

COVID-19 mRNA ワクチン接種後のオミクロン株BA.1およびBA.5に対する抗体応答に関する高齢者施設コホート調査

板持 雅恵 矢澤 俊輔 稲崎 倫子 佐賀由美子
山崎 笑子 嵩田 嵩久 田村 恒介 前西 絵美
磯部 順子 中村 雅彦 高岡 美紗 笹島 仁
川尻千賀子 谷 英樹 大石 和徳

Neutralization of Omicron Subvariants BA.1 and BA.5 by a Booster Dose of COVID-19 mRNA Vaccine in a Japanese Nursing Home Cohort

Masae ITAMUCHI, Shunsuke YAZAWA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Emiko YAMAZAKI, Takahisa SHIMADA, Kosuke TAMURA, Emi MAENISHI, Junko ISOBE, Masahiko NAKAMURA, Misuzu TAKAOKA, Hitoshi SASAJIMA, Chikako KAWASHIRI, Hideki TANI, and Kazunori OISHI

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の原因である重症呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) は、2019 年 12 月に中国・武漢における肺炎症例から初めて検出され、2020 年に世界的な流行となった [1]。高齢者施設における入居者は COVID-19 の重症化リスクが高く [2]、日本と米国における COVID-19 による死亡のうち、それぞれ 14% と 26.6% が高齢者施設入居者で占められていることが報告されている [3-5]。2020 年初頭の長期療養施設における COVID-19 のクラスターに関する先行研究では、長期療養施設における集団発生数と流行規模がそれぞれ死亡率の高さと関連しており [5]、長期療養施設における COVID-19 の集団発生を予防することの重要性が示唆されている。

COVID-19 ワクチンは迅速に開発され、2020 年末から世界的にワクチンが導入された。2020 年に実施されたランダム化比較試験において、COVID-19 mRNA ワクチンである BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) および mRNA-1273 (Moderna) は接種後約 2 か月で 90% 以上の予防効果を示した [6-7]。日本では、2021 年 2 月から医療従事者への mRNA ワクチン (BNT162b2 ワクチン) の 1 回目と 2 回目の接種が開始され、その後、65 歳以上の高齢者、基礎疾患のある成人、60～64 歳の成人、高齢者施設職員への接種が続いた。BNT162b2 ワクチンまたは mRNA-1273 ワクチンによる 3 回目接種は、2 回目接種から 6 か月以上経過した対象者に実施された。

2020 年 12 月以降、B.1.1.7 (アルファ株)、B.1.351 (ベータ株)、P.1 (ガンマ株)、B.1.617.2 (デルタ株)、B.1.1.529 (オミクロン株) などの複数の SARS-CoV-2 変異株が世界中で報告されている [8]。感染性や抗原性などのウイルス特性が変化したこれらの懸念される変異株は、集団免疫に対応して進化した可能性がある [9]。初期の mRNA ワクチンは武漢株を基に製造されていたが、SARS-CoV-2 変異株は免疫回避することが示されている [10-11]。また、Matsumura らは、京都府の高齢者施設でオミクロン株による集団発生が発生した際に、ワクチン接種済にもかかわらず、入居者の死亡率と罹患率が高かったことを報告している [12]。

本研究では、COVID-19 の重症化リスクの高い高齢者を対象に、mRNA ワクチン接種後の SARS-CoV-2 オミクロン株に対する抗体反応を評価するため、富山県内の高齢者施設の入居者と職員を対象にコホート調査を実施した。

材料と方法：

1. 対象者

研究期間：2021 年 5 月から 2022 年 12 月

研究参加者：富山県内の 6 か所の高齢者施設における SARS-CoV-2 未感染者 335 名

うち、入居者：141 名 (年齢中央値：88 歳、範囲：57～103 歳)、施設職員：194 名 (年齢中央値：44 歳、範囲：18～79 歳)

研究期間中のブレイクスルー感染者 (BTI) は、

COVID-19 mRNA ワクチン接種後, SARS-CoV-2 の逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) またはイムノクロマトグラフィー検査の陽性結果によって確認されたCOVID-19 の届出者, または自然感染のバイオマーカーである血清中の抗 N-IgG の陽性者 [13] と定義した. その結果, 研究期間をとおしてSARS-CoV-2 未感染者が284 名 (職員 161 名, 入居者 123 名), SARS-CoV-2 ブレイクスルー感染者が51 名 (アルファ株流行期: 1 名, オミクロン株 BA.1 流行期: 14 名, BA.5 株流行期: 36 名) であった (表, 図 1B).

