

## 博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 金井 大輔

横浜市立大学大学院医学研究科 医科学専攻 病態制御内科学

### 審査員

主査 横浜市立大学大学院医学研究科 呼吸器病学 主任教授 金子 猛

副査 横浜市立大学大学院医学研究科 循環制御医学 主任教授 石川 義弘

副査 横浜市立大学附属病院 集中治療部 准教授 高木 俊介

## 博士の学位論文審査結果の要旨

### SARS-CoV-2 spike protein antibody titers after SARS-CoV-2 mRNA vaccination among patients undergoing hemodialysis in Japan

#### 日本人の血液透析患者における SARS-CoV-2 mRNA ワクチン接種後の抗 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質抗体価に関する検討

##### 1. 申請者より、学位研究の要旨が以下のように説明された。

2021年2月以降、日本国内では SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) mRNA ワクチンとしてファイザー社の BNT162B2 (コミナティ®) の接種が開始された。透析患者は COVID-19 で重症化しやすく、死亡率は 20-30% と高いため、SARS-CoV-2 mRNA ワクチンの優先接種の対象とされた。しかし、mRNA ワクチンの治験では腎不全患者は治験対象外であり、透析患者における同ワクチンの効果は不明であった。日本より先行して mRNA ワクチンの接種が開始された海外からの報告によると、血液透析患者は一般集団に比べてワクチン接種後の中和抗体価が有意に低い。そこで、我々は日本人の血液透析患者 (HD 群) と医療従事者 (HCW 群) を対象に、2 回目の BNT162b2 接種後 6 か月間の抗 SARS-CoV-2 スパイクタンパク質 IgG 抗体 (抗 S 蛋白抗体) 価の継時的推移と同抗体価の減衰速度を比較し、また HD 群において抗体価と関連する因子について検討する目的で、透析医療機関 5 施設で多施設共同後ろ向き研究を実施した。患者カルテや健康管理記録情報から研究対象者背景情報、BNT162b2 接種日、抗 S 蛋白抗体価、血液検査データ (HD 群のみ) を収集した。本研

究はヘルシンキ宣言に即して施行され、公立大学法人横浜市立大学臨床研究審査委員会で承認を受けた（承認番号：F220200037）。

ワクチン 2 回目接種 1 ヶ月後の抗 S 蛋白抗体価（平均（95%信頼区間），AU/mL）は HD 群で 2617.1（1296.7, 5240.8），HCW 群で 7285.4（4403.9, 11000.0）であり，6 ヶ月後は HD 群で 353.4（178.4, 656.3），HCW 群で 812.0（498.3, 1342.7）であった。多変量解析（年齢・性別・BMI で調整）では，1 ヶ月・6 ヶ月後共に HD 群の抗体価が有意に低値であった。抗 S 蛋白抗体価の減衰速度は，HD 群と HCW 群で有意差を認めなかった。HD 群において 1 ヶ月後の抗 S 蛋白抗体価と関連する因子として，年齢は負の相関を示し，血清アルブミン濃度・ヘモグロビン濃度・ビタミン D 製剤の使用は正の相関を示した。また HD 群において 6 ヶ月後の抗 S 蛋白抗体価と関連する因子として，1 ヶ月時点の抗 S 蛋白抗体価が正の相関を示した。海外からの報告では，2 回目 mRNA ワクチン接種後の抗 S 蛋白抗体価のピーク値に関して，HD 患者は健常者の 1/9 から 1/3 の力価に留まるとされ，本研究の結果は矛盾しない。HD 患者でワクチンに対する免疫応答が低い理由として，①腎機能低下による因子（尿毒症，酸化ストレス，Vit.D 不足，EPO 不足），②治療関連因子（ダイアライザー等の生体適合性，ステロイド・免疫抑制剤），③炎症性老化が複合的に関連すると考えられている。特に HD 患者では免疫老化が実年齢よりも 20～30 年早く進行しナイーブ T 細胞数が少ないとされ，ワクチン抗原に対して免疫応答が脆弱になると考えられる。海外の HD 患者においてワクチン接種後の抗 S 蛋白抗体価のピーク値と関連する因子として，年齢と免疫抑制剤・抗がん剤の使用は負の関連があり，血清アルブミン濃度，リンパ球数，Kt/V，ビタミン D 投与は正の関連があるとされ，本研究の結果と類似であった。6 か月後の抗体価は 1 か月後の抗体価と正相関することを踏まえると，日本人の HD 患者においては，BNT162b2 の接種時に，栄養状態や貧血を改善させビタミン D 製剤を十分に補充することが，抗

