

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：24405

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15927

研究課題名（和文）抗体アビディティ成熟を指標としたSARS-CoV-2防御免疫のレジリエンス評価

研究課題名（英文）Antibody avidity maturation as index for Immune resilience against SARS-CoV-2

研究代表者

中釜 悠（Nakagama, Yu）

大阪公立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：60846880

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：抗体成熟化はウイルスに対する中和活性、特に中和能広域化に重要であり、ワクチン接種においてはアビディティ成熟の遅延が懸念されるために追加ブースター接種の妥当性が支持される。SARS-CoV-2高親和性抗体と広域交差中和活性の強い関連性を示す*in vitro*エビデンスは、リアルワールドにおける再感染の少なさを、ワクチン被接種後ブレイクスルー感染の多さを、その分子背景から巧みに説明し、ワクチン接種戦略に関するアダプティブな意思決定を支援する知見である。研究活動の発展的展開により、ハイブリッド免疫の優位性、腫瘍患者、超高齢者、免疫不全症など脆弱集団の免疫構築を、アビディティ成熟の観点で評価し得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗体アビディティ成熟は、SARS-CoV-2中和能、特に中和能広域化に重要であることが示された。ワクチン接種においてはアビディティ成熟の遅延が懸念されるため、追加ブースター接種の妥当性が支持された。SARS-CoV-2感染回復者が持つ高親和性抗体が、変異株に対しても広域な交差中和活性を発揮しうる、という*in vitro*のエビデンスは、リアルワールドにおいて回復者が再感染を起こす頻度が低いこと、ワクチン被接種者ブレイクスルー感染の頻度が多いことを、その分子背景から巧みに説明した。本研究成果によって、ワクチン接種戦略に関するアダプティブかつアダプティブな意思決定を支援するエビデンスが創出された。

研究成果の概要（英文）：Antibody maturation is important for viral neutralization, especially for broad neutralizing capacity, supporting the relevance of additional booster vaccination due to concerns about delayed avidity maturation in the vaccinees. *In vitro* evidence, showing strong association between SARS-CoV-2 high affinity antibodies and broad cross-neutralizability, clearly explains from the molecular perspective the lower number of real-world re-infections compared with the higher number of post-vaccination breakthrough infections. The findings altogether support adaptive decision making regarding vaccination strategies. The project further assessed the advantages of hybrid immunity, as well as the adaptive immunity development in vulnerable populations including cancer patients, octogenarians, and immunocompromised patients, from the view point of antibody avidity maturation kinetics.

研究分野：感染症科学

キーワード：SARS-CoV-2 中和抗体 親和性成熟 ワクチン 自然感染

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新型コロナウイルス SARS-CoV-2 およびその変異株の相次ぐ出現は、我々に、ワクチン接種戦略に関してかつてないアクティブかつアダプティブな意思決定を迫った。パンデミック最盛当時、SARS-CoV-2 再感染に比べて、ワクチン不全に伴うブレークスルー感染が多く報告された事実は、ワクチン誘導免疫と自然感染免疫の防御機能に質的な違いがあることを示唆していた。研究代表者の過去の検討からは、ワクチン誘導免疫と自然感染免疫においては抗体成熟化の経時プロセスが異なることが示唆され、抗原曝露以降、免疫のファインチューニングを経て出現する高親和性 (High-avidity) 抗体が (再) 感染予防に果たす役割は大きいと想像された。リアルワールドにおける抗 SARS-CoV-2 抗体アビディティ成熟化の経過と、抗体が発揮する SARS-CoV-2 への中和能や変異耐性との関連性を理解し、ワクチン誘導免疫と自然感染免疫の防御能における質的違いを解明することは、ワクチン接種戦略に関するアダプティブな意思決定の最適化に資する。

2. 研究の目的

本研究では、新型コロナウイルス感染症回復者の血中 IgG を用いた検討から、

- SARS-CoV-2 抗原への結合親和性成熟が、ウイルス中和能にどのように関連するか、
- 自然感染抗体とワクチン誘導抗体における親和性成熟化のカイネティクスがどのように異なるか、

