

血漿療法に用いる回復者血漿の活性評価と基礎解析

研究分担者 前田賢次

国立国際医療研究センター・研究所・難治性ウイルス感染症研究部・室長

研究要旨

本研究では COVID-19 回復者血漿を投与する臨床試験で有効な結果が得られることを最終目的とした研究を進めた。投与血漿中に含まれる SARS-CoV-2 に対する中和抗体の量やその活性を詳細に評価する系を樹立、さらに COVID-19 からの回復の過程においてその活性がどのように変化するかについての解析も行った。活性を認めたドナー血漿の活性を数値化、それに応じて血漿投与量を決定するプロトコールを作成し、臨床試験での投与が行われた。本研究の成果は今回の COVID-19 に限らず、将来起こり得る未知の感染症に対する緊急的治療法としての意義がある。

A.研究の目的

本研究計画では SARS-CoV-2 感染後の回復期血漿を用いた COVID-19 患者の治療開発に向けた研究を行うが、その中で、研究分担者は回復者血漿の *in vitro* での基礎的解析を担当する。この結果は患者に対する治療（回復者血漿療法）へと還元（より強力な中和活性を持つ血液の選択）させると同時に、得られた強力な中和抗体の解析を進め、中和活性に有効なエピトープの同定を目指す。これらの成果は将来的なワクチン開発にも有効と期待される。

B.研究方法

当院で入院加療を受けた COVID-19 患者の血中中和活性についての詳細・経時的な解析を行う。ウイルスと被感染性を有する細胞株（VERO 細胞）を用いた *in vitro* 感染系を用いて、回復期血清の抗ウイルス活性（中和活性）を評価する。どのような患者に高い中和活性が見られるか、さらに活性が高い時期などについても検討する。

（倫理面への配慮）

本研究は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」（平成 29 年 2 月 28 日一部改正）を遵守し、機関の倫理委員会の承認を得て実施する。データは研究を担当するスタッフのみがアクセス可能とし、内容が第三者の目に触れないように、また、データが漏洩しないように、作業方法、作業場所、データ保管方法等を厳重に管理する。データの解析は、個人情報保護のため、また、個人情報が結果の解釈に影響することを避けるため、匿名化された後に実施する。研究成果の公表に際しては、個人が特定されることのないように配慮する。説明と同意は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則り、文書を用いて説明し、説明した内容を研究対象者が理解していることを確認した上で、自由意志によるインフォームド・コンセントを文

書で取得する。その際、本研究に参加するかどうかは被験者の自由意志に基づいて決定して良いこと、研究に参加しなくても上記文書で研究参加者に与えられると説明されている利益を受けられなくなることを以外に不利益を受けないこと、一旦研究参加に同意した後でも特段の不利益を受けること無くいつでも同意を撤回できること、ただし、同意撤回以前に学会、論文等で発表した結果は取り消さないことを十分に説明する。なお、同意の原本は研究者が保管し、写しを研究対象者に手渡す。

C.研究結果

本研究では COVID-19 回復者血漿を投与する臨床試験で有効な結果が得られることを最終目的とした研究を進めた。投与血漿中に含まれる SARS-CoV-2 に対する中和抗体の量やその活性を詳細に評価する系を樹立、さらに COVID-19 からの回復の過程においてその活性がどのように変化するかについての解析も行った。具体的には詳細解析を行った 43 名の回復者について、ほぼ全例（42 例）で SARS-CoV-2 に対する結合抗体の存在が確認されたが、そのうちの 27 例（63%）の IgG 分画が有意な中和活性を示し、その活性の強さは患者の重症度に相関していた。一方で 16 例では有意な中和活性は認められなかった。さらに中和活性の上昇を認めた患者の約半数（～41%）でピークから約 1 か月以内に中和活性の減少が認められた。

このような回復患者における血中中和活性の推移に関する情報を元に、本研究では血漿療法に用いるドナー血漿を得るための大規模なスクリーニング検査を当院の患者及び外部の患者に対して進めた。さらに得られた献血血漿については、その活性を元に 4 段階（Grade A, B, C, X）に分類した。極めて強力な活性を有する Grade A（全体の約 2%）については海外の投与量と同じ 200ml を一回あたりの投与量として対象患者に投与、Grade B

(全体の 10%) については 400ml, Grade C については 800ml (2 回に分けて) 投与することとした。このような活性評価・投与方法の設定は海外で施行された血漿療法と比べて厳密に活性を評価して投与するシステムと評価できる。

D. 考察

回復者血漿、及びワクチン接種後の抗体価や中和活性については我々のグループも含めて国内外から複数の報告がある。抗原暴露から比較的長期 (6 ヶ月以上) にわたり、抗体価、さらには中和活性も維持されるという報告がある一方で、我々の研究のように、結合抗体はある程度持続しても、感染阻止に有効な中和活性はかなり減弱する、という報告も多い。このような解析はワクチンの効果の期間などにも関係する、今後の重要課題である。

本研究開発で得られた成果・意義として、上述した研究成果を含む COVID-19 患者における獲得免疫 (中和抗体) に関する複数の論文発表があげられる。さらに本研究は回復者血漿を用いた新しい治療法 (血漿療法) の臨床試験に向けた基盤整備を主目的としており、研究期間内に医師主導試験を当施設 (国立国際医療研究センター) で施行することができたことも重要な成果である (令和 3 年 2 月 24 日、jRCT 認定番号 CRB3200011)。一方で、2021 年以降はワクチンや抗体薬・内服薬が本邦でも使用されるようになり、治療法がほぼ確立された中での血漿療法の継続の必要性低下を考え、2021 年中に本試験は終了となり、治療効果に対する解析が進められている。