S 蛋白抗体価のピーク値の上昇及び長期的な抗体価の維持に有用と考える。ピーク抗体価の上昇には 3 回目のワクチン接種が有効な可能性がある。フランスの HD 患者において、3 回目の mRNA ワクチン接種後の抗 S 蛋白抗体価が 2 回目接種後と比べて 13 倍上昇したとされる。

そこで我々は、日本人の HD 群と HCW 群において 3 回目の BNT162b2 接種後の抗 S 蛋白抗体価の推移を後ろ向きに検討した。3 回目接種 1 か月後の抗 S 蛋白抗体価（平均（95%信頼区間）, Log AU/mL）は HD 群で 9.94 (9.82, 10.10), HCW 群で 9.81 (9.66, 9.96)であり、年齢・性別・BMI で調整後も有意差を認めなかった（群間差 0.27 [-0.04, 0.58]）。また、2 回目接種 1 ヶ月後の抗体価に対する 3 回目接種 1 ヶ月後の抗体価の上昇比に関して、2 回目接種 1 か月後の抗体価が 7021 AU/ml 以上の群（高反応群）、50 以上 7021 AU/ml 未満の群（低反応群）、50 AU/ml 未満の群（無反応群）に分けて比較したところ、両群共に 2 回目接種後の反応性が高い群ほど 3 回目接種後の抗体価の上昇比が有意に低値であった。3 回目の BNT162b2 接種によって、HD 群の抗体価は HCW 群と同等レベルに到達するという意外な結果であった。4 回目の BNT162b2 接種後の抗 S 蛋白抗体価に関して、米国の健常者を対象とした報告によると 4 回目接種 1 か月後の抗体価は 20,000–25,000 AU/ml であったとされ、本研究の 3 回目接種 1 ヶ月後の抗体価（HD 群 中央値 24,500 [IQR 11,000–40,000] AU/ml, HCW 群 20,000 [IQR 12,750–32,250] AU/ml）と同程度であった。以上を踏まえると、2 回目接種後に高反応群の人は、3 回目接種で液性免疫の天井に接近し、4 回目接種以降の抗体価上昇反応が鈍化する可能性がある。

そこで我々は、日本人の HD 群と HCW 群において 4 回目の BNT162b2 ワクチン接種後の抗 S 蛋白抗体価の推移を後ろ向きに検討した。4 回目接種後の抗体価上昇比（4 回目接種 1 ヶ月後の抗体価 [Log AU/ml] / 3 回目接種 1 ヶ月後の抗体価 [Log AU/ml]

比)は3回目接種後の抗体価上昇比と比べて、両群共に有意に低値であった(HD群 1.04 vs. 1.29,  $P < 0.001$ ; HCW群 1.00 vs. 1.12,  $P < 0.001$ )。また、抗体価の減衰速度に関しては、両群共に3回目接種後の方が2回目接種後に比べて有意に低値であった。SARS-CoV-2の起源株に対する発症予防効果を呈する抗S蛋白抗体価は7021 AU/ml (8.8 Log AU/ml)以上とされ、重症化予防効果にはその1/6倍程度の抗体価(7.0 Log AU/ml)で得られるとされる。起源株に対する重症化予防効果を狙った場合、4回目以降の接種の間隔は6ヵ月間より延長可能と考えられる。一方で、発症予防効果は3回目の接種で初めて得られ、その持続期間は5ヵ月程度と推察する。ワクチンの接種回数を重ねる毎に減衰速度が緩徐となれば、次回接種までの間隔を更に延長できると考える。現在、変異株によるブレイクスルー感染症例が急増し社会問題とされている。従来株型 mRNA ワクチンで誘導された中和抗体のオミクロン株に対する中和能は、従来株と比較してBA.1で1/3倍、BA.4/5で1/11倍に低下するとされる。本研究の結果を踏まえると、BNT162b2を繰り返し接種しても、オミクロン株に対する発症予防効果を得られる程に抗S蛋白抗体価を上昇させることは現実的に困難である。変異株流行下では、その変異株に対応したワクチンの接種が望ましいと考える。