すべての参加者は, 2021 年 4 月から 6 月にかけて, 初回シリーズのワクチンとしてBNT162b2 ワクチンを筋肉内注射で 2 回接種された. 3 回目接種は, 2022 年 1 月から 3 月にかけて 131 名が BNT162b2 ワクチンを, 204 名がmRNA-1273 ワクチンを接種された (図 1A および B). 採血は, ワクチン接種前の 2021 年 5 月から 6 月, 2 回目接種 2 か月後および 5 か月後の 2021 年 8 月から 9 月, 2021 年 11 月から 12 月にそれぞれ実施した. また, 3 回目接種 2 か月後および 5 か月後の 2022 年 3 月から 6 月, 2022 年 6 月から 9 月に, それぞれ採血した.

2. SARS-CoV-2 の全ゲノム解析

COVID-19 の感染症発生動向調査により 2021 年 3 月から 2022 年 10 月まで富山県内の医療機関でPCR または抗原検査でSARS-CoV-2 陽性となった鼻咽頭ぬぐい液または唾液の計 1,356 検体をゲノム解析の対象とした. ウイルス RNA は, QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) を用いて抽出した. 抽出 RNA は, SARS-CoV-2 ARTIC Network プロトコル [14] に従いPCR 後, QIAseq FX DNA Library kit (Qiagen) を用いて次世代シーケンサー (NGS) ライブラリを構築し, iSeq プラットフォーム (Illumina) により全ゲノムの塩基配列を解読した. 塩基配列は, BWA-MEM アルゴリズム (バージョン 0.7.13-r1126) を用いてSARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 参照配列 (GenBank アクセッション番号 MN908947.3) にマッピングし [15], Varscan version 2.4.3 [16-17] を用いて変異アリル頻度を解析した. SARS-CoV-2 塩基配列について, COG-UK (<https://pangolin.cog-uk.io/>) を用いてアルファ株 (B.1.1.7) またはデルタ株 (B.1.617.2), あるいはオミクロン株 BA.1 (B.1.1.529.1) または BA.5 (B.1.1.529.5) の遺伝子系統を決定した. しかしながら, 本研究では, 高

齢者施設におけるブレイクスルー感染者のウイルス遺伝子系統の決定はできていない.

3. SARS-CoV-2 シュードタイプウイルス (pv) 中和活性の測定

SARS-CoV-2 の S タンパク質を外套した水疱性口内炎ウイルス (SARS-CoV-2pv) は, 既報と同様に作製した [18]. SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の発現プラスミドである pCAGG-pm3-SARS2-SHu-d19_Eng (アルファ株), pCAGG-pm3-SARS2-SHu-d19_B.1.617.2 (デルタ株), pCAGG-pm3-SARS2-SHu-d19_B.1.1.529.1 (オミクロン株 BA.1), pCAGG-pm3-SARS2-SHu-d19_B.1.1.529.5 (オミクロン株 BA.5) は大阪大学微生物病研究所の小野慎子博士および松浦善治博士から分与を受けた. SARS-CoV-2pv は, 使用時まで -80°C で保存した.

被験血清は, ワクチン接種前, 2 回接種 2 か月後および 5 か月後, 3 回接種 2 か月後および 5 か月後に対象者から採取した. 血清中の中和抗体は, 武漢株, アルファ株 (B.1.1.7), デルタ株 (B.1.617.2), オミクロン株 BA.1 (B.1.1.529.1) および BA.5 (B.1.1.529.5) の S タンパク質を外套した SARS-CoV-2pv を用いた中和試験により測定した. すなわち, 100 μ L/well の 8% のウシ胎児血清添加ダルベッコ変法イーグル培地の入った 96 穴プレート上の VeroE6/TMPRSS2 細胞に, 対象者血清 1 μ L と SARS-CoV-2pv 10 μ L を加えて混合し, 37°C, 5% 炭酸ガス存在下で一晩培養した. 陰性対照および陽性対照は, 検体と同様の方法で測定した. ルシフェラーゼ活性は, Pica gene BrilliantStar-LT (TOYO B-Net) を用いて, GloMax navigator system (Promega) により測定した. 中和抗体価は, 陰性対照血清と中和後の SARS-CoV-2pv のルシフェラーゼ活性の値を被験血清と中和後の SARS-CoV-2pv ルシフェラーゼ活性の値で除した値とした. 各検体は同時に 2 穴ずつ測定した. ウサギ免疫血清とヒト血清を用い, SARS-CoV-2pv および SARS-CoV-2 生ウイルスに対するそれぞれの中和抗体価の間の有意な相関を確認した (図 2). SARS-CoV-2 生ウイルスとウサギ免疫血清は, 国立感染症研究所の福士秀悦博士から分与を受けた [19].