E. 結論

COVID-19 回復者の獲得免疫の詳細な解析は、血漿療法臨床試験で用いるドナー血漿の選択 (より強力な中和活性を有する) のためのプロトコル策定に還元された。これは血漿療法の効果を向上させるのに役立つものと期待され、将来起こり得る新興感染症に対する基盤的知識ともなり得る。さらに得られた強力な中和抗体の解析を進め、中和活性に有効なエピトープの同定を目指す。これらの成果は将来的なワクチン開発や抗体療法の開発にも有効と期待される。

F. 健康危険情報

(研究代表者より報告)

G. 研究発表

論文発表

1. Takamatsu Y, Imai M, Maeda K, Nakajima N, Higashi-Kuwata N, Iwatsuki-Horimoto K, Ito M, Kiso M, Maemura T, Takeda Y, Omata K, Suzuki T, Kawaoka Y, Mitsuya H. Highly Neutralizing COVID-19 Convalescent Plasmas Potently Block SARS-CoV-2 Replication and Pneumonia in Syrian

Hamsters. *J Virol.* 2022, 96(4):e0155121. doi: 10.1128/JVI.01551-21.

2. Maeda K, Amano M, Uemura Y, Tsuchiya K, Matsushima T, Noda K, Shimizu Y, Fujiwara A, Takamatsu Y, Ichikawa Y, Nishimura H, Kinoshita M, Matsumoto S, Gatanaga H, Yoshimura K, Oka SI, Mikami A, Sugiura W, Sato T, Yoshida T, Shimada S, Mitsuya H. Correlates of neutralizing/SARS-CoV-2-S1-binding antibody response with adverse effects and immune kinetics in BNT162b2-vaccinated individuals. *Sci Rep.* 2021, 11(1):22848. doi: 10.1038/s41598-021-01930-y.
3. Terada M, Kutsuna S, Togano T, Saito S, Kinoshita N, Shimanishi Y, Suzuki T, Miyazato Y, Inada M, Nakamoto T, Nomoto H, Ide S, Sato M, Maeda K, Matsunaga A, Satake M, Matsubayashi K, Tsuno H, Kojima M, Kuramistu M, Tezuka K, Ikebe E, Okuma K, Hamaguchi I, Shiratori K, Sato M, Kawakami Y, Inaba K, Igarashi S, Yamauchi R, Matsumura M, Ishimaru K, Zhang B, Kuge C, Ishihara M, Gouda M, Tanaka K, Ishizaka Y, Ohmagari N. How we secured a COVID-19 convalescent plasma procurement scheme in Japan. *Transfusion.* 2021, 61(7):1998-2007. doi: 10.1111/trf.16541.
4. Kutsuna S, Asai Y, Matsunaga A, Kinoshita N, Terada M, Miyazato Y, Nakamoto T, Suzuki T, Saito S, Endo M, Kanda K, Maeda K, Takasaki J, Hojo M, shizaka Y, Ohmagari N. Factors associated with anti-SARS-CoV-2 IgG antibody production in patients convalescing from COVID-19. *J Infect Chemother.*, 2021, 27(6):808-813. doi: 10.1016/j.jiac.2021.01.006.
5. Noda K, Matsuda K, Yagishita S, Maeda K, Akiyama Y, Terada-Hirashima J, Matsushita H, Iwata S, Yamashita K, Atarashi Y, Watanabe S, Ide N, Yoshida T, Ohmagari N, Mitsuya M, Hamada A. A novel highly quantitative and reproducible assay for the detection of anti-SARS-CoV-2 IgG and IgM antibodies. *Sci. Rep.* 2021 Mar 4;11(1):5198. doi: 10.1038/s41598-021-84387-3.
6. Maeda K, Higashi-Kuwata N, Kinoshita N, Kutsuna S, Tsuchiya K, Hattori SI, Matsuda K, Takamatsu Y, Gatanaga H, Oka S, Sugiyama H, Ohmagari N, Mitsuya H. Neutralization of SARS-CoV-2 with IgG from COVID-19-convalescent plasma. *Sci Rep.* 2021 Mar 10;11(1):5563. doi: 10.1038/s41598-021-84733-5.
7. Yamayoshi S, Yasuhara A, Ito M, Akasaka O, Nakamura M, Nakachi I, Koga M, Mitamura K, Yagi K, Maeda K, Kato H, Nojima M, Pattinson D, Ogura T, Baba R, Fujita K, Nagai H, Yamamoto S, Saito M, Adachi E, Ochi J, Hattori SI, Suzuki T, Miyazato Y, Chiba S, Okuda M, Murakami J, Hamabata T, Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima H, Mitsuya H, Ohmagari N, Sugaya N, Yotsuyanagi H, Kawaoka Y. Antibody titers against SARS-CoV-2 decline, but do not disappear for several months.

EClinicalMedicine, 2021 Feb;32:100734. doi:
10.1016/j.eclinm.2021.100734.

1. 前田 賢次. 新型コロナウイルスに対する中和抗体の産生・活性解析と治療への応用
SCB シンポジウム 4. 第 35 回日本エイズ学会
学術集会・総会. 2021 年 11 月 21-23 日、東京

H.知的財産権の出願・取得登録

特許番号：特願 2021-26649、出願日：令和 3 年 2 月 22 日、タイトル：COVID-19 の重症化リスクに関する情報の取得方法、SARS-CoV-2 の S 抗原に対する IgM 抗体のモニタリング方法、COVID-19 の重症化リスクの判定を補助する方法、試薬キット、COVID-19 の重症化リスクに関する情報の取得装置及び COVID-19 重症化リスクに関する情報を取得するためのコンピュータプログラム