を理解することを通じて、「抗体成熟化が SARS-CoV-2 に対する中和能、変異株に対する交差中和活性にどう影響するか」を解明することが目的である。

3. 研究の方法

(1) 自然感染抗体とワクチン誘導抗体の質的比較

自然感染抗体とワクチン誘導抗体では「単位 IgG 力価あたり中和能」が異なる、との予備的知見を得ていた我々は、抗体のもつ中和活性の質的差異が

- 抗原認識部位 (パラトープ/エプトープ) のプロファイルの違い、或いは
- 各抗原認識部位に対する結合親和性の違い、

いずれの要因に起因するか、を解明したいと考えた。自然感染抗体とワクチン誘導抗体、それぞれにおける抗原認識部位プロファイルの一致/相違性を理解するために、短鎖ペプチドを用いた 15mer のオーバーラッピング・SARS-CoV-2 ペプチド・アレイ、表面プラズモン共鳴により、成熟高親和性抗体の抗原認識部位と、結合の親和性を検証した。In vitro 中和試験における中和能データと、得られたパラトープ/エプトープのプロファイル情報とを統合し、中和能の規定抗原領域を決定した。また、抗原-抗体反応の強度・親和性の指標である抗体アビディティを、変性剤存在化 ELISA のハイスループット系で分析する手法を樹立し、その動態を追跡することで、自然感染抗体とワクチン誘導抗体の抗体成熟化過程を検討した。

(2) 抗体成熟化と、変異株への中和交差活性の関連解析

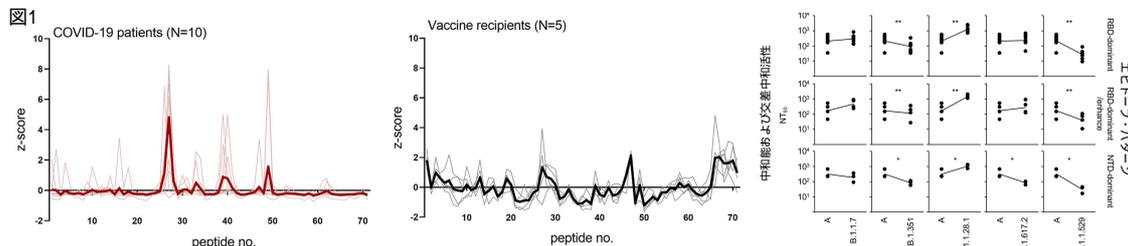
抗体成熟化は、その様式によっては、特定のエプトープ構造に対しては親和性が高まり、結合をより強固なものとするが、一方でパラトープ/エプトープの相補性が高まる代償として、結合境界面の構造が柔軟性を喪失してしまう場合があり、自然感染抗体とワクチン誘導抗体のそれぞれの場合で、SARS-CoV2 構造変化に対して脆弱な成熟化プロセスを経ていないか、は重要である。変異ウイルスやその精製抗原を用いた競合 ELISA アッセイ、in vitro ウイルス中和試験を用い、自然感染抗体とワクチン誘導抗体それぞれにおける、抗体成熟と中和活性の関連性、病原体の変異獲得に対する抗体のレジリエンス (変異耐性) を定量的に評価した。

4. 研究成果

SARS-CoV-2 自然感染者およびワクチン被接種者をリクルートし、大規模な多施設コンソーシアムを構築した (https://www.osaka-cu.ac.jp/ja/news/pdfs2020/press_200427.pdf)。各施設責任者と共同し、広く国内外から収集した臨床情報および血液検体を用いて、研究代表者 中釜が以下の免疫フェノタイピング (抗体力価動態解析、エプトープ決定、アビディティ測定) を推

