

「COVID-19 mRNA ワクチンブースター接種による 変異ウイルス中和抗体産生機構の解明」

東京大学国際高等研究所新世代感染症センター 教授

井上 毅

要旨

COVID-19 mRNA ワクチン（ファイザー社およびモデルナ社）の 2 回接種後、3 回接種後ではいずれもオリジナルの武漢株に対する中和抗体が強く誘導されるが、2 回接種後に誘導される抗体はオミクロン変異株に対してほとんど中和活性をもたない。しかし 3 回接種後に誘導される抗体はオミクロン株にも強い中和活性を示すことが知られていたが、その原因は不明であった。我々は mRNA ワクチン接種者検体より、新型コロナウイルススパイク抗原特異的 B 細胞をシングルセル単離し、それらが産生する抗体を作製して性質を詳細に解析した結果、2 回目ワクチン接種前と比較して 3 回目ワクチン接種前の記憶 B 細胞が産生する抗体は、抗原に対する親和性が上昇しているだけでなく、抗原を認識する場所（エピトープ）が変化していることが分かった。さらに、エピトープ変化の原因が血中抗体のフィードバック制御によるものであることがマウスモデルを用いた実験により示唆された。これらの結果は、ワクチン接種者においても産生された抗体自体が液性免疫記憶の成立に寄与している可能性を示している。

背景・目的

ファイザー社及びモデルナ社の mRNA ワクチンは、オリジナルの SARS-CoV-2 ウイルス武漢株に対し高い発症予防効果を示した一方、2021 年末に出現したオミクロン変異株は多くの変異の蓄積によりワクチン 2 回接種によって誘導された抗体の中和効果を大きく減弱させ、感染急拡大を引き起こした。しかしながら、3 回目のワクチンブースター接種ではオミクロン株中和抗体がある程度効果的に産生されることが報告されており^{1,2}、このことは 2 回目と 3 回目のワクチン接種では同じ抗原を免疫されているにもかかわらず我々の液性免疫応答、産生抗体の質が明らかに異なっていたことを意味している（図 1）。

本研究では、この現象を免疫学的に説明するメカニズムを明らかにするため、ワクチン接種者コホートおよびマウスモデルを用い、ウイルス抗原特異的シングル B 細胞解析による、mRNA ワクチンに対する B 細胞応答基盤の解析を行った。

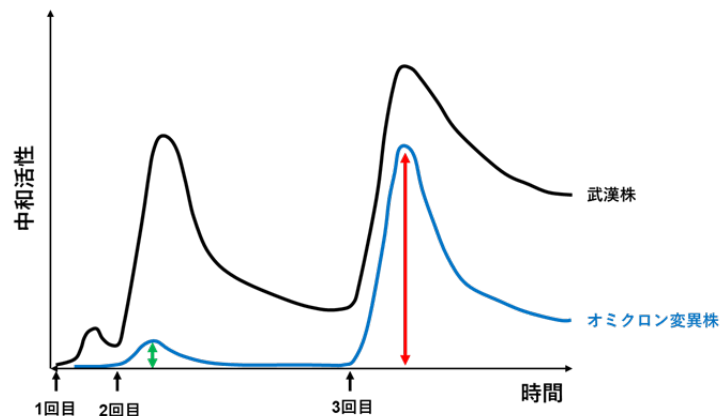


図 1. mRNA ワクチン接種による血中抗体のウイルス中和活性

方法

mRNA ワクチンを 3 回接種したコホートの血液サンプルより SARS-CoV-2 スパイクタンパク質特異的記憶 B 細胞をシングルセル単離し、B 細胞受容体 (BCR) レパトア解析および BCR 遺伝子クローニングによるモノクローナル抗体作成を行った。作成した約 500 のモノクローナル抗体について、抗原に対する親和性測定 (申請者らが開発した Bead-based flow cytometric binding assay¹による)、認識抗原エピトープの解析 (申請者らが開発した Glycan masking 変異プローブ^{1,3} (図 2A)による)、シュードウイルスを用いた中和活性の測定といった一連の抗体機能解析を行った。また、マウスモデル (C57BL/6 および CD138-DTR マウス⁴) を用いて B 細胞分化に対する血中抗体のフィードバック機構が及ぼす影響について解析した。

結果

ヒト血液検体と作成したモノクローナル抗体の解析より、2 回目接種前と 3 回目接種前の抗原特異的記憶 B 細胞の性質を比較した。その結果、3 回目接種前の記憶 B 細胞は武漢株抗原に対する親和性が向上し、オミクロン変異株に対する結合性も上昇していた。さらにエピトープの解析から、2 回目接種前まではスパイクタンパク質のドミナントエピトープ (GM14 SP および GM31 SP) を認識する記憶 B 細胞が主に誘導されていたが、3 回目接種前ではサブドミナントエピトープ (DP) を認識する記憶 B 細胞の割合が増加していた (図 2B)¹。このサブドミナントエピトープにはオミクロン株での変異の蓄積が比較的小さいため、これらの B 細胞が産生する抗体はオミクロン株に対しても中和活性を保持していたと考えられる。

