

COVID-19mRNA ワクチンに対するヒト IgG および IgA の反応

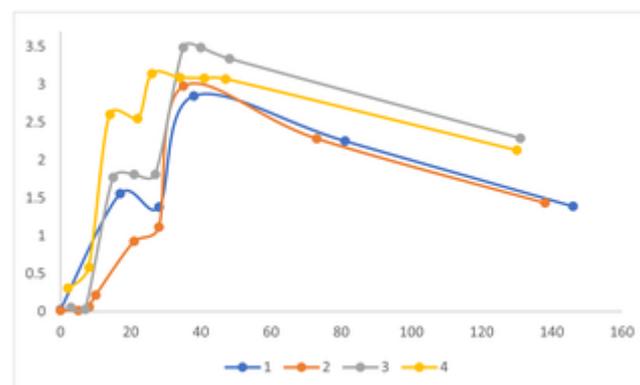
抄録

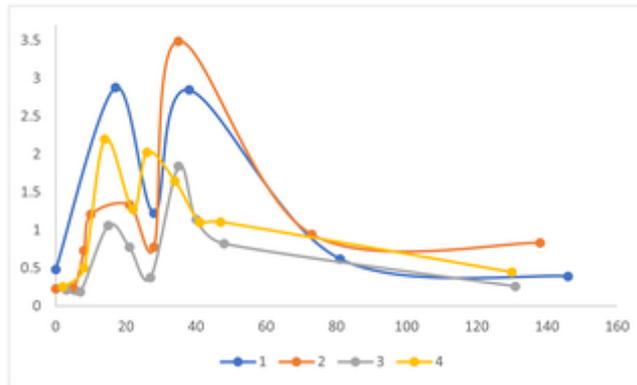
感染によって誘発された SARS-CoV-2 のスパイク抗原特異的 IgG および IgA は、ウイルスの中和を媒介し、自然免疫の重要な構成要素である可能性が高いが、ワクチンによる応答に関する情報は限られている。COVID-19 mRNA ワクチンによって誘導された血清中の IgG および IgA を、4 名の被験者でワクチン接種後 145 日まで経時的に測定した。スパイク抗原特異的 IgG 値は指数関数的に上昇し、最初のワクチン接種から 21 日後にプラトーに達した。2 回目のワクチン接種後、IgG レベルはさらに上昇し、約 7-10 日後に最高値に達し、100 日を超える追加の追跡期間中も高値(平均 58%のピークレベル)を維持した。COVID-19 mRNA のワクチン接種により、スパイク抗原特異的 IgA が誘発され、誘導速度とピーク濃度到達時間は同程度であったが、1 回目と 2 回目のワクチン接種後の血清中濃度はより急速に低下した(2 回目の接種から 100 日以内のピーク濃度は 18%未満)。このデータから、COVID-19mRNA ワクチンがスパイク抗原特異的 IgG および IgA を効果的に誘導することが実証され、血清中での持続期間に著しい差があることが浮き彫りにされた。



Subject #	Sex	Age	Vaccine
1	F	59	Moderna
2	M	54	Moderna
3	M	23	Moderna
4	M	24	Pfizer-BioNTech

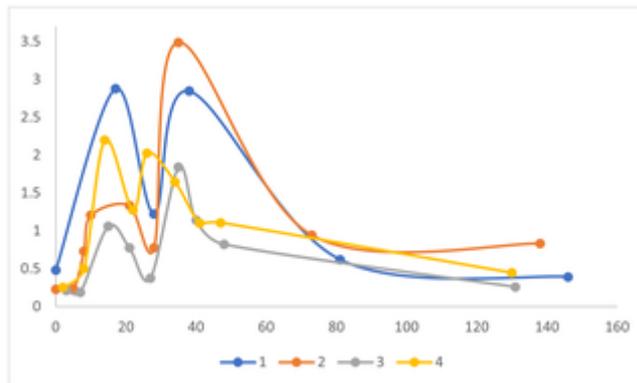
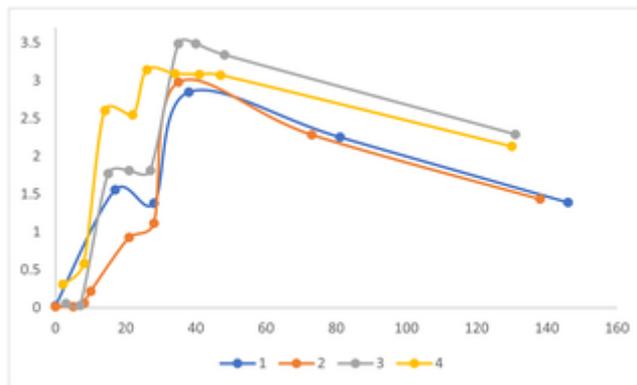
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249499.t001>





