

新型コロナウイルス感染症 *Up-to-date* 12

新型コロナウイルスの抗体検査

Antibody test for COVID-19

かわ むら たけし
川 村 猛
Takeshi KAWAMURA

はじめに

2019 年末に中国武漢で報告され、世界中に感染拡大した SARS-CoV-2 ウイルスによる新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は世界中に広がり、2021 年初頭で累計感染者数は世界で 1 億人を超えることは確実であり、日本国内でも 30 万人を超えている¹⁾。COVID-19 の症状としては発熱、咳、などの通常の風邪症状から、重篤化すると肺炎症状、サイトカインストームなどを引き起こす。特徴的な症状として味覚・嗅覚異常などが報告されている。日本国内での感染者は季節性インフルエンザ (年により変動が大きい) が年間国内感染者 1,000 万人前後) よりも少ないが、発症した際の死亡率は現時点では約 2% 弱と季節性インフルエンザ (0.1% 以下) の 10 倍以上高く、米国での死者数は既に年間のインフルエンザによる死者数の 10 倍を超えている。日本でも 1 月の初症例からこれまで (2021 年 1 月 14 日時点) の死者数は 4 千人を超えており、2018/2019 シーズンのインフルエンザの超過死亡者数 3,276 人 (累計推定感染者数 1,200 万人) を超えた²⁾。感染拡大の原因として、感染しても発症せずにウイルスを放出する、無症状感染者 (不顕性感染) の存在がある。その他に現時点で有効な治療法と予防薬 (ワクチン) が無い事なども原因の一つである。

ウイルス感染の確認には PCR 検査や抗原検査が用いられるが、日本では自覚症状がない場合は感染者の濃厚接触者でない限り通常は検査が行われない。抗体検査は感染後に人体内で産生される抗体を測定するため、感染直後では抗体は検出されないが、

一般的には発症後数日から抗体価が上昇していき免疫を獲得する。しかしながら、新型コロナウイルスの特徴として、ほとんど自覚症状のないままウイルスを産生する感染者が一定数いる事が挙げられる。これらの方々については現状では検査の機会がほぼない状況である。これはインフルエンザや SARS と異なる感染拡大の一因である。しかし、無症状の方でも既感染であれば抗体を取得しているはずである。そこで無症状のまま治癒した方を含めた、既感染者数の把握が実際の感染状況を調べるためには重要であり、そのために抗体検査が必須である。また、感染者の濃厚接触者が既に治癒した感染元であった場合には、PCR や抗原検査では陰性となるが、抗体検査では陽性となるので感染経路の推測が可能であり、既に治癒した方の隔離を防ぐ目的でも有効である。本解説では抗体検査の種類と特徴、抗体検査と PCR・抗原検査との違い、抗体検査で何がわかるかを説明し、国内での感染拡大時期の 2020 年 5 月から筆者らを含む、新型コロナウイルス抗体検査機利用者協議会³⁾で行っている 1 年弱の間の抗体検査で何がわかってきたかを述べる。さらに、これから国内でもはじまるワクチンの使用に際しての抗体検査の位置付けについても解説する。

I. ウイルス感染症に対する
抗体検査の位置付け

抗体には IgA, IgD, IgE, IgG, IgM など複数の種類が存在しそれぞれ役割が異なる。血中に最も多く含まれるのが IgG であり、次が IgM である。抗体検査ではこのどちらかを測定するものが多い。口腔・

鼻腔の粘膜ではIgAが多く、アレルギーにはIgEが関与している。一般的な感染症では初感染直後では抗体が産生されずウイルス等が増殖すると、生体は自然免疫によりウイルス・細菌などの異物除去を試みる。この時点ではウイルスの遺伝子や構成タンパク質である抗原が検出出来る。ウイルス由来のタンパク質である抗原タンパク質は、抗原に対する抗体を用いた抗原検査で検出する。新型コロナウイルスはRNAウイルスであり、遺伝子RNAはPCR検査により測定する。PCR検査では遺伝子を増幅できるので、抗原検査より高感度な検出が可能である。感染後、数日経つとIgMが産生され血中濃度が上昇する。その後に遅れてIgGが産生される(図1)。血中の抗体価が十分上昇するにつれ、免疫反応でウイルス量は減少し検出限界以下になる。この、抗原が減少し抗体量が増加する減少がセロコンバージョンである。多くの感染者は発症してから数日でセロコンバージョンが起きる。その後もIgGの一部は記憶免疫としてB細胞に記憶され、同じウイルスに次回感染した際は速やかにIgGが特異的な抗ウイルス抗体を産生しウイルスを排除する。これが液性免疫によるウイルス排除の仕組みである。記憶免疫は長い場合は数年から一生持続する場合もあるが、インフルエンザなどに対しては免疫の持続は短く、ウイルスゲノムの変異の速さも関係し、ワクチンの効果を得るために毎シーズンワクチン接種をする必要がある。COVID-19でもインフルエンザほどではないが遺伝子の変異の多さから長期の抗体持続の可能性は低いと考えられる。

PCR、抗原検査、抗体検査それぞれの検査の位置付けは、下記と図2のようになる。抗原検査につ

いては高感度化が達成できればPCRに変わる手法となる可能性もあり、簡易テストとしての有用性もある。国内では富士レビオから簡易キット(エスプライン SARS-CoV-2)と定量検査試薬(ルミパルス SARS-CoV-2 Ag)が販売されており保険収載されている。

PCR：感染初期から発症数日までのウイルス増殖期に、ウイルスゲノムの量を測定し重症化の判断に利用する。

抗原検査：発症直前から数日後までに、比較的ウイルス量が多い時期に、ウイルスタンパク質を検出して感染を確定する。

抗体検査：発症数日後から長期にわたり検査をすることで、感染中もしくは既感染を判定できる。

一般的な感染では図2のような位置づけであるが、COVID-19ではPCR陽性が長期続く例や、感染から治癒後3か月程度で抗体陰性になる例も見られている。また、COVID-19では先に述べたIgMの後にIgGが上昇するのではなく、IgGが先に上昇する、または、ほとんどIgMが上昇しない例が多く見られるのも特徴である(図3^{4,5)}、4⁶⁾)。このことから、SARS-CoV-2に似たウイルスにすでに感染していたことによりIgGが産生された交差免疫の可能性が考えられる⁷⁾。

SARS-CoV-2はコウモリのコロナウイルスがセンザンコウに感染した物が由来と言われているが、一般的な風邪コロナウイルスの1種229E株⁸⁾と比較すると、遺伝子レベルで全体の1/5程度であるが、67%の相同性のある部分があり、タンパク質レベルでは約40%の相同性がある。例えば、後述するNタ

