



| | |
|--------------|---|
| Title | Humoral and cellular immune responses to COVID-19 mRNA vaccines in immunosuppressed liver transplant recipients |
| Author(s) | 長束, 佑太 |
| Citation | 大阪大学, 2024, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/98632 |
| rights | |
| Note | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

| | |
|--|---|
| 氏名 Name | 長束 佑太 |
| 論文題名 Title | Humoral and cellular immune responses to COVID-19 mRNA vaccines in immunosuppressed liver transplant recipients (免疫抑制剤使用中の肝移植患者におけるCOVID-19ワクチン接種後の体液性免疫と細胞性免疫の評価) |
| 論文内容の要旨(Abstract of Thesis) | |
| 〔目的(Purpose)〕 | |
| <p>新型コロナウイルス感染症（COVID-19）において、SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質を標的とした mRNA ワクチン接種により、SARS-CoV-2 感染防御効果と、ワクチンにより誘導されるスパイクタンパク質中の Receptor Binding Domain(RBD)に対する抗体価には関連性があることが報告された。近年では、このような B 細胞を中心とする液性免疫の誘導に関する解析のみならず、T 細胞を中心とした細胞性免疫の誘導も重要であることが明らかになってきている。われわれの研究グループにおいても、これまでに SARS-CoV-2 感染後の CD8 T 細胞性免疫応答が、重症化の抑制に重要であることを報告した。</p> | |
| <p>他方、肝移植後患者においては、積極的なワクチン接種が望まれるにもかかわらず、カルシニューリン阻害剤をはじめとした様々な免疫抑制剤の服用が必要であるため、ワクチンによる免疫応答の誘導能が減弱している可能性が示唆されている。しかしながら、液性免疫、細胞性免疫の両面から解析した報告は少ない。そこで本研究では、肝移植後患者における免疫抑制剤の服用が COVID-19 mRNA ワクチン効果に与える影響について、液性免疫および細胞性免疫の両方の観点で評価することを目的とした。</p> | |
| 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 | |
| <p>COVID-19 mRNA ワクチン（Pfizer 社製 BNT162b2 または Moderna 社製 mRNA-1273）を投与した 44 人の非移植者（以後、健常者）と 54 人の肝移植後患者を対象とした。ワクチン接種前、ワクチン 2 回目接種から 1、3、6 カ月後、ワクチン 3 回目接種から 1 カ月後の合計 5 回採血し（それぞれ T1-T5 とした）、血漿と末梢血単核球細胞（PBMC）を分離した。</p> | |
| <p>液性免疫の評価は中和抗体価（抗 RBD 抗体、中和活性）を行った。抗 RBD 抗体は血漿中の SARS-CoV-2 Spike タンパク質（S 抗原）の RBD に対する抗体価を ELISA 法にて測定した。中和活性は S 抗原を外套した Pseudotyped virus（S protein を外套した、ルシフェラー遺伝子搭載擬似ウイルス）と血漿を用いて 37 度で 1 時間反応させた後に、ACE2（S 抗原と相互作用する受容体）と TMPRSS2（SARS-CoV-2 の感染を補助するタンパク質）を発現させた HEK-293A（ヒト胎児腎細胞）を 24 時間培養した後に、ルシフェラーゼアッセイを用いて中和活性を測定した。結果として、健常者群、肝移植患者群のどちらもワクチン接種後の抗 RBD 抗体価は上昇し、接種から時間が経過するにつれ、抗体価は低下した。健常者群と肝移植患者群を比較すると、肝移植患者群のワクチン接種後の抗 RBD 抗体価は健常者群より有意に低値であった（いずれも $P<0.001$）。中和活性についても同様な結果であった（いずれも $P<0.001$）。免疫抑制剤の内服数を単剤、多剤に分類し、比較すると、単剤群ではワクチン 3 回目接種後の抗 RBD 抗体価は健常者群と比較し差を認めなかつたが、多剤群では有意に低値であった（$P<0.001$）。中和活性も同様な結果であった（いずれも $P<0.001$）。また、肝移植患者における 3 回目接種後の抗 RBD 抗体価に影響を与える患者背景（年齢/性別/移植術式/拒絶の既往/術後年数/免疫抑制剤）を検討した。多変量解析の結果、免疫抑制の多剤内服は、抗 RBD 抗体価が低値であるリスク因子であった（odds 比: 0.02, $P=0.0035$）。</p> | |
| <p>続いて細胞性免疫の評価を行った。SARS-CoV-2 S 蛋白全長の Overlapping peptide または DMSO で PBMC を 6 時間刺激した後に、フローサイトメーターを用いて S 抗原特異的 Th1 型 CD4 T 細胞（CD154+かつ INFγ+ または TNF+ または IL-2+ メモリー CD4T 細胞）および S 抗原特異的メモリー CD8 T 細胞（CD69+かつ 4-1BB+ メモリー CD8 T 細胞）の割合を測定した。S 抗原特異的 Th1 型 CD4 T 細胞の頻度（以下単位%）は、健常者群と単剤群に差は認められなかつたが、多剤群は健常者群と比較して、ワクチン 2 回目接種後において有意に低値であった（中央値 [四分位]、T2 : 0.6[0.5-1.2] vs 0.7[0.2-1.3] vs 0.4[0.2-1.0], $P<0.01$）。一方で、3 回目接種後においてその差は認められなかつた。また、ワクチン 3 回目接種前後（T4 と T5）における S 抗原特異的 Th1 型 CD4 T 細胞の頻度は、多剤群であつても、健常者群、単剤群と同等であった（比率>1 の割合 : 72.7%、60%、71.4%）。なお、S 抗原特異的 Th1 型 CD4 T 細胞と抗 RBD 抗体価との相関を検討したところ、相関関係が認められた（$r=0.433$, $P<0.05$）。</p> | |
| <p>最後にメモリー CD8 T 細胞反応について評価した。肝移植患者においては、単剤、多剤を問わず、健常者と比較して S 抗原特異的メモリー CD8 T 細胞誘導能は低いことが示唆された（T2 : 0.8[0.5-1.0] vs 0.2[0.06-0.53] vs 0.4[0.05-0.62], T5 : 0.8[0.5-1.2] vs 0.3[0.05-0.60] vs 0.3[0.05-0.70], $P<0.01$）。なお、ワクチン接種 3 回目前後（T4 と T5）における S 抗原特異的メモリー CD8 T 細胞の比率は、それぞれ 55.8%、55%、42.9% であった。</p> | |
| 〔総括(Conclusion)〕 | |
| <p>肝移植患者においては、免疫抑制剤の多剤内服が COVID-19 mRNA ワクチンにより誘導される中和抗体産生および Th1 型 CD4 T 細胞の免疫応答に負の影響を与えることを明らかにした。これらの免疫応答はワクチンの追加接種で改善を示し、単剤内服患者では 3 回接種することで健常者と同等の免疫応答が得られる可能性が示唆された。一方で、メモリー CD8 T 細胞の免疫応答は、3 回接種では乏しく、単剤内服患者であつても健常者より低い結果であった。この免疫応答の改善が、肝移植患者における mRNA ワクチンによる重症化抑制の課題であると考えられた。</p> | |