4. IgG ELISA

ELISA プレートに SARS-CoV-2 武漢株の Receptor binding domain (RBD) タンパク質 (1

μg/mL, 50 μL/well) またはスクレオカプシド (N) タンパク質 (1 μg/mL, 50 μL/well) (ACRO Biosystems) を、4℃一晩固相化させた。次に、0.1 % -Tween20 添加リン酸緩衝生理食塩水 (PBST) で洗浄し 20 % Blocking-One 添加 PBST で反応させた。ブロッキング後、RBD タンパク質については400 倍または1600 倍、N タンパク質については100 倍に希釈した血清を反応させて洗浄した。続いて、抗ヒト IgG HRP (Promega) を反応させ、洗浄後、ABTS 溶液 (Merck) を加え、4N 硫酸で反応を停止し、波長 405/490 nm のプレートリーダーで吸光度を測定した。吸光度が 1.0 以上の場合、N-IgG 陽性とした。測定範囲は、中和抗体価が $1 \sim 1.0 \times 10^6$ 、抗 RBD-IgG および抗 N-IgG でそれぞれ $0 \sim 8.0 \times 10^4$ U/mL であった。

5. 統計解析

年齢別、性別の RBD IgG 価、対数変換した中和抗体価について、危険率 5 % 未満を有意とし、IBM SPSS Statistics 27.0 (IBM) を用いて検定を行った。ノンパラメトリック検定の群間比較には、Mann-Whitney U 検定および Wilcoxon signed-rank 検定を用いた。抗体価間の相関はピアソンの相関係数を用いた。Jonckheere-Terpstra 検定は、年齢区分別の抗体価の傾向を検定するために用いた。

6. 倫理審査

調査の実施に際し、富山県衛生研究所倫理審査委員会により承認を受け (R3-1)、ヘルシンキ宣言に従った。研究対象者または代諾者には、本調査への協力について、文書により同意を得た。

結果：

1. SARS-CoV-2 のゲノム疫学

富山県における SARS-CoV-2 感染者からは、2021 年 3 月から 8 月にかけてアルファ株、2021 年 7 月から 10 月にかけてデルタ株が検出された。また、2021 年 12 月からオミクロン株 BA.1 による COVID-19 の流行が始まり、流行株は 2022 年 4 月から 7 月にかけてオミクロン株 BA.2 に置き換わり、2022 年 8 月から 12 月にかけてオミクロン株 BA.5 に置き換わった (図 1A)。

2. SARS-CoV-2 未感染者およびブレイクスルー感染者における RBD IgG と中和抗体価

SARS-CoV-2 未感染者 284 名における血清中抗 RBD-IgG 価の平均値は、ワクチン接種前のベースライン値から 2 回目接種 2 か月後には 1.6×10^4 U/mL に増加し、2 回目接種 5 か月後には 7.1×10^3 U/mL に減少したが、3 回目接種 2 か月後には 3.7×10^4 U/mL に上昇した (図 3A)。3 回目接種 5 か月後には、SARS-CoV-2 未感染者 209 名の抗 RBD-IgG 価の平均値は 2.3×10^4 U/mL に減少した (図 3A)。

SARS-CoV-2 未感染者 284 名では、武漢株、およびアルファ株、デルタ株、オミクロン株 BA.1、および BA.5 に対する幾何平均中和抗体価は、ワクチン接種前のベースライン値から 2 回目接種 2 か月後に、それぞれ 33.8 倍、6.4 倍、2.7 倍、1.2 倍、1.1 倍に増加し、2 回目接種 5 か月後にはそれぞれ 19.9 倍、5.2 倍、2.1 倍、1.0 倍に減少した (図 3B)。一方、3 回目接種 2 か月後にはそれぞれ 336.0 倍、119.4 倍、43.1 倍、6.0 倍、5.2 倍に顕著に増加し、3 回目接種 5 か月後にはそれぞれ 88.0 倍、30.1 倍、23.2 倍、2.4 倍、1.7 倍に低下した。