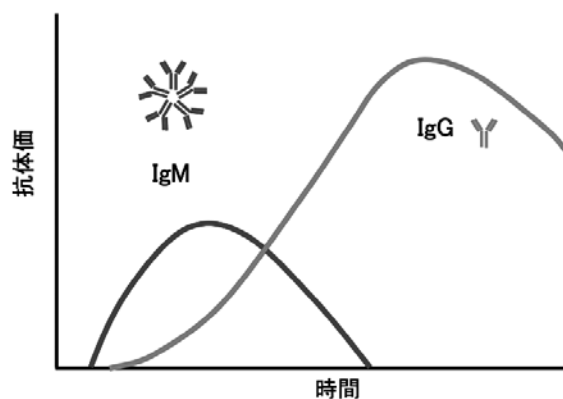


図1 一般的な初感染での抗体価の推移

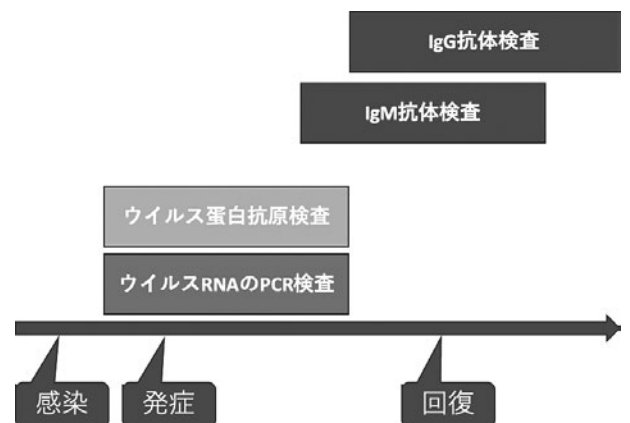
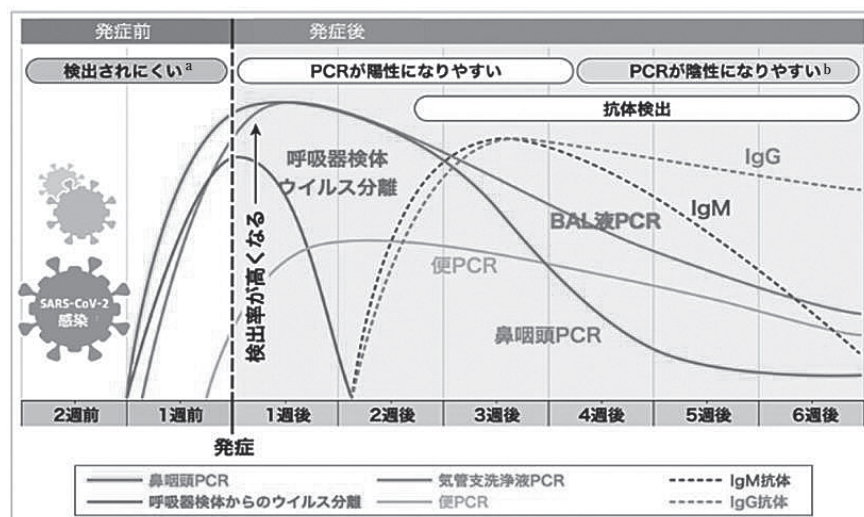


図2 それぞれの検査の位置づけ

ンパク質では40%であり、図5の網掛け部分に対する抗体が出来れば両方に反応する。

実際には、抗体はタンパク質の立体構造を含めて認識するため、断片的な相同性では交差する可能性は低いが否定は出来ない。そのため、風邪コロナ感染者が新型コロナウイルス抗体検査で陽性になる可能性がある。PCR検査ではSARS-CoV-2に特異的な

RNA領域を増幅して検査するが、抗体検査では抗原としてタンパク質を使うため、複数の認識部位が存在し、擬陽性となる可能性を排除出来ない。しかし、抗原部位を絞り込み過ぎるとウイルスの変異に対応出来なくなるため検査薬の設計には注意が必要である。



JAMA. 2020 Jun 9; 323 (22): 2249-2251, Copyright © 2020 American Medical Association. All rights reserved.

図3 感染の各フェーズで検出可能な検査の種類
(文献4)より転載

(図3は巻末にカラーで掲載しています)

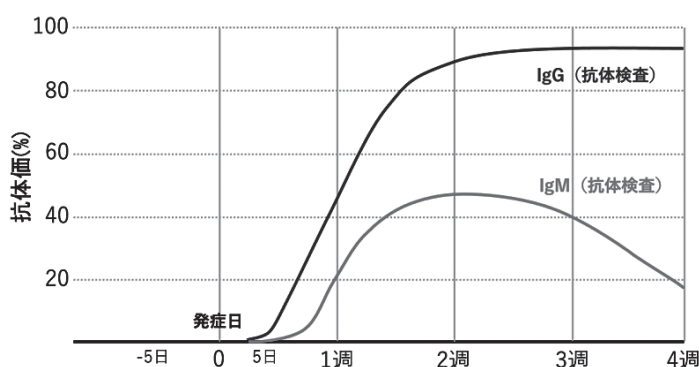


図4 新型コロナウイルスの抗体の推移

COVID-19で多く見られる抗体価の推移。初感染にも関わらずIgGがIgMより先に上昇する例が多くみられる。

(文献6)を参考に著者が作成)

229E 44 VPINKKDK-NKLIGYWN-VQKRFRTKGRVDLSPKLHFYYLGTGPHKDAKFRERVEGVV 101
VPIN + IGY+ +R R GK DLSP+ +FYYLGTGP + +G++
SARS-CoV-2 72 VPINTNSSPDDQIGYYRRATRRIRGGDKMKDLSRWYFYYLGTGPEAGLPYGANKDGII 131

図5 風邪コロナウイルスのNタンパク質44-101アミノ酸とSARS-CoV-2の72-131アミノ酸の比較網掛けで示した部分の抗体が出来ればどちらの感染でも抗体検査陽性となる

II. 抗体検査の種類と特徴

次に抗体検査の種類について説明する。新型コロナウイルスの抗体検査には複数の手法があり、検査試薬も多くのメーカーから販売されており玉石混合状態である。正しい診断をするためには、必要に応じた正しい手法と、精度良い製品を選ぶことが重要である。

i) 抗体検査の種類と特徴

抗体検査は大きく分けて陽性か陰性を±で判定する定性法と、陽性の場合に存在量が数値で判定できる定量法の2つに分けられる。定性法にはイムノクロマト法が、定量法には小型で比較的安価な装置で行えるELISA法と、大型の専用器が必要なCLIA法などがある。どの手法も基本的には、ウイルスタンパク質の一部である抗原をプレートやビーズなどに固相化している。検体中に固相化した抗原を認識する抗体が含まれていれば、それに結合するのでそれを検出する。結合した標的に対する抗体の検出法と抗原の固相化法が主な違いとなる。CLIA法原理を例として示す(図6)。

それぞれの特徴は以下の通りである。

・イムノクロマト法 (immunochromatography)

セルロース膜上を検体が毛細管現象で移動するのを試薬を利用した免疫測定法である。検体中の抗体は検体滴下部にセットされた金属コロイド等で標識された抗原(標識抗原)と免疫複合体を形成しながらセルロース膜状を移動していく。セルロース膜上にセットされているキャプチャー抗体上に免疫複合体がトラップされると呈色し、それを目視により判定する。検体中の抗体と標識抗原を逆にして、標

識抗原を標識抗体にすると検体中の抗原を検出出来る抗原検査となる。

迅速・簡便、量の多少が判定出ない

・ELISA 酵素免疫測定法 (Enzyme-Linked immunosorbent assay)

固相化した抗原に対して検体中の抗体を反応させた後、酵素標識した2次抗体を抗原に補足された検体中の抗体と反応させ、発色基質を加えて酵素活性を測定する方法。

1度に数十検体を検査可能。定量的な測定が可能、大型の装置が不要。定量直線性の範囲が狭い

・CLIA 化学発光免疫測定法 (Chemiluminescent Immunoassay)

固相化した抗原に対して抗体を反応させた後、化学発光性物質で標識した2次抗体を反応させ、化学発光性物質の発光強度を測定する方法。

多検体処理可、高感度、高ダイナミックレンジ、大型の専用機器が必要

図7に測定キットまたは装置の例を示す。抗原検査は抗体と抗原を逆にしたもので、基本的な原理は変わらないため同様な定性・定量法がある。インフルエンザの簡易キットなどはイムノクロマト法による抗原検査である。また、ここに述べた物は一般的な手法であり、各社独自の工夫がされている。それぞれについてSARS-CoV-2のどの部分に対して測定しているか。使用に際しては目的に応じて十分検討が必要である。

感染拡大を防ぐ目的では陽性検体を見逃してはいけないので、真の陽性率を示す感度が100%に近い方がいいが、擬陽性が増える可能性がある。一方、陰性証明が必要な場合は真の陰性率である特異度が高くないと、感染していないのに社会活動に制限を受けることになる。簡易検査では擬陽性が高くても