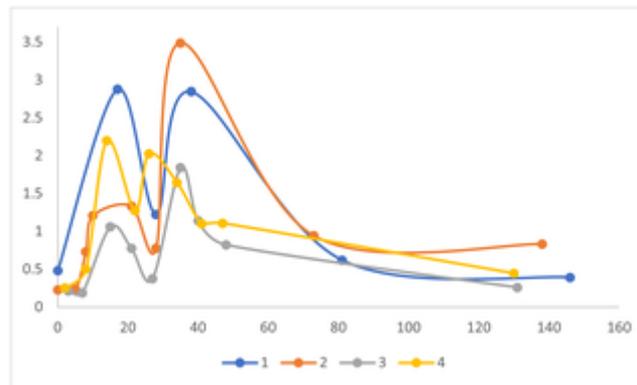
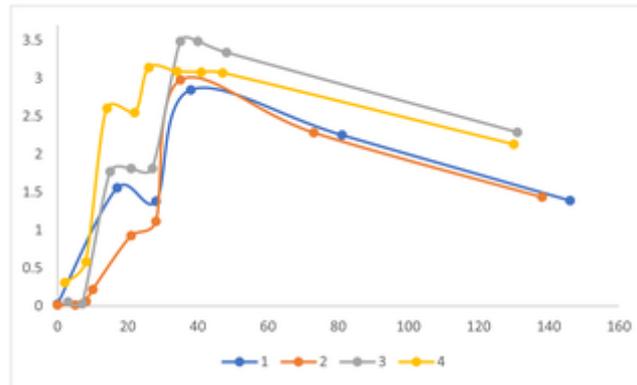
Subject #	Sex	Age	Vaccine
1	F	59	Moderna
2	M	54	Moderna
3	M	23	Moderna
4	M	24	Pfizer-BioNTech

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249499.t001>



Subject #	Sex	Age	Vaccine
1	F	59	Moderna
2	M	54	Moderna
3	M	23	Moderna
4	M	24	Pfizer-BioNTech

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249499.t001>



引用:Wisnewski AV,Campillo Luna J,Redlich CA(2021)COVID-19mRNA ワクチンに対するヒト IgG および IgA の反応 PLoS ONE 16(6):e0249499.<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249499>

編集者:Emory University School of Medicine(米国)の Aftab A.アンサリ

受理:2021年3月23日受理:2021年5月30日;発行:2021年6月16日

Copyright:©2021 Wisnewski et al.これはオープンアクセスの論文であり、Creative Commons Attribution License の条件の下で配布されている。Creative Commons Attribution License は、原著者と出所が明記されていれば、いかなる媒体においても無制限の使用、配布、複製を許可している。

データの利用可能性(Data Availability):すべての関連データは、原稿とその参考情報ファイルに含まれている。

資金提供:National Institute for Occupational Safety and Health(5T030H008607-15)から Dr.Carrie A Redlich へ。

競合する利益:著者らは、競合する利益は存在しないと宣言している。

Introduction

液性免疫は、ウイルス感染に対する適応免疫の重要な構成要素である[1]。COVID-19 患者に由来する α および γ 免疫グロブリン(Ig)は、いずれもウイルスの中和を媒介し、感染の様々な段階や特定の解剖学的部位で免疫において異なる役割を果たす可能性がある[2-5]。IgA はヒトで最も豊富に産生される Ig(66 gm/kg/日)であり、粘膜部位で最も豊富なアイソタイプであり、IgG は血液およびほとんどの組織で主要なアイソタイプである[6,7]。