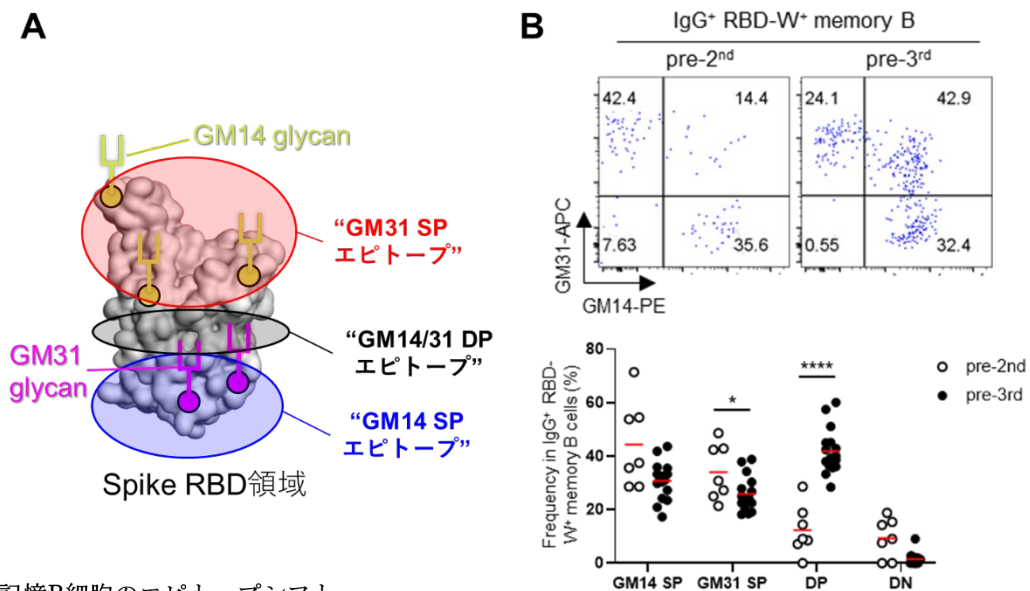


図2. 記憶B細胞のエピトープシフト

A) エピトープ解析のために開発したGlycan masking変異RBDプローブ。GM14はACE2受容体側の Receptor Binding Motif、GM31は反対側のCore domainに人工的に糖鎖を付加している。これらの変異プローブへの結合性を評価することで、B細胞/抗体のおおよそのエピトープを同定できる。

B) ヒト記憶B細胞のエピトープ解析。2回目接種前と比較し、3回目接種前ではDPエピトープを認識する記憶B細胞の割合が有意に増加している。

次にこのエピトープの変化をもたらした原因が血中抗体のフィードバック制御によるものと考え、仮説の検証のためマウスモデルを用いた介入実験を行った。マウスにスパイク抗原を免疫後、血清の移

入により抗原特異的血中抗体価を増加させる実験を行ったところ、オミクロン反応性 B 細胞の割合が増加することが分かった(図 3A)。一方、CD138-DTR マウスにジフテリア毒素を投与する実験系によって免疫応答中に抗体産生細胞を枯渇させ、血中抗体価を減少させる実験を行ったところ、反対にオミクロン反応性 B 細胞の割合も減少することが分かった(図 3B)。

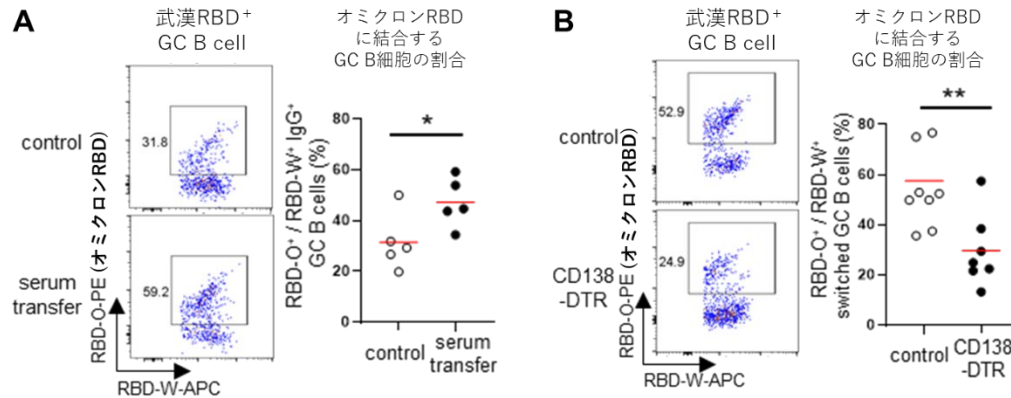


図3. マウスモデルを用いた抗体フィードバックによるB細胞分化制御

A) 野生型マウスに武漢RBD抗原を免疫後、血清を移入して抗原特異的血中抗体価を増加させたところ、オミクロンRBD結合性GC B細胞の割合が増加した。
 B) コントロールおよびCD138-DTRマウスに武漢RBD抗原を免疫後、ジフテリア毒素投与によって抗体産生細胞を枯渇させ、血中抗体価を減少させたところ、オミクロンRBD結合性GC B細胞の割合が減少した。