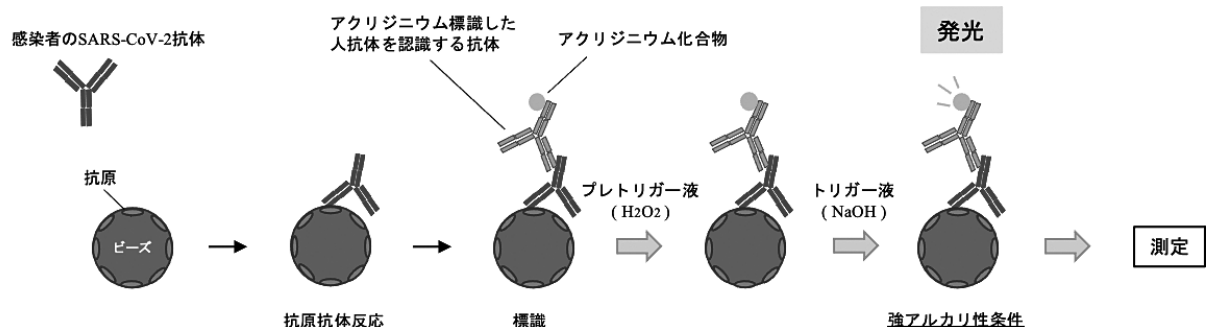


図6 アクリジニウムによる化学発光免疫測定 (CLIA) 法の原理

感度が高い物を使用し、精密検査で多角的に検査を行い確定診断することが有効である。

ii) 抗体検査に使用する抗原の種類

SARS-CoV-2 遺伝子はウイルス粒子を構成する構造タンパク質と、非構造タンパク質である酵素などの遺伝子をもつ。ウイルス粒子はウイルス RNA と構造タンパク質から構成される (図 8a)⁹⁾。

抗体検査の抗原には構造タンパク質の中のヌcleoカプシド (N) タンパク質とスパイク (S) タンパク質が使われることが多い。S タンパク質は S1, S2 の 2 つのドメイン構造を持ち、3 量体構造を取っ

ていることが構造解析により明らかになっている (図 8b, c)^{10, 11)}。

ここまで述べたように抗体検査手法、抗原、測定する抗体の種類によって、抗体検査試薬には多くの組み合わせが存在する。下に国内で入手可能な主な検査キットを示す。現時点で日本国内では抗体検査で保険収載されている製品はない。

III) 抗体検査でわかること

初めに述べたように、抗体検査ではその人が新型コロナウイルスに感染しているか、感染したことがあったかが明らかになる。また IgG の抗体価が IgM

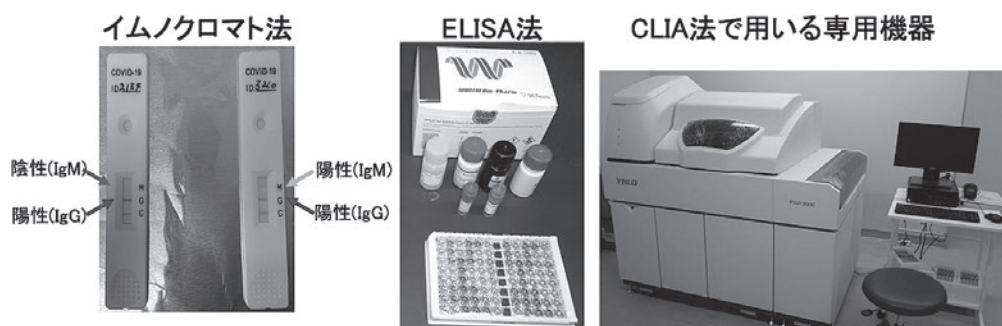


図 7 各種抗体検査製品の例

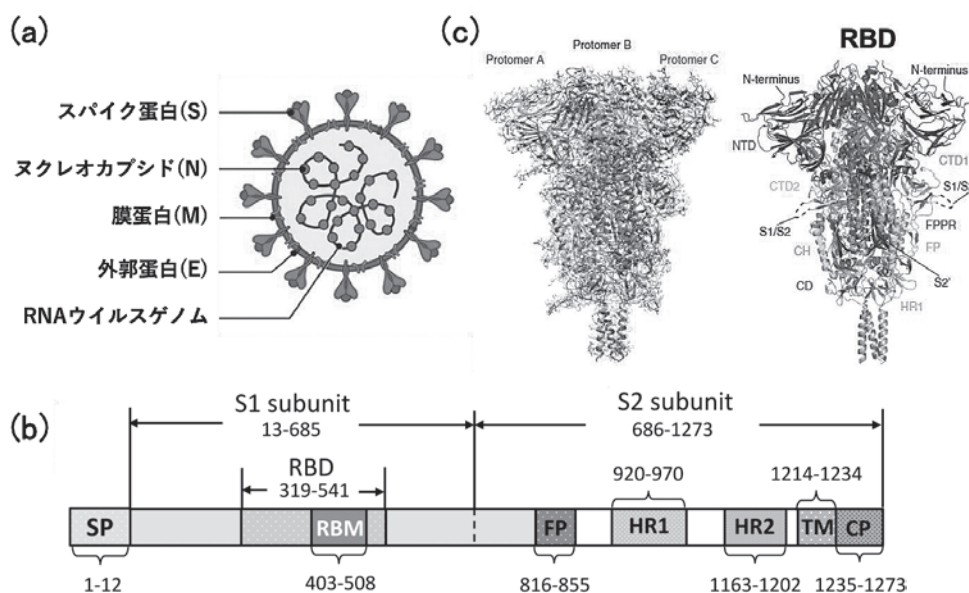


図 8 (a) ウイルス粒子の構造⁹⁾。(b) スパイク (S) タンパク質のドメイン構造¹⁰⁾。(c) クライオ電顕による 3 量体スパイクタンパク質の立体構造¹¹⁾。

人の細胞に感染する際には S タンパク質が、細胞上の ACE2 タンパク質と結合してヒト細胞内に取り込まれ、ウイルスが増殖する。ACE2 を認識する部位は S1 中の受容体結合部位 (Receptor binding domain: RBD) で、この部分に抗体が結合すればウイルスが細胞内に侵入できないことから中和抗体になる。

(図 8(a), (c) は文献⁹⁾, ¹¹⁾より転載、図 8(b) は文献¹⁰⁾を参考に作成)

(図 8 は巻末にカラーで掲載しています)