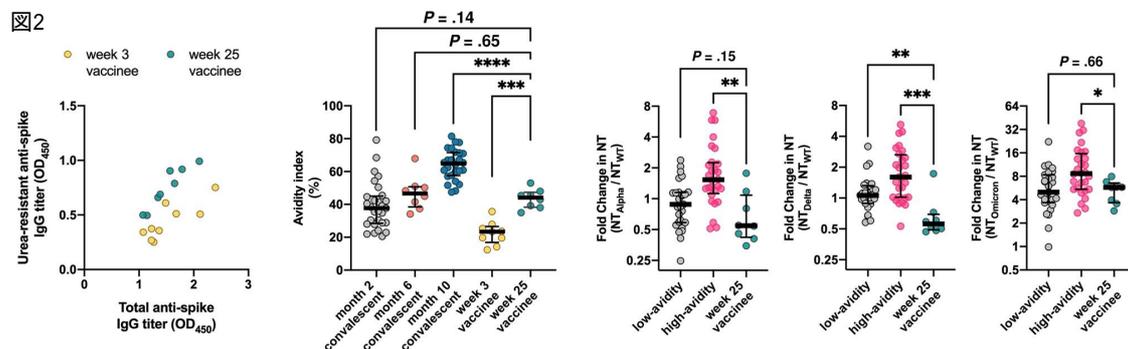
進した。各コホートにオンライン・レジストリを準備し、試験データを収集、保存、解析した。

自然感染者とワクチン被接種者で「単位獲得 IgG 力価あたり中和能」が異なり (図 1)

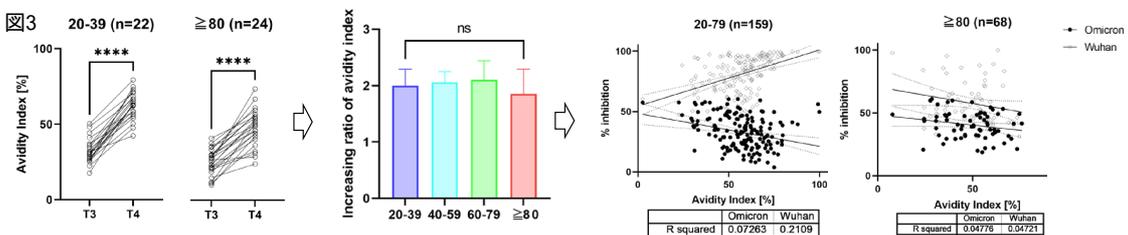


さらに短鎖ペプチドを用いた SARS-CoV-2 プロテインアレイ解析、合成 SARS-CoV-2 タンパク質を用いた pre-absorption とウイルス中和試験からは、抗体の中和能、変異株への交差中和活性の予測には、SARS-CoV-2 抗体標的エピトープ・パターンが重要であることを明らかにした (doi: 10.1016/j.vaccine.2023.08.076, doi: 10.1016/j.virol.2024.110067.) (前頁、図 1)

同じ感染回復者より得た血清試料を用いて、抗体アビディティ成熟とウイルス中和能の関連性を解析した。獲得抗体レパトワに加えて、抗体結合親和性 (アビディティ) が中和能の強力な規定因子であることを示すことに成功した。さらに、抗体結合親和性 (アビディティ) は中和能の「広域化」に特に重要であることが明らかとなり、ワクチン被接種者と、回復者における抗体の交差中和性の違いが、それらのアビディティ成熟のカイネティクスの違いにより説明されることを立証した (doi:10.1093/infdis/jiac492) (図 2)。SARS-CoV-2 感染からの回復者が持つ高親和性抗体が、変異株に対しても広域な交差中和活性を発揮する、という in vitro のエビデンスは、リアルワールドにおいて回復者が再感染を起こす頻度よりも、ワクチン被接種者ブレイクスルー感染の頻度が圧倒的に多い傾向の分子背景を、巧みに説明する新規知見となった。



さらに、この 2 種類の獲得免疫におけるアビディティ成熟のカイネティクスの違いは、ハイブリッド免疫の優れた (交差) 中和活性を説明する重要要因であることを報告した (doi: 10.3389/fimmu.2023.1087473)。ワクチン戦略のカバー対象が、一般人口から、より脆弱なりスク集団へと遷移する中、肺がん (doi: 10.1080/21645515.2022.2140549)、及び血液腫瘍患者 (doi: 10.1016/j.jiac.2022.09.018) における、ワクチン接種後の免疫構築異常を明らかにした。また、80 歳以上の超高齢者リスク集団では、若年集団と同様にアビディティ成熟が起こるものの、若年者と異なりアビディティ成熟と中和能の相関性が必ずしも高くないことが分かり (図 3)、超高齢者にユニークな免疫成熟の分子背景の解明を、現在も進めている。