アルファ株流行期 (2021 年 8 月) には、41 歳の施設職員 1 名がブレイクスルー感染し、この参加者の抗 RBD-IgG と中和抗体価は 3 回目ワクチン接種 2 か月後に増加した (データ示さず)。オミクロン株 BA.1 流行期 (2022 年 1 月～3 月) には、14 名が 3 回目接種 2 か月後までにブレイクスルー感染した。これらの 14 名の RBD IgG 価の平均値は、2 回目接種 5 か月後 (3.9×10^4 U/mL) から、3 回目接種 2 か月後 (5.8×10^4 U/mL) に顕著に上昇した ($p < 0.001$) (図 3C)。また、これらの 14 名の武漢株、アルファ株、デルタ株、オミクロン株 BA.1、BA.5 に対する幾何平均中和抗体価も 3 回目接種 2 か月後にそれぞれ 1373.4 倍、1077.8 倍、155.7 倍、38.1 倍、10.5 倍と、2 回目接種 5 か月後から有意に増加した ($p < 0.001$, 図 3D)。これらの 14 名の幾何平均中和抗体価は、3 回目接種 5 か月後には、3 回目接種 2 か月後と比較して有意に減少した (武漢株： $p < 0.01$, アルファ株およびオミクロン株 BA.1： $p < 0.05$)。

オミクロン株 BA.5 流行期 (2022 年 6 月～9 月) にブレイクスルー感染した 35 名における RBD-IgG 価の平均値は、3 回目接種 5 か月後 (4.4×10^4 U/mL) と、3 回目接種 2 か月後 (4.3×10^4 U/mL) とで差がみられなかった ($p > 0.05$, 図 3E)。これらの 35 名における、武漢株、アルファ株、デルタ株、オミクロン株の BA.1 および BA.5 に対する幾何平均中和抗体価は、3 回

目接種2か月後にそれぞれ266.3倍, 95.2倍, 50.6倍, 6.4倍, 5.7倍と, 2回目接種5か月後から有意に増加した ($p < 0.001$, 図3F). これらの35名は, 3回目接種2か月後と5か月後との間にブレイクスルー感染したため, 3回目接種5か月後では, 3回目接種2か月後と比較して, 武漢株, アルファ株, デルタ株, オミクロン株 BA.1 および BA.5 に対する幾何平均中和抗体価がそれぞれ860.0倍, 220.7倍, 141.0倍, 20.1倍, 30.0倍と, 顕著に増加した (デルタ株, オミクロン株 BA.1 および BA.5 : $p < 0.001$, 武漢株およびアルファ株 : $p < 0.05$).

3. SARS-CoV-2 未感染者における年齢区分別 RBD IgG および中和抗体価

SARS-CoV-2 未感染者の年齢区分別のRBD-IgG 価の平均値および幾何平均中和抗体価を図4に示す. 2回目接種および3回目接種のそれぞれ2か月後と5か月後において, 高齢になるほどRBD-IgG 価は低かった ($p < 0.001$, 図4A). 2回目接種2か月後および5か月後, 武漢株, アルファ株, デルタ株, オミクロン株 BA.1 および BA.5 に対する幾何平均中和抗体価も, 高齢になるほど低かった ($p < 0.001$, 図4B). 2回目接種2か月後と5か月後におけるオミクロン株 BA.1 および BA.5 に対する中和抗体価は, すべての年齢層で低かった. 一方, オミクロン株 BA.1 および BA.5 に対する中和抗体価は, 80歳以上の高齢者においても, 3回目接種2か月後に上昇したが, 5か月後には減弱した. 3回目接種2か月後と5か月後におけるオミクロン株 BA.1 と BA.5 に対する中和抗体価は, 高齢になるほど低く, 年齢と有意な相関があった ($p < 0.001$, 図4B).

また, 57～79歳の同年齢のSARS-CoV-2 未感染者を対象に, COVID-19 mRNA ワクチン2回目および3回目接種後の免疫応答に職員と入居者で違いがあるかどうかを検討した. 2回目接種後, 武漢株, アルファ株, デルタ株, オミクロン株 BA.5 に対する中和抗体価は入居者より職員で有意に高かったが, 3回目接種2か月後 (年齢中央値: 職員64歳, 入居者75歳) では, RBD-IgG および武漢株とオミクロン株 BA.5 を含むすべての変異型に対する中和抗体価の上昇に職員と入居者で差は認められなかった (図5).

考察: 本研究では, mRNA ワクチンのブースター接種により, 高齢者施設入居者と職員のSARS-

CoV-2 抗RBD IgG 価および中和抗体価が顕著に上昇した. また, 2回目および3回目接種後の中和抗体価は, 武漢株に対して最も高く, 次いでアルファ株, デルタ株, オミクロン株 BA.1, BA.5 と続いた. このことはCOVID-19 mRNA ワクチンの3回目接種による集団免疫からSARS-CoV-2変異株が免疫回避していることを示