表 国内で入手可能な主な抗体検査製品リスト

日本での開発・販売企業	開発・製造企業	製品名	測定装置・機器	測定法	抗原	抗体のタイプ	研究用試薬
化学発光 (CLIA法など)							
医学生物学研究所 (MBL)	中国Shenzhen YHLO Biotech社	「iFlash-SARS-CoV-2 IgG /IgM」	専用機器 「iFlash」	化学発光免疫測定法 (CLIA法)	S+N	IgG、IgM	販売中
ロシュ・ダイアグノスティクス	スイスRoche社	「Elecsys Anti-SARS-CoV-2」	専用装置 「cobas」	電気化学発光免疫測定法 (ECLIA法)	N	トータル抗体 (IgM、IgG、IgA)	販売中
アボットジャパン合同会社	米Abbott社	「Architect SARS-CoV-2 IgG」	専用装置 「Architect」	化学発光微粒子免疫測定法 (CMIA法)	N、S	NはIgG、SはIgM	販売中
オーソ・クリニカル・ダイアグノスティクス	米Ortho-Clinical Diagnostics社	「VITROS Anti-SARS-CoV-2 IgG test」	専用装置 「VITROS」	化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA法)	S	IgG、トータル抗体	販売中
シスメックス	シスメックス	「HISCL SARSCoV-2 N-IgG 試薬」 「HISCL SARS-CoV-2 S-IgG 試薬」 「HISCL SARSCoV-2 N-IgM 試薬」 「HISCL SARS-CoV-2 S-IgM 試薬」	専用装置 「HISCL」	化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA法)	S、N	IgM、IgG	販売中
シーメンスヘルスケア	Siemens Healthineers社	—	専用装置 「Atellica」	化学発光免疫測定法 (CLIA法)	S	トータル抗体 (IgM、IgG)	販売検討中
ELISA法/FIA法							
ベルトールドジャパン	セルスベクト	「クオリサーチ Covid-19 human IgM IgG ELISAキット」	吸光度計	ELISA法	S	IgG、IgM	販売中
Euroimmun Japan 株式会社	EUROIMMUN (PerkinElmer Company)	Anti-SARS-CoV-2 NCP ELISA (IgG) Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgA) Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgG)	吸光度計	ELISA法	N S1	IgG (NP) IgA (S1) IgG (S1)	販売中
岩井化学	Acro Biosystems社	Anti-SARS-CoV-2 Antibody IgG Titer Serologic Assay kit (Spike protein S1) 他	吸光度計	ELISA法	N S S1 RBD	IgG IgM Total Abs	販売中
岩井化学	Elabscience 社	SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein IgG ELISA Kit SARS-CoV-2 Spike Protein IgG ELISA Kit 他	吸光度計	ELISA法	N S	IgG IgM	販売中
岩井化学	SignalChem 社	2019-nCoV S1 Human IgG Kit	吸光度計	ELISA法	S1	IgG	販売中
岩井化学	GeneScript社	SARS-CoV-2 Spike S1-RBD IgG & IgM ELISA Detection Kit	吸光度計	ELISA法	S1-RBD	IgG+IgM	販売中
大阪市立大学(開発)	米Mokobio Biotechnology 社	「SARS-CoV-2 IgM & IgG Quantum Dot Immunoassay」	専用機器 「Mokosensor」	蛍光免疫測定法 (FIA法)	S、N	IgG、IgM	日本での販売準備中
イムノクロマト(簡易検査)							
TKResearch (承認申請はイムノ・ブローブ)	中国 INNOVITA Biological Technology社	「COVID-19 IgG/IgMイムノクロマトキット」	無し	イムノクロマト法	S、N	IgG、IgM	販売中 (ソフトバンク採用)
スリー・ディー・マトリックス	中国Prometheus Bio社	「Coronavirus IgG/ IgM Antibody (COVID-19) Test Cassette」	無し	イムノクロマト法	S、N	IgG、IgM	販売中 (アンジェス採用)
クラボウ	非開示 (中国企業)	「新型コロナウイルス抗体検査試薬キット」	無し	イムノクロマト法	N	IgG、IgM	販売中 (神戸市立医療センター採用)
コスモバイオ	台湾Abnova Corporation社 など	「COVID-19 Human IgM/ IgG Rapid Test」	無し	イムノクロマト法	S	IgG、IgM	販売中
フナコシ	米RayBiotech社など	「Coronavirus (COVID-19) IgM/ IgG Rapid Test Kit」など	無し	イムノクロマト法	N	IgG、IgM	販売中
ヤマト科学	韓国GenBody社	「GenBody COVID-19 IgM/IgG」	無し	イムノクロマト法	N	IgG、IgM	販売中
シミックヘルスケア・インスティテュート	米ALFA SCIENTIFIC DESIGNS社	「新型コロナウイルス IgG/ IgM Antibody Test」	無し	イムノクロマト法	非開示	IgG、IgM	販売中
マルコム	韓国SD BIOSENSOR社	「COVID-19 IgM/IgG Comboキット」	無し	イムノクロマト法	非開示	IgG、IgM	販売中
日本バイオテックノファーマ	非開示	「COVID19-IgM/IgG 抗体検出検査キット」	無し	イムノクロマト法	非開示	IgG、IgM	開発中
マイクロブラッドサイエンス、塩野義製薬	中国Vazyme Biotech社	「2019-nCoV IgG / IgM Detection Kit」	無し	イムノクロマト法	非開示	IgG、IgM	開発中

より先に上がることで交差免疫をもっている可能性も示唆できる。感染拡大の当初は、PCR 検査で陰性で抗体検査で陽性ならば再感染をしない、いわゆる免疫パスポートを取得しているという意見もあったが、先に述べたように感染を抑制する抗体が産生されなければ中和抗体とならないため、精密抗体検査や抗体のウイルス中和試験などが必要である。現

在われわれは、SARS-CoV-2 の抗原別、抗体のクラス別の測定を行い効果的な抗体測定法の検討を行っている。

IV) 日本における抗体検査の状況 (開発状況と協議会の結果)

筆者は 2020 年 4 月末より、同じシステムで抗体

検査を行っている複数の研究機関が参加する新型コロナウイルス抗体検査機利用者協議会で抗体検査の測定結果を共有し、COVID-19に関する情報交換を行っている。これまでにわかってきた事を次に紹介する。

まず、入院患者についての結果を述べる。

- ・入院患者においては2週間でほぼ全例でIgGが基準値を超える(図9)¹²⁾。
- ・IgMが最初に上がる一般的な免疫反応を示す方は重篤化する傾向がある。
- ・重症者は中等度の患者より抗体価が上がらない(図10)
- ・感染後数週間は多くの入院患者でほとんどのクラス、抗原に対する抗体価の上昇が認められるが、3か月程度で多くの抗体は減少し、NよりもS1タンパク質に対する抗体の減少率は低い、中和抗体となるRBDに対する抗体はS1抗体全体に比べ減少率が高かった(図11)。

これらのことから、発症時もしくはPCR陽性で感染がわかった時点から、数日間連続して抗体検査を行いIgMとIgGの比率を見れば、重症化予測ができる可能性があることが分かった。また、RDBに対する抗体が数か月で減少していくことから、ワクチンの効果が長期は持続しない可能性があることなどがわかった。ただし、中和抗体が8か月以上持続するという報告もある^{13,14)}ので、中和試験と並行して確認をしていく必要がある。以上の結果についてはまだデータ数が十分でなく、引き続きの検査と解析が必要である。例えば基準値以下に抗体価が落ちても、メモリーB細胞が存在すれば次回感染時

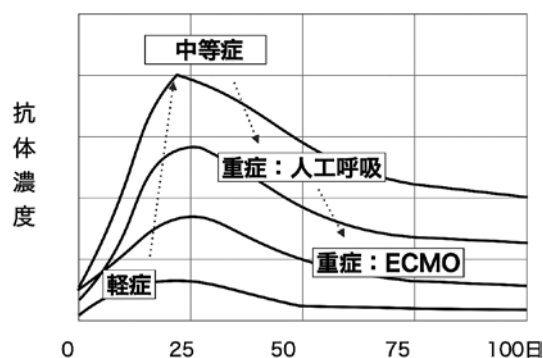


図10 軽症者から重傷者までの抗体価のIgG推移のモデル図

IgGの抗体価は軽症から中程度までは増加するが人工呼吸器、ECMO使用と重症になるとかえって減弱する傾向にあった

(図10は巻末にカラーで掲載しています)

に抗体が誘導されるので免疫は成り立ち、感染防御は出来る。

次に市中感染による抗体獲得状況について紹介する。これまでに筆者らは2020年10月までに約5千検体の健康診断等の感染の症状のない健常人等の測定を行っている。図12に一例を示す。