国内先天性免疫不全症のコホート (東京医科歯科大学、広島大学) と連携し実施した、ワクチン接種後免疫構築、抗体医薬の有効性研究の成果は、現在、学術論文にしたため投稿準備中である。アビディティ成熟化と共同して抗体力価を規定するその他の因子の探索の結果、国内 SARS-CoV-2 ワクチン被接種者コホートの解析から、接種間隔と SARS-CoV-2 特異抗体の力価動態の関連性が示され、「抗体フィードバック」現象の存在が示唆された (doi: 10.1038/s41598-024-57931-0.)。トリプトファン代謝変容が COVID-19 重症化因子であることを突き止めた我々は (doi: 10.1038/s41467-023-44266-z.) 引き続き生体内トリプトファン代謝とワクチン応答性の解析を継続している。

以上、抗体アビディティ成熟は一般に、ウイルスに対する中和活性、特に中和能広域化に重要であり、ワクチン接種においてはアビディティ成熟の遅延が懸念されるために追加ブースター接種の妥当性が支持されることが明らかとなった。さらに研究活動を発展的に展開したことで、ハイブリッド免疫の優位性、肺がん、血液腫瘍患者、超高齢者、先天性免疫不全症など脆弱集団の免疫構築について、アビディティ成熟の観点からも評価することが叶った。本研究成果により、ワクチン接種戦略に関するアクティブかつアダプティブな意思決定を支援するエビデンスが創出され、一連の研究成果は Joint International Tropical Medicine Meeting 2022 優秀演題賞、Roche Infectious Disease Award 2022、第 31 回 日本医学会総会 研究奨励賞、を受賞するなど、領域内外で高く評価された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakagama Y, Candray K, Kaku N, Komase Y, Rodriguez MVF, Dominguez R, Tsuchida T, Kunishima H, Nagai E, Adachi E, Ngoyi MD, Yamasue M, Komiya K, Hiramatsu K, Uemura N, Sugiura Y, Yasugi M, Yamagishi Y, Mikamo H, Shiraishi S, Izumo T, Nakagama S, Watanabe C, Nitahara Y, Tshibangu EK, Kakeya H, Kido Y	4. 巻 227
2. 論文標題 Antibody Avidity Maturation Following Recovery From Infection or the Booster Vaccination Grants Breadth of SARS-CoV-2 Neutralizing Capacity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 780 ~ 787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/infdis/jiac492	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakagama Sachie, Nakagama Yu, Komase Yuko, Kudo Masaharu, Imai Takumi, Tshibangu-Kabamba Evariste, Nitahara Yuko, Kaku Natsuko, Kido Yasutoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Age-adjusted impact of prior COVID-19 on SARS-CoV-2 mRNA vaccine response	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2023.1087473	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakashima Kei, Ishida Masayuki, Matsui Hiroki, Yoshida Chihiro, Nagai Tatsuya, Shiraga Minoru, Nakaoka Hiroshi, Otsuka Yoshihito, Nakagama Yu, Kaku Natsuko, Nitahara Yuko, Kido Yasutoshi, Hirota Yoshio	4. 巻 18
2. 論文標題 Immunogenicity and safety of COVID-19 vaccine in lung cancer patients receiving anticancer treatment: A prospective multicenter cohort study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Human Vaccines & Immunotherapeutics	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/21645515.2022.2140549	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakagama Yu, Chi Sung-Gi, Minami Yosuke, Watanabe Reiko, Yamagishi Michiteru, Atsuko Uno, Kido Yasutoshi	4. 巻 29
2. 論文標題 Patients with B-cell malignancies experience reduced antibody responses with class switching defect following BNT162b2 SARS-CoV-2 vaccination	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 112 ~ 114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2022.09.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasugi Mayo, Nakagama Yu, Kaku Natsuko, Nitahara Yuko, Hatanaka Noritoshi, Yamasaki Shinji, Kido Yasutoshi	4. 巻 41
2. 論文標題 Characteristics of epitope dominance pattern and cross-variant neutralisation in 16 SARS-CoV-2 mRNA vaccine sera	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Vaccine	6. 最初と最後の頁 6248 ~ 6254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vaccine.2023.08.076	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lee Joseph, Naoe Youichi, Bang Uiky, Nakagama Yu, Saito Akatsuki, Kido Yasutoshi, Hotta Akitsu	4. 巻 595