感染因子に曝された粘膜表面における IgA の解剖学的分布は、感染伝播に介入するためのユニークな位置にある。インフルエンザおよび SARS-CoV-2 に対して、IgA は IgG より優れた抗ウイルス特性を有することが複数の研究で明らかにされている[8-11]。Sterlin ら al[11]は最近、複数の知見に基づき、IgA が SARS-CoV-2 に対する早期中和反応を支配していると示唆した;血清 IgA は、ウイルス中和、粘膜ホーミング受容体を有する循環血中の IgA+形質芽球の時間的変化、および気道液や唾液中の中和 IgA の存在において、血清 IgG より 7 倍強力である。

ヒト IgG および IgA に対する SARS-CoV-2 の主要な抗原標的はスパイクタンパク質であり、これは FDA の EUA 下で現在使用されているワクチンの mRNA によってコードされている[12-15]。ワクチンの臨床試験中に観察された mRNA ワクチンによる IgG 反応の経時変化が最近公表された[1314]。しかしながら、mRNA ワクチンが誘導する IgA 反応に関する情報は限られている[16]。本研究では、COVID-19 の既往がなく、医療従事者という職業のために臨床試験外で最初のワクチン接種者となった健常者を対象として、SARS-CoV-2 スパイク抗原特異的血清 IgA および IgG を縦断的に測定する。mRNA ワクチン初回投与後 80 日までのデータが提示されている。

材料および方法

ヒト:本研究は Yale University Institutional Review Board の承認を受けた。全ての被験者から参加について文書による同意が得られた。医療従事者を対象とした進行中の血清学的研究のボランティアが募集され、SARS-CoV-2 mRNA の接種後に SARS-CoV-2 のスパイク抗原特異的抗体価が経時的に測定された。被験者には、採血管を用いた静脈穿刺により血液 3 cc が提供され、血清が分離され、酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)による検査が行われるまで、-80°Cで凍結保存された。試験は Yale University Human Investigation Committee により審査され、Yale University Institutional Review Board(プロトコル番号 2000027749)により倫理面の承認が得られた。

ELISA 法:ELISA は前述の方法に若干の変更を加えて実施した[1718]。つまり、Triton X-100 及び RNアーゼ A をそれぞれ最終濃度 0.5%及び 0.5mg/ml となるように血清試料に添加し、使用前に 30 分間室温でインキュベートすることにより、血清中に存在する可能性のあるウイルスによるリスクを低減した。96 ウェルの MaxiSOrp プレート(ThermoFisher 社、Waltham,MA)を pH 9.6 の NaCO₃ 緩衝液中で 1μg/mL の濃度で組換え SARS Cov-2 S1 またはヌクレオカプシドタンパク質(Abcam 社、Cambridge,MA)50μL/ウェルでコーティングし、4°Cで一晩培養した。コーティング緩衝液を除去し、プレートを 200μL のブロッキング溶液(3%粉乳を含む PBS)とともに室温で 1 時間インキュベートした。血清を希釈溶液(0.05%Tween20 を添加した PBS,1%粉乳)で 1:100 に希釈し、希釈した血清 100μl を室温で 1 時間加えた。プレートを PBS-T(0.1%Tween-20 添加 PBS)で 3 回洗浄した後、HRP 抗ヒト IgG 抗体(Parmingen/BD Biosciences,San Jose,CA)または HRP 抗ヒト IgA(BioLegend,San Diego,CA)50μL を 1:2000 倍に希釈して加えた。室温で 1 時間培養した後、プレートを PBS-T で 3 回洗浄した。プレートは 100μL の TMB Substrate Reagent Set(BD Biosciences,San Jose,CA)を用いて展開した後、内部プールした陽性対照血清試料が波長 650 nm における OD が 1.0 に達した時点で 2 N 硫酸を加えて反応を停止させた。次にプレートを 450 nm の波長で読み取り、基準波長(650 nm)を校正した。