その結果、IgGのN抗原を中心に見ると1%程度の陽性率であった。最初の3千人でIgGとIgMの両陽性の健常人が検出されなかったこと、IgMについては健常人に異常高値がまれに検出される事、入院患者の検査ではIgMがあまり上がらない例がある事から、現在はIgG高値についてIgMの測定を行っている。その結果、10月までの約5,000人中でIgG, IgM両陽性は1名のみだった。われわれの結果では母集団の地方、職種によって多少の差は見られたが、感染者の拡大との相関は見られていない。

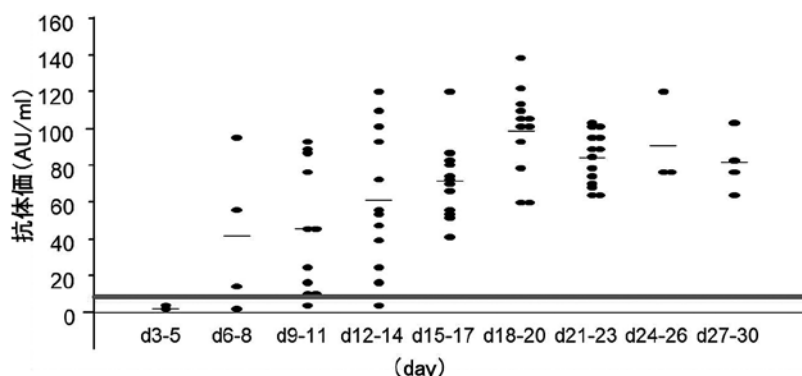


図9 入院患者における発症からのIgG抗体価の推移

発症から15日までIgGの抗体価がカットオフ値である10AU/mlを超えた

(文献12)より転載)

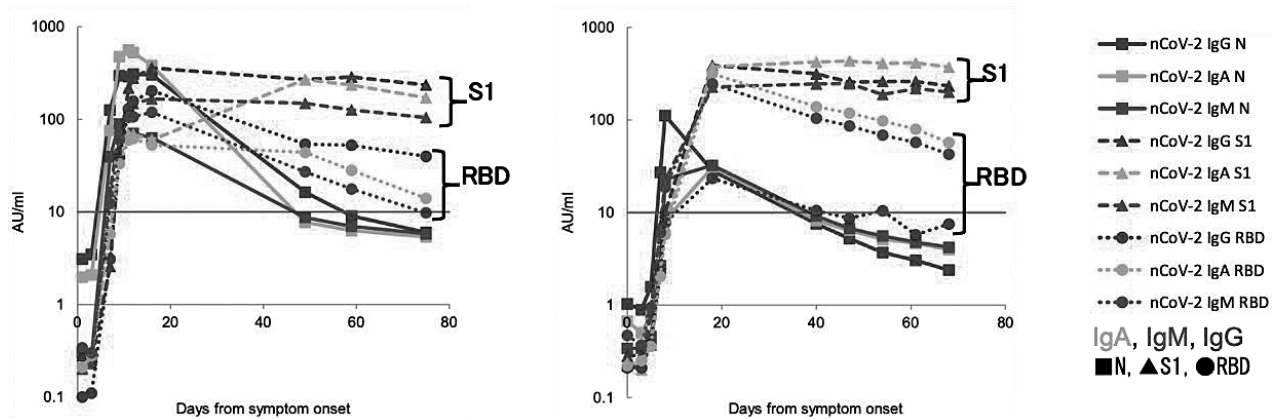


図 11 入院患者での抗原別、抗体クラス別の抗体価の推移

抗原別 (N, S1, RBD)、抗体クラス別 (IgG, IgA, IgM) 別の発症からの抗体価の推移。個人により差は大きい。50例程度の測定で全体として N>RBD>S1 の順で抗体が持続していた。図は典型的な2例の推移。

(図 11 は巻末にカラーで掲載しています)

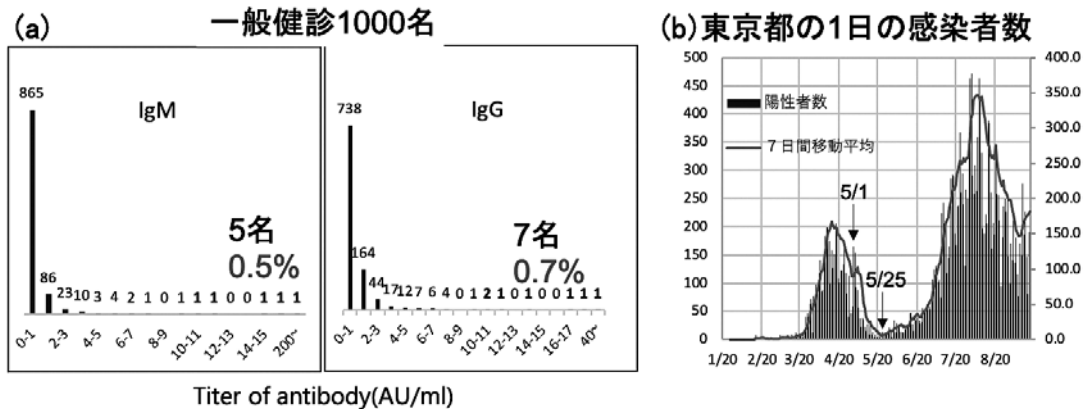


図 12 (a) 東京都内の一般健康診断受診者 1,000 人の抗体測定結果。
(b) 東京都の 1 日の感染者数の推移。IgG と IgM の両陽性は検出されなかった。

(図 12 (b) は文献 15) を参考に著者が作成)

これについては近々発表されるはずの、昨年 6 月から 2 万人以上の測定を行っている東京都の解析結果の報告で傾向が明らかになると思われる。日本国内感染の第 3 波で、東京都では 1 日の感染者が 2 千人を超えている現状から、抗体陽性率は増加していると思われる。

これまでの結果から、入院患者では抗体価の差異はあるが、N, S 両抗原に対するほとんどのクラス (IgA, IgG, IgM) の抗体価の上昇が認められる。一方、健常人による市中感染の検査では、一部の抗体価の上昇しか見られない例が見られる。そのため、疫学的に感染状況を解析するには、N, S タンパク質抗原に対する IgA, IgG, IgM の抗体検査を行う事が理想である。さらに、中和抗体の獲得の可能性を判

断するなら、S タンパク中の RBD に対する抗体測定もするべきである。これを PCR 陽性者と健常人数万人規模で追跡調査を行えば、無症状感染者の動向も含めての解析が可能になると考える。しかし、1 万検体に対して抗原、抗体クラス別の解析を行うとすると 3 億円程度のコストがかかり、時系列をとって追跡調査を行うと数十億円規模の解析となる。実用レベルで市中感染と中和能のバランスのとれた解析には、IgG-N, IgG-S, 粘膜免疫の指標となる IgA-S に対する解析が妥当と考える。これだと 1 万検体で 1 億円以下、1 検体 1 万円以下で可能である。現時点で対応する試薬を販売しているメーカーは存在しないが、N, S 抗原に対する総イムノグロブリン測定が行えれば、1 検体 2 項目で全抗体を網

羅できる。その陽性検体について詳細検査を行うのがコスト的には最も効率的である。

V) 中和抗体と新型コロナウイルスワクチン

英国やロシア、米国ではワクチンが既に承認され、日本でも近いうちに承認される予定である。SARS-CoV-2 に対するワクチンは RNA ワクチンなどの、これまでに実用化された事のない物もある上、異例の短期間で承認されており、効果や副作用については、今後長期にわたる経過観察が必要である。ワクチンでは B 細胞による抗体産生による液性免疫と、T 細胞による細胞性免疫のどちらか、もしくは両方が誘導される。細胞性免疫は MHC テトラマーや、酵素結合免疫スポット (ELISpot) などによる抗原提示細胞の認識評価による測定が必要だが、液性免疫の評価は中和試験が用いられる。これはワクチンによって誘導・産生された抗体が、ウイルスを認識するだけでなく、感染抑制をする能力を持っているかを調べる試験である。新型コロナウイルスに対する抗体の中和活性を調べる試験は、いくつかの原理に違いのあるシステムが開発されている。図 13¹⁶⁾ に 1 例を示す。この手法では直接抗体を測定するのではなく、複合体を構成すれば発色や発光により検出