## 2. 質疑応答

高木副査のコメント及び質疑応答

質問

- (1) ワクチン接種後の感染率について、データは収集されているか？つまり、ワクチン接種に感染予防効果があるか否か検討されたか？
- (2) 今回はワクチンとして BNT162b2 のみが検討されているが、ワクチンの種類が変わると抗体価の推移は異なるのか？また途中で感染すると抗体価はどう変わるの

か？

(3) この研究への発表者の貢献について教えてください。

回答

(1) 主論文内で解析対象となった HD 群 412 名, HCW 群 156 名の内, その後の約 1 年間で COVID-19 を発症した人数は各 69 名, 36 名であった。論文報告はしていないが, HCW 群の方が HD 群よりも有意に高い発症率であった。HCW 群では就学年齢の子供や就労している配偶者と共に家庭内で密に接する機会が多く, HCW 群の発症者の多くは家族内感染と疑われる事例であった。一方, HD 群では高齢者が多く COVID-19 罹患時に重症化しやすいため徹底的に予防に努めるように教育されていた。また自宅と透析クリニック以外には外出機会が少ない印象であった。このような生活・行動様式の違いが COVID-19 発症率の差に関連したのではないかと考える。ワクチンの感染予防効果については, COVID-19 の発症時期と人数を細かく把握できれば推測可能であるが, 本研究では COVID-19 発症の有無についてのみデータを収集しており, 発症時期については不明のため抗 S 蛋白抗体価と COVID-19 の発症率の関係を検討することはできなかった。

(2) 本研究ではファイザー社の BNT162b2 接種者のみが解析対象となった。同じ mRNA ワクチンであるモデルナワクチン(mRNA1273)においては, 1, 2 回目接種後の抗 S 蛋白抗体価が BNT162b2 より高値になると報告されている。国内ではワクチン接種開始当初, 医療従事者と透析患者は優先接種対象者とされ, ファイザー社の BNT162b2 のみが利用可能であった。よって本研究では BT162b2 接種者が研究対象となった。

感染者の抗体価の挙動に関して, 一般的にはワクチン接種から時間が経つにつれて

抗体価は低下するはずであるが、COVID-19の発症歴を有する患者では不自然な抗体価の上昇を認めた。既報によると、ワクチン未接種者であってもSARS-CoV-2感染後には抗S蛋白抗体価が上昇するとされる。

(3) 本研究に対する私の貢献に関しては、指導教員の指導の下で、研究計画立案・研究計画書作成・倫理委員会での承認取得・データ収集・解析・論文執筆を基本的に自身で行った。しかし高度な統計解析は共著者に実施してもらい、解析結果とその解釈について教えてもらいながら、論文執筆を行った。

#### 石川副査のコメント及び質疑応答

##### 質問

(1) 抗体価の低下速度がHD群とHCW群で同等レベルであったという結論だが、当院の職員を対象として実施されたワクチン接種後の抗体価を検討したデータでは年齢が高いほど抗体価の落ちる速度が速かったようである。故に高齢者の多いHD群の方が抗体価の低下速度は速くなりそうな印象がある。この違いはどうして生じると考えられるか？

(2) HD群でビタミンDを投与すると抗体価が上がりやすくなるその機序はどのように考えられるか？

(3) この研究を遂行するに当たって、何が一番大変であったか？

##### 回答

(1) 我々も研究開始時にはHD群ではHCW群よりも抗体価の減衰速度が速いと考えていたが、2回目接種後だけではなく、3回目接種後の減衰速度も両群で有意差を認めなかった。更に接種回数を重ねると減衰速度は緩徐になった。もしかしたら、抗体価

の減衰速度は、透析の有無や年齢とは独立した生理学的現象を反映しているのかもしれない。今回の結果を説明できる機序については、現時点では不明であり今後の更なる検討を要する。

(2) 活性型ビタミンDはエフェクターT細胞などの免疫細胞に作用し、Th1系サイトカインの産生を抑制するとされる。HD患者ではビタミンD活性が低下するため、Th1系サイトカインの産生が促進され、非特異的な慢性炎症が惹起されやすくなる。持続的な炎症に曝されると免疫細胞はTh2系サイトカインの産生を促進させることで「免疫麻痺」と呼ばれる現象を引き起こす。それにより、ワクチン接種に対する免疫応答が低下すると考えられる。それに対して、活性型ビタミンDを投与することで、Th1系サイトカインの産生が抑制され、結果的にTh2系サイトカインの産生や「免疫麻痺」への誘導を減らすことができ、ワクチン接種の免疫応答を相対的に上げられると考えている。