考察

新型コロナウイルススパイクタンパク質にはイムノドミナンスーのため B 細胞が応答しやすいエピートープと応答しにくいエピートープが存在する。しかし、mRNA ワクチンの特徴の一つである長期に持続する胚中心反応の過程で、ドミナントエピートープ特異的抗体のフィードバック機構が作用し、2 回目ワクチン接種から時間が経つとサブドミナントエピートープを認識する B 細胞応答が進み、記憶 B 細胞のエピートープシフトが起こったと考えられる(図 4)^{5,6}。これらの結果は、ワクチン接種や病原体感染時の液性免疫応答を理解するためには、ポリクローナルな血中抗体の評価だけでなく、個々の記憶 B 細胞の性質を明らかにすることが重要であることを示している。本研究成果はワクチンによって誘導される複雑な液性免疫記憶成立の仕組みの解明に貢献し、新たなワクチンデザインのための基盤になると期待される。

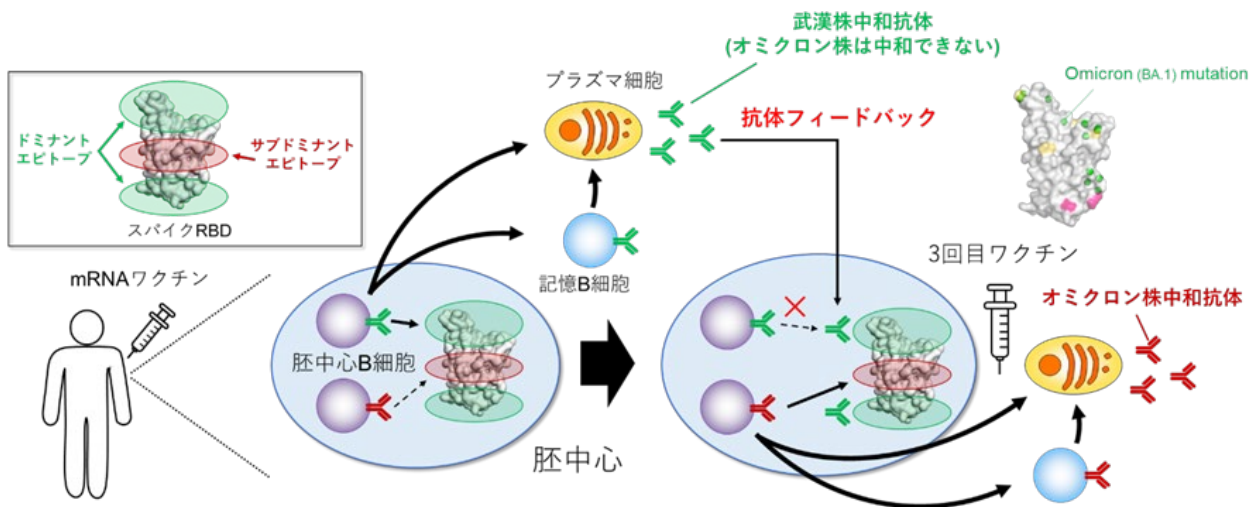


図4. 抗体フィードバックによるオミクロン株反応性記憶 B 細胞の産生機序のモデル

共同研究者

黒崎知博（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）

新中須亮（愛媛大学学術支援センター）

引用論文

1. Inoue T, Shinnakasu R, Kawai C, et al. Antibody feedback contributes to facilitating the development of Omicron-reactive memory B cells in SARS-CoV-2 mRNA vaccinees. *J Exp Med*. 2023. doi:10.1084/jem.20221786
2. Shen X. Boosting immunity to Omicron. *Nat Med*. 2022. doi:10.1038/s41591-022-01727-0
3. Shinnakasu R, Sakakibara S, Yamamoto H, et al. Glycan engineering of the SARS-CoV-2 receptor-binding domain elicits cross-neutralizing antibodies for SARS-related viruses. *J Exp Med*. 2021. doi:10.1084/jem.20211003
4. Vijay R, Guthmiller JJ, Sturtz AJ, et al. Infection-induced plasmablasts are a nutrient sink that impairs humoral immunity to malaria. *Nat Immunol*. 2020. doi:10.1038/s41590-020-0678-5

助成研究に関連した発表論文

5. Inoue T. Memory B cell differentiation from germinal centers. *Int Immunol*. 2023. doi:10.1093/intimm/dxad017
6. Inoue T and Kurosaki T. Memory B cells. *Nat Rev Immunol*. 2024. doi:10.1038/s41577-023-00897-3