する系を用い、抗体が結合することによって減弱したシグナルを測定する。SARS-CoV-2 ではスパイクタンパク質中の RDB と、ヒト細胞中の RDB 認識タンパク質である ACE-2 との結合が、人の細胞内への感染に必要なだと知られており、その結合阻害を測定する。

これ以外にも、スパイクタンパク質の RDB とヒト ACE2 タンパク質の結合を阻害する中和抗体が認識する抗原部位 (エピトープ) を、エピトープ解析を行い絞り込めれば、その抗原ペプチドをエピトープとした抗体検査で中和能を評価する事が可能である。感染細胞や感染患者の血液から中和抗体をスクリーニングして抗体のエピトープ解析をすればより効率よく、安価なペプチドワクチン開発にも結びつく可能性がある。また、ワクチンの効果は人種によって異なる事が予想されている。これは、ワクチン接種後にワクチン由来のタンパク質の断片を免疫細胞に提示する主要組織適合抗原抗原 (MHC) のタイプの分布が人種によって異なるからである。MHC が異なると、同じウイルスが感染しても免疫を活性化させる抗原部位や免疫反応の強さに差が出る事が知られている。感染患者の MHC 解析と、MHC に提示されているウイルス由来のペプチド解析を行う事

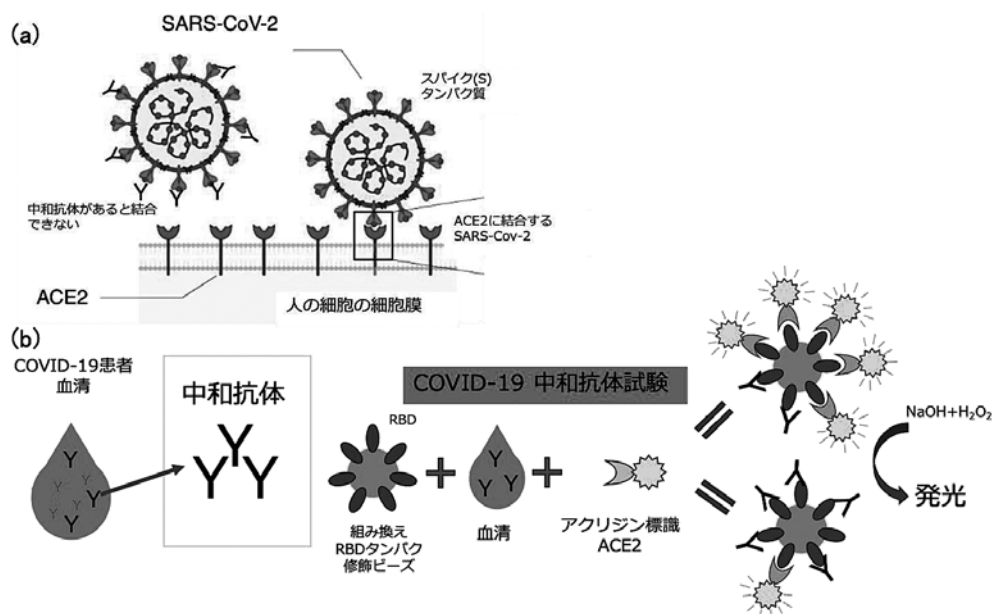


図 13 SARS-CoV-2 の感染メカニズムと中和試験の原理

(a) 中和抗体が存在すればウイルスのRBDに結合し、ACE2との結合を阻害して細胞内に感染できない。(b) CLIA法を使った中和試験。血中に中和抗体が多いと発光が少なく、中和抗体が少ないと発光量が多くなる。発光量で中和活性を定量する。

(図13(a) は文献16)を元に一部改変)

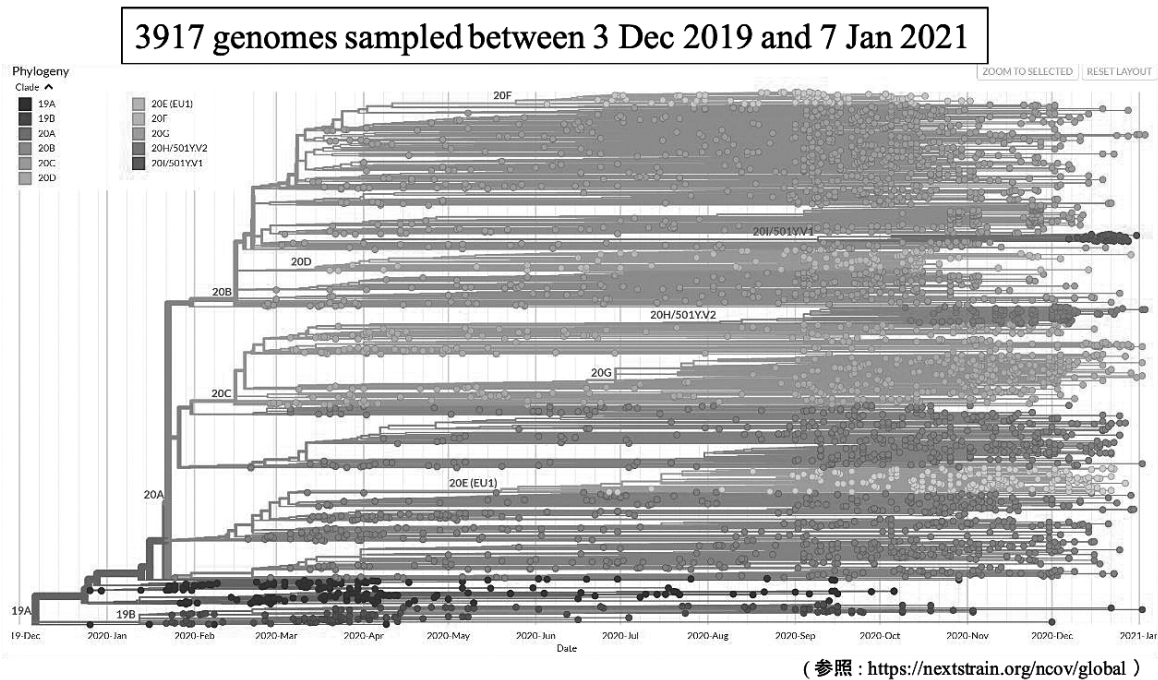


図 14 これまでに報告されている SARS-CoV-2 のゲノム変異の推移
(文献 17) より転載)

(図 14 は巻末にカラーで掲載しています)

によっても、効果的なペプチドワクチンを開発できると考えられる。また、同じワクチンを打っても効果のあった場合と、無かった場合の MHC の比較によってワクチンの効果のある方に接種する個別化医療にも結びつく可能性がある。ただし、COVID-19 ではインフルエンザほどではないがゲノムの変異速度が速く、図 14¹⁷⁾ に示すように最初に報告された武漢型から現在までに約 4 千以上の変異株が報告されている。ワクチン開発には中和能を持ちつつ、変異の少ない部分を予測する必要がある。

おわりに

本稿執筆時点で日本では 2 度目の緊急事態宣言が発令され感染拡大が続いている。人類が経験したことがない急速な世界への感染拡大の中で、どのように新型コロナウイルス感染症が収束に向かっていくかは不明である。現時点で感染が抑え込まれているという中国では、11 月 8 日以来海外からの入国者は PCR 検査に加えて血清 IgM 抗体検査も必須となっており¹⁸⁾、今後ワクチン接種も義務化される可能性もある。日本では PCR 検査は拡充されつつあるが、抗体検査は保険適用された製品もない。抗体

