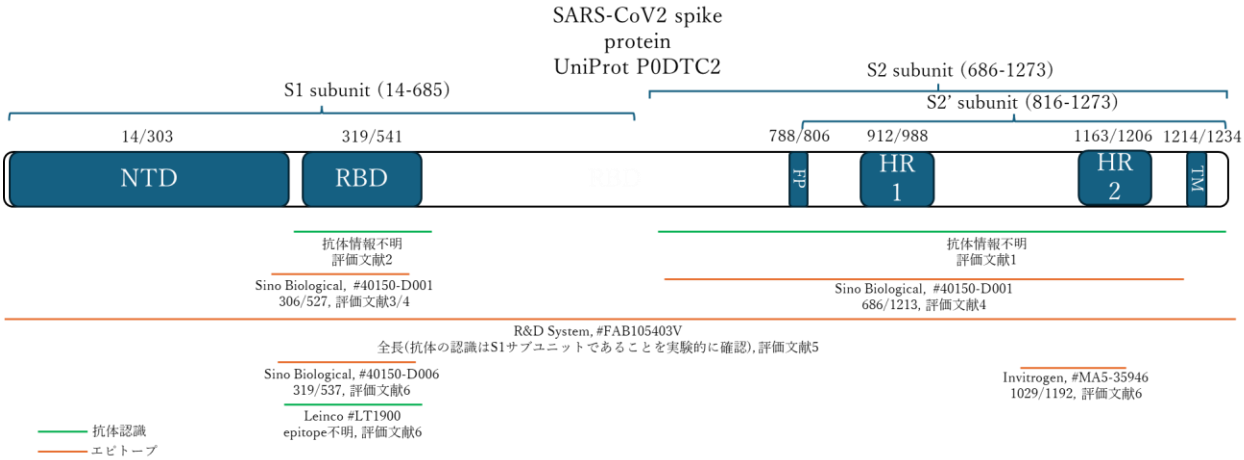


図 2. 分析法で用いられた一次抗体認識部位

表 1. LBA を用いた文献の抗体情報

文献番号	検出対象	捕捉抗体製造元	捕捉抗体カタログ番号とクローン	検出抗体製造元	検出抗体カタログ番号とクローン	分析法信頼性ランク
2	S2	Thermo	キットのため記載なし	Thermo	キットのため記載なし	ランク C2*
3	S1	Sino Biological	40150-D001/D001	Sino Biological	40150-D001/D001	ランク D**
4	S1	Sino Biological	40150-D001/D001	Sino Biological	40150-D001/D001	ランク A
4	全長	Sino Biological	40150-D001/D001***	Sino Biological	40590-T62/Polyclonal***	ランク A
6	S1	Sino Biological	40150-D006/D006	Leinco	LT1900/2165	ランク A
6	全長	Invitrogen	MA5-35946/1A9	Leinco	LT1900/2165	ランク A

評価対象は全て血漿, LBA はサンドイッチ型のため 2 種の抗体で捕捉, *キットを特定するためのカタログ番号が無いことを考慮するとランク D, **孫引き論文を含めるとランク A, ***捕捉抗体と検出抗体の順は文献中の記載では不明瞭.

表 2. WB および FCM を用いた文献の抗体情報

文献番号	評価対象	一次抗体製造元	一次抗体カタログ番号とクローン	分析法信頼性ランク
1	Exosome	記載なし	記載なし	ランク D
5	$CD16^{+}$単球	R&D System	FAB105403V/ 1035206	ランク D