統計解析:統計解析には GraphPad Prism(v8)を用いた。SARS-CoV-2 のスパイク抗原特異的 IgG および IgA の減少率(指数減衰曲線でフィッティングした傾き)とピークレベルに達するまでの時間の差を Mann-Whitney の U 検定で評価した。

結果と考察

2020 年 12 月から 2021 年 2 月までの間に COVID-19 mRNA ワクチンの接種を受けた 4 人の医療従事者を対象として、SARS-CoV-2 のスパイク抗原検査(S1 サブユニット)に特異的な IgG および IgA の血清中濃度が ELISA により経時的に測定された(表 1)。被験者には COVID-19 の既往歴はなく、ベースライン時の SARS-CoV-2 のヌcleoカプシド抗原およびスパイク抗原の検査結果は陰性であった。ELISA OD の平均値に関する追加情報は参考情報 S1 の表に記載されている。

Subject #	Sex	Age	Vaccine
1	F	59	Moderna
2	M	54	Moderna
3	M	23	Moderna
4	M	24	Pfizer-BioNTech

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249499.t001>

ダウンロード:



PPTPowerPoint スライド



PNGLarger の画像

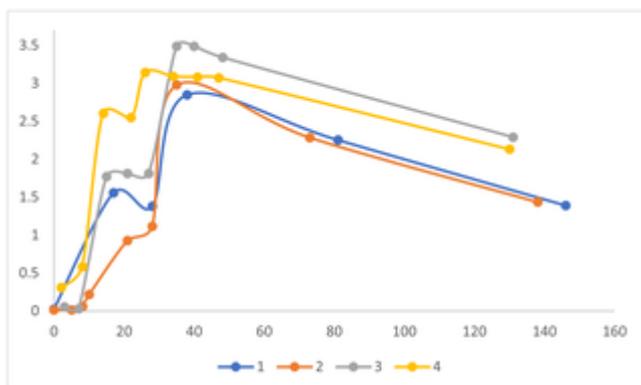


TIFForiginal の画像

表 1.COVID-19 mRNA ワクチンを投与された被験者

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249499.t001>

図 1 に示すように、ワクチンによって誘導された SARS-CoV-2 のスパイク特異的 IgG の血清中濃度は指数関数的に上昇し、mRNA ワクチンの 1 回目の接種から約 18-21 日後にプラトーに達した。2 回目のワクチン接種後、SARS-CoV-2 のスパイク特異的血清 IgG はさらに増加し、約 7 日後にピークに達し、100 日を超える追加のフォローアップ期間中も高値(ピーク値の 58%)を維持した。



ダウンロード:

-

PPTPowerPoint スライド

-

PNGlarger の画像

-

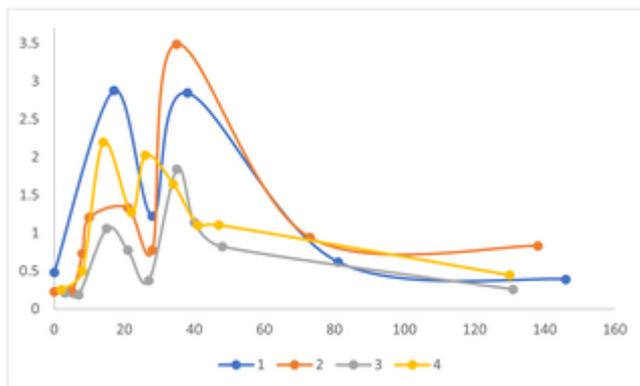
TIFForiginal の画像

図 1.COVID-19 mRNA ワクチンに対するスパイク抗原特異性 IgG 反応の経時変化

表 1 に記載された 4 名の被験者の血清について、ワクチン接種後の異なる時点(X 軸、日数)で ELISA が実施された。血清 IgG 値は ELISA の光学密度値に比例する(Y 軸)。各記号は、1 つの測定時点における 1 人の被験者の平均 ELISA データを表す。散布図は移動平均傾向線に適合させた。注:2 回目のワクチン接種は被験者 1-3 では 28 日目、被験者 4 では 21 日目であった。