検査においてもエビデンスのしっかりした精度良い抗体検査態勢の拡充が行われ、感染対策の一環として組み込まれる事が望まれる。

文 献

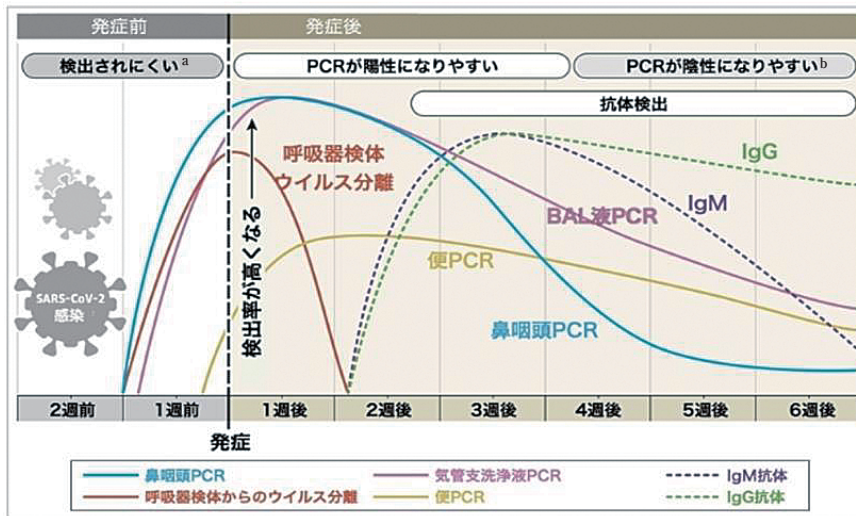
- 1) JOHNS HOPKINS UNIVERSITY & MEDICINE, CORONAVIRUS RESOURCE CENTER, COVID-19 Map, <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> (引用 2021/1/28)
- 2) 国立感染症研、病原微生物検出情報 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html> (引用 2021/1/28)
- 3) 東京大学アイソトープ総合センター、「新型コロナウイルスへの血清 IgM, IgG 抗体の定量的かつ大量測定プロジェクト 紹介と研究参加のご案内」 <https://www.ric.u-tokyo.ac.jp/topics/2020/ig.html> (引用 2021/01/28)
- 4) Nandini Sethuraman, Sundararaj Stanleyraj Jeremiah, Akihito Ryo. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. JAMA. 2020; 323(22): 2249-2251
- 5) 医療法人社団 予防会 - コラム・ニュースページ、新型コロナウイルス感染症の検査 <https://yoboukai.co.jp/article/874> (引用 2021/1/28)
- 6) Liu X, Wang J, Xu X, Liao G, Chen Y, Hu CH. Patterns of IgG and IgM antibody response in COVID-19 patients. Emerg Microbes Infect. 2020 Dec; 9(1): 1269-1274. (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)
- 7) Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM,

- Moderbacher CR, Rawlings SA, Sutherland A, Premkumar L, Jadi RS, Marrama D, de Silva AM, Frazier A, Carlin AF, Greenbaum JA, Peters B, Krammer F, Smith DM, Crotty S, Sette A. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020 Jun 25; 181(7):1489-1501.e15.
- 8) Hamre D, Procknow JJ. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1966 Jan; 121(1): 190-193.
 - 9) Lo'ai Alanagreh, Foad Alzoughool, Manar Atoum. The Human Coronavirus Disease COVID-19: Its Origin, Characteristics, and Insights into Potential Drugs and Its Mechanisms. *Pathogens*. 2020 Apr 29; 9(5): 331 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)
 - 10) UniProt, UniProtKB - P0DTC2 (SPIKE_SARS2) <https://www.uniprot.org/uniprot/P0DTC2> (引用 2021/2/22)
 - 11) Yongfei Cai, Jun Zhang, Tianshu Xiao, Hanqin Peng, Sarah M Sterling, Richard M Walsh Jr, Shaun Rawson, Sophia Rits-Volloch, Bing Chen. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein. *Science*. 2020 Sep 25; 369(6511): 1586-1592. (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)
 - 12) 新型コロナウイルス抗体測定協議会、「第二回 測定結果報告 全数精密検査で無症候での感染の把握を」 <https://www.ric.u-tokyo.ac.jp/topics/2020/ig-20200531v04.pdf> (引用 2021/1/28)
 - 13) 横浜市立大学、「小児の新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 患者における抗体獲得および保持についての研究調査を開始」 <https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2020/20201202yamanaka.html> (引用 2021/1/28)
 - 14) Hartley GE, Edwards ESJ, Aui PM, Varese N, Stojanovic S, McMahon J, Peleg AY, Boo I, Drummer HE, Hogarth PM, O'Hehir RE, van Zelm MC. Rapid generation of durable B cell memory to SARS-CoV-2 spike and nucleocapsid proteins in COVID-19 and convalescence. *Sci Immunol*. 2020 Dec 22; 5(54): eabf8891.
 - 15) 東京都 新型コロナウイルス感染症対策サイト、「都内の最新感染動向」 <https://stopcovid19.metro.tokyo.lg.jp/> (引用 2021/1/28) (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)
 - 16) Yang J, Petitjean SJL, Koehler M, Zhang Q, Dumitru AC, Chen W, Derclaye S, Vincent SP, Soumillion P, Alsteens D. Molecular interaction and inhibition of SARS-CoV-2 binding to the ACE2 receptor. *Nat Commun*. 2020 Sep 11; 11(1): 4541. (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)
 - 17) GISAID, NextStrain, <https://www.gisaid.org/phylogenomics/global/nextstrain/> (引用 2021/1/28) (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)
 - 18) 中華人民共和国駐日本国大使館、「日本から中国へ行く乗客へお知らせ 搭乗に「PCR検査及び抗体検査」の陰性証明が必要になります」 <http://www.china-embassy.or.jp/jpn/lsfu/t1828630.htm> (引用 2021/1/28)

新型コロナウイルス感染症 Up-to-date 12

「新型コロナウイルスの抗体検査」

川村 猛



JAMA. 2020 Jun 9; 323(22): 2249-2251, Copyright © 2020 American Medical Association. All rights reserved.

図3 感染の各フェーズで検出可能な検査の種類
(文献4)より転載)

ウイルスの検出率と推定時間は複数の論文からのデータに基づいている。研究によりばらつきがあるため時間間隔は近似値であり、SARS-CoV-2感染検出の確率を定性的に示している。

SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: 重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2)

PCR (polymerase chain reaction: ポリメラーゼ連鎖反応)

^a 感染時から積極的に患者をフォローした場合にのみ検出可能な期間

^b 鼻咽頭拭い液のPCR検査では陽性より陰性の判定が出やすい期間

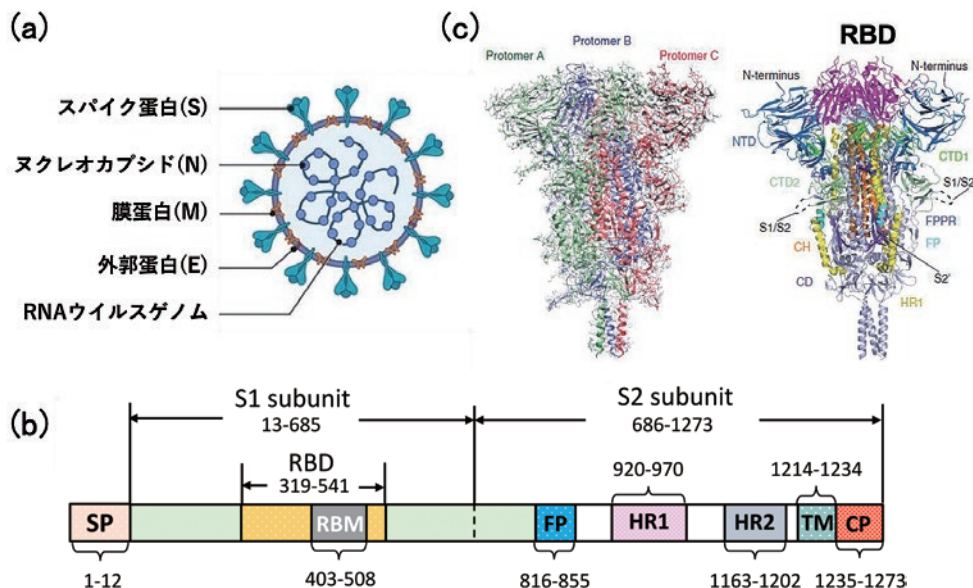


図8 (a) ウイルス粒子の構造⁹⁾。(b) スパイク (S) タンパク質のドメイン構造¹⁰⁾。
(c) クライオ電顕による3量体スパイクタンパク質の立体構造¹¹⁾。