2. 論文標題 Neutralization sensitivity of SARS-CoV-2 Omicron variants FL.1 and GE.1 by therapeutic antibodies and XBB sera	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Virology	6. 最初と最後の頁 110067 ~ 110067
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virol.2024.110067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuura Tomoka, Fukushima Wakaba, Nakagama Yu, Kido Yasutoshi, Kase Tetsuo, Kondo Kyoko, Kaku Natsuko, Matsumoto Kazuhiro, Suita Asae, Mukai Emiko, Nitahara Yuko, Konishi Ayako, Kasamatsu Ayane, Nakagama Sachie, Nakagami-Yamaguchi Etsuko, Ohfuji Satoko, Kaneko Yukihiko, Kaneko Akira, Kakeya Hiroshi, Hirota Yoshio	4. 巻 14
2. 論文標題 Factors impacting antibody kinetics, including fever and vaccination intervals, in SARS-CoV-2-naive adults receiving the first four mRNA COVID-19 vaccine doses	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-024-57931-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maeda Rae, Seki Natsumi, Uwamino Yoshifumi, Wakui Masatoshi, Nakagama Yu, Kido Yasutoshi, Sasai Miwa, Taira Shu, Toriu Naoya, Yamamoto Masahiro, Matsuura Yoshiharu, Uchiyama Jun, Yamaguchi Genki, Hirakawa Makoto, Kim Yun-Gi, Mishima Masayo, Yanagita Motoko, Suematsu Makoto, Sugiura Yuki	4. 巻 14
2. 論文標題 Amino acid catabolite markers for early prognostication of pneumonia in patients with COVID-19	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 8469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-023-44266-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yu Nakagama, Katherine Candray, Natsuko Kaku, Evariste Tshibangu-Kabamba, Sachie Nakagama, Yuko Nitahara, Yasutoshi Kido
2. 発表標題 The impact of the Covid-19 pandemic on healthcare systems; multi-country comparison of SARS-CoV-2 seroprevalence among healthcare workers in Japan, El Salvador, and the Democratic Republic Of Congo
3. 学会等名 第63回 日本熱帯医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yu Nakagama, Katherine Candray, Natsuko Kaku, Yuko Nitahara, Evariste Tshibangu-Kabamba, Yasutoshi Kido
2. 発表標題 抗体アビディティ成熟の観点からみた、SARS-CoV-2ワクチン誘導免疫と自然感染による免疫の差異
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yu Nakagama, Katherine Candray, Natsuko Kaku, Sachie Nakagama, Chihiro Watanabe, Yuko Nitahara, Evariste Tshibangu-Kabamba, Yasutoshi Kido
2. 発表標題 ANTIBODY AVIDITY MATURATION FAVORS SARS-COV-2 CONVALESCENTS OVER VACCINATED INDIVIDUALS GRANTING BREADTH IN NEUTRALIZABILITY AND TOLERANCE AGAINST VARIANTS
3. 学会等名 JOINT INTERNATIONAL TROPICAL MEDICINE MEETING 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中釜 悠, Candray Katherine, 中釜 幸恵, 加来 奈津子, 仁田原 裕子, Tshibangu Evariste, 城戸 康年
2. 発表標題 SARS-CoV-2に対する血清抗体成熟化の臨床的意義
3. 学会等名 第126回 日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中釜 悠
2. 発表標題 新興・再興感染症の危機に即応し、医療適正化に資する血清疫学研究
3. 学会等名 第31回 日本医学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中釜 悠, Candray Katherine, 中釜 幸恵, 加来 奈津子, 仁田原 裕子, Tshibangu Evariste, 城戸 康年
2. 発表標題 SARS-CoV-2に対する血清抗体アピディティ成熟の臨床的意義
3. 学会等名 第1回 新型コロナウイルス研究集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
エルサルバドル	Hospital National Rosales	National Institute of Health		
コンゴ民主共和国	国立医生物学研究所			
米国	サウスカロライナ大学			