論文審査の結果の要旨及び担当者

| | | |
|--|------------|-------|
| (申請者氏名) 長東 佑太 | | |
| 論文審査担当者 | (職) | 氏 名 |
| | 主 査 大阪大学教授 | 江口 英利 |
| | 副 査 大阪大学教授 | 久保 郁志 |
| | 副 査 大阪大学教授 | 斎藤 和也 |
| <p>本研究は、拒絶予防のため様々な免疫抑制剤を内服し、それによる多彩な免疫不全状態にあると推察される肝移植患者において、免疫抑制剤の内服状況を考慮してCOVID-19 mRNAワクチン接種により誘導される液性免疫および細胞性免疫応答の推移を評価することで、肝移植患者におけるワクチンの効果及び問題点について検討し、肝移植患者に対する効果的なワクチン接種計画について考察することを目的とした。本研究は、肝移植患者においてCOVID-19感染予防に関与するワクチンによる液性免疫誘導において、ワクチンの追加接種が重要性であることを示し、免疫抑制剤を単剤内服している患者では3回、多剤内服している患者ではそれ以上のワクチン接種が必要であることを明らかにした。一方で、重症化抑制に関与するワクチンによる細胞性免疫誘導については、健康成人及び肝移植患者に関わらず、ワクチン3回接種による増強が認められず、改善が必要であると考えられた。この結果は、多彩な免疫抑制状態にある肝移植患者に対するワクチン接種戦略を考える上で重要な知見となる結果であり、学位の授与に値すると考えられる。</p> | | |