人の細胞に感染するにはSタンパク質が、細胞上のACE2タンパク質と結合してヒト細胞内に取り込まれ、ウイルスが増殖する。ACE2を認識する部位はS1の中の受容体結合部位 (Receptor binding domain: RBD) で、この部分に抗体が結合すればウイルスが細胞内に侵入できないことから中和抗体になる。

(図8(a),(c)は文献9)、11)より転載、図8(b)は文献10)を参考に作成)

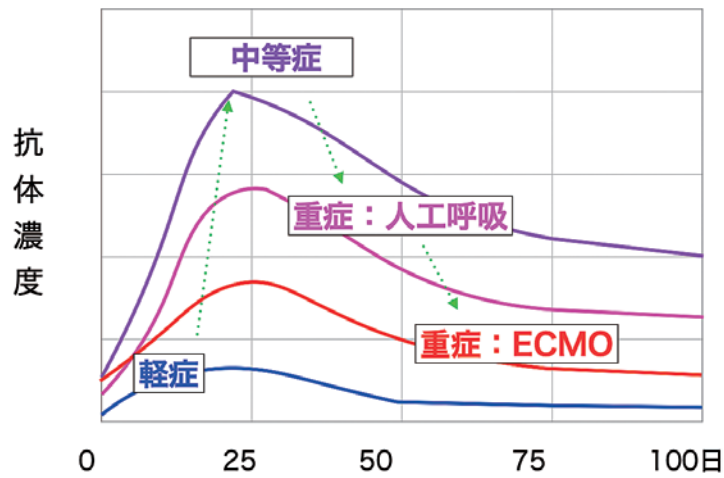


図 10 軽症者から重傷者までの抗体価の
IgG 推移のモデル図

IgGの抗体価は軽症から中程度までは増加するが人工呼吸器、ECMO使用と重症になるとかえって減弱する傾向にあった

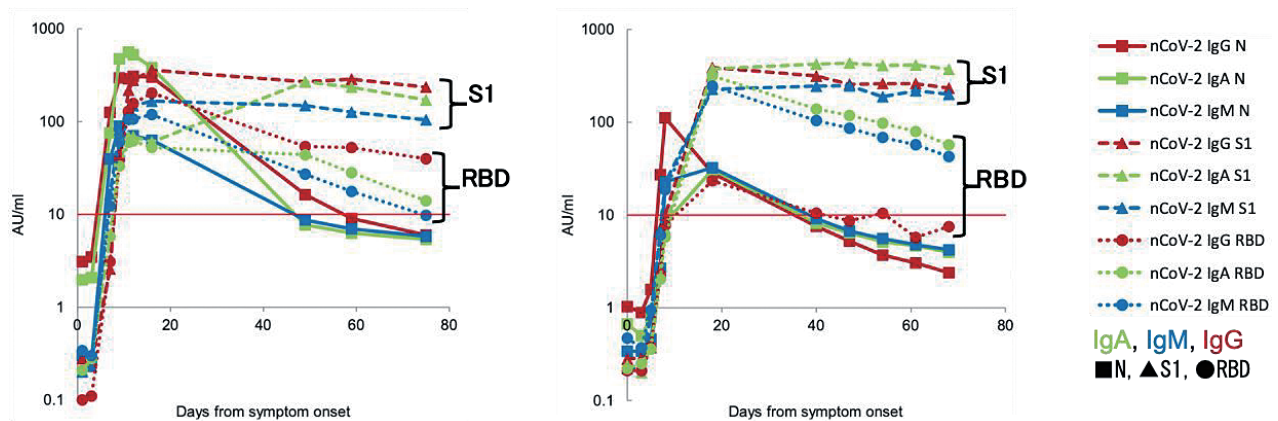


図 11 入院患者での抗原別、抗体クラス別の抗体価の推移

抗原別 (N, S1, RBD)、抗体クラス別 (IgG, IgA, IgM) 別の発症からの抗体価の推移。個人により差は大きいが50例程度の測定で全体としてN>RBD>S1の順で抗体が持続していた。図は典型的な2例の推移。

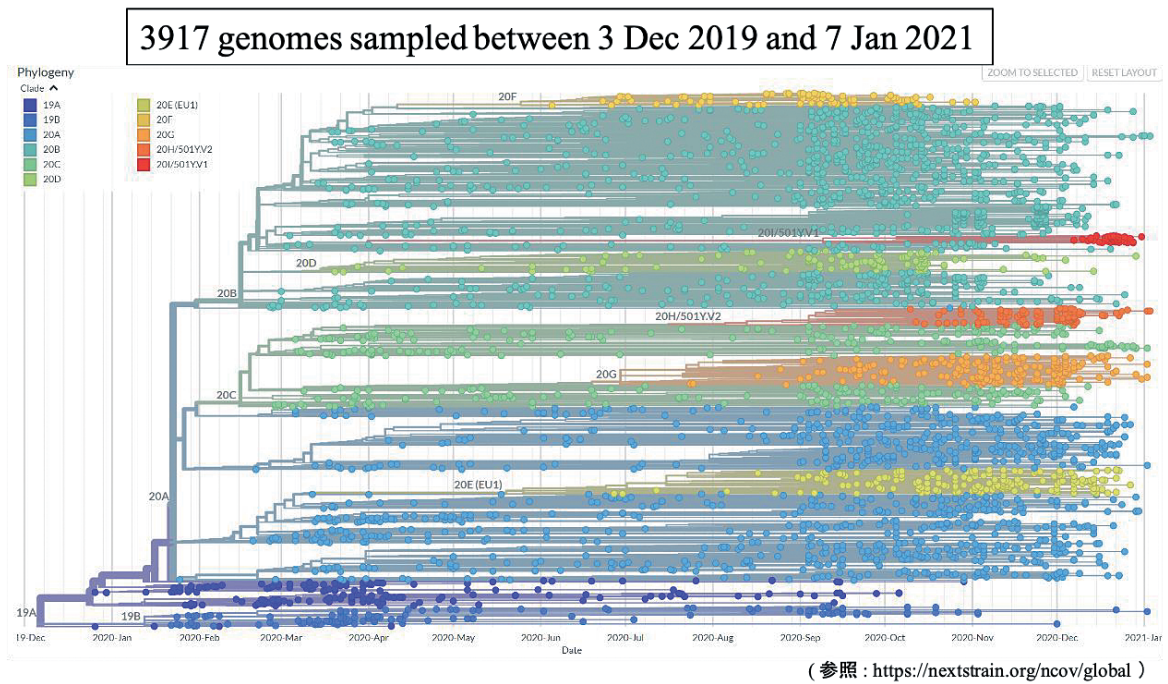


図 14 これまでに報告されている SARS-CoV-2 のゲノム変異の推移
(文献 17) より転載)