<https://doi.org/10.1371/journal.ポーン.0249499.g001>

COVID-19 mRNA ワクチンも、同様の誘導速度と 1 回目および 2 回目のワクチン接種後の最大濃度到達時間でスパイク抗原特異的 IgA を誘導した(図 2)。しかし、スパイク抗原特異的 IgA のレベルは IgG のレベルよりも早く有意に減少した($p < 0.002$)。スパイク特異的 IgA は、1 回目と 2 回目のワクチン接種の間にピークレベルの平均 50%まで減少し、2 回目のワクチン接種後 100 日を超えるフォローアップ期間内にピークレベルの 18%まで低下した。



ダウンロード:

-

PPTPowerPoint スライド

-

PNGlarger の画像

-

TIFForiginal の画像

図 2.COVID-19 mRNA ワクチンに対するスパイク抗原特異性 IgA 反応の経時変化

表 1 に記載された 4 名の被験者の血清について、ワクチン接種後の異なる時点(X 軸、日数)で ELISA が実施された。血清 IgA 値は ELISA の吸光度値に比例する(Y 軸)。各記号は、1 つの測定時点における 1 人の被験者の平均 ELISA データを表す。散布図は移動平均傾向線に適合させた。注:2 回目のワクチン接種は被験者 1-3 では 28 日目、被験者 4 では 21 日目であった。

<https://doi.org/10.1371/journal.ポーン.0249499.g002>

新規の COVID-19 mRNA ワクチンに反応した抗原特異性 IgG および IgA の誘導および減衰は、免疫グロブリンアイソタイプの違いによる既知の血清中半減期(γ グロブリンで 21-28 日、 α グロブリンで 5-6 日)と一致する[19-21]。血清 IgA 濃度の急速な低下は、スペインのある病院の医療従事者を 3 カ月間追跡した結果、自然感染によるものと一致する[22]。最近の研究では、SARS-CoV-2 のスパイク特異的な血清中 IgA 濃度は感染後に急速に低下するが、粘膜表面の局所濃度はより長く持続し、強力な中和能をもつ 2 量体アイソフォームが存在することが示されており、これは IgA 単量体の 15 倍以上である[1011]。

この研究では、粘膜 IgA とクローン関連があることが示されている血清 IgA に焦点が当てられたが、ワクチンにより誘導された抗原特異的粘膜 IgA 濃度は測定されなかった。血清 IgA は、トランスダクションを介して、または再循環する IgA 分泌形質芽細胞を介して粘膜表面に到達することがあり、粘膜ホーミングプロファイルを

有する[23-25]。しかし、「局所」B細胞も粘膜微小環境でアイソタイプのクラススイッチを行い、特有の動態でIgAを分泌する可能性がある[26]。今回のデータは、COVID-19 mRNA ワクチンによる粘膜部位でのIgA産生および分布に関する現在の知識のギャップを浮き彫りにしている。

本試験の主な欠点は、解析対象の被験者数が限られていることである。データが一般集団を反映しているのか、遺伝的要因や環境による差が存在するのかを判断するためには、より大規模なワクチン接種者集団を対象としたより長期にわたる追加試験を実施する必要がある。今回の研究被験者はSARS-CoV-2の接種歴がない被験者であったため、過去のCOVID-19の被験者におけるワクチン反応の差を理解することが重要となる。

結論

要約すると、COVID-19 mRNA ワクチン接種者の長期的な血清学的検査では、免疫およびワクチン反応のモニタリングに関連する重要な問題が浮き彫りにされている。ワクチン接種後のスパイク抗原特異性IgGの持続は、効果的な長期免疫およびワクチン反応性のクリニカルインディケーターのよい指標となることが期待される[27]。COVID-19 mRNA ワクチンは、IgGに加えて抗原特異的IgAも産生することがデータから示されており、これは感染だけでなく伝播の予防にも重要と考えられる[28,29]。スパイク特異的血清IgA値は、スパイク特異的IgGよりも有意に速く減衰する($p < 0.002$)が、IgGおよびIgAに対する「再現」反応(2回目/追加接種後の血清中ピーク濃度までの時間)は、ともに一次反応よりも有意に短い($p < 0.03$)。