(3) 本研究を実施するに当たり最も苦労したことは、データの収集であった。研究対象者のカルテを参照し背景情報を集めるのに多大な時間と労力を要した。大規模な臨床研究を推進するためには、データベースの構築が必須であると実感した。

#### 金子主査のコメント及び質疑応答

(1) COVID-19を発症した症例と未発症の症例に分けて、抗体価や背景因子との相関を調べることで、発症予防のための方策に関する新規知見が得られる可能性がある。また、発症者の中で重症化例と非重症化例に分けて、同様の検討を行うことも臨床的には興味深い。これらを追加で検討してはどうか？

(2) 低反応群・無反応群は3回目の接種で抗体価が大きく上昇し、HD群の抗体価が



HCW 群に追いつく結果となった。このように抗体価が上がること自体が、実際の感染予防や重症化予防に有用であったかを検証されたら面白いと思う。

(3) 無反応群の抗体価をより早く上げるためにはどのような介入をしたらよいと考えるか？

(4) 年齢は抗体価と負に関連する因子であった。HD 群と HCW 群で平均年齢が 20 歳程度異なっているが、仮に HD 群が HCW 群と同程度の年齢であった場合に、HD 群の抗体価の推測値は実際の平均値と比べてどの程度高くなると考えられるか？

(5) 5 回目以降のワクチン接種の間隔について、今回の研究結果からどのように考察するか？

回答

(1) COVID-19 発症例と未発症例、重症例と非重症例に分けて抗体価やそれと関連する因子を検討することは臨床的に興味深いと考える。追加で収集すべきデータやウイルス株による調整の方法等について研究者間で検討し、追加の解析を行いたい。

(2) 3 回目接種によって HD 群の抗体価が HCW 群に追いついたことは意外な結果であった。このように抗体価が上昇することが、実際の発症抑制効果や重症化予防効果に繋がっているのか検討することは、臨床的に重要であると考え。 (1)のご指摘同様に、追加の解析を検討したい。

(3) 我々の検討では、HD 群の無反応群においてはビタミン D 投与・貧血の改善・栄養状態の改善がワクチン接種後のピーク抗体価と正相関を示した。よって、これらの因子に関して積極的に介入すべきと考える。また、海外からの報告では、ステロイドや免疫抑制剤の使用はピーク抗体価と負の関連を示すとされ、ワクチン接種前に可能な限りこれら薬剤の投与量を減らすことや、リツキシマブなどの生物学的製剤の投与前にワクチン接種を済ませておく等の配慮も重要と考える。

(4) HD 群で平均年齢より 20 歳若い場合の抗体価に関して、標準偏回帰係数を元に予測したところおよそ 2900 AU/ml となる。実際の HD 群の平均値より 200~300 AU/ml 高くなると推測できる。

(5) SARS-CoV-2 の起源株に対して発症予防効果を期待できる抗 S 蛋白抗体価は 7021 AU/ml とされ、重症化予防にはその 1/6 程度必要とされる。本研究の結果から推測すると、重症化予防効果は 4 回目ワクチン接種後から 1 年程度、発症予防効果は 5~6 ヶ月程度保たれると考えられる。よって、重症化予防効果を狙うならば、5 回目の接種は 4 回目から 1 年以内に、発症予防効果ならば半年以内に摂取するのが適切と考える。ただし、接種回数を重ねる毎に抗体価の減衰速度は緩徐になる可能性があり、その場合には接種間隔を更に延長できると考察する。

その他いくつかの質疑応答がなされたが、適切に回答、討議が行われた。

本学位論文は、日本人の血液透析患者と医療従事者を対象に BNT162b2 の 2 回目接種 1 ヶ月後から 4 回目接種 1 ヶ月後までの抗 S 蛋白抗体価の推移を比較・検討した初めて

の報告である。日本人の HD 群の抗 S 蛋白抗体価に関して、BNT162b2 の 2 回目接種後では HCW 群と比べて有意に低値であったが、3 回目接種後には大幅に上昇し HCW 群と有意差を認めなくなり、4 回目接種後には上昇率が有意に鈍化することを示した。また、各ワクチン接種後の抗 S 蛋白抗体価の減衰速度は HD 群と HCW 群で有意差を認めないものの、接種回数を重ねる毎に緩徐になる可能性を示した。これらは学術的価値の高い研究と判断された。以上より、申請者は医学博士の学位授与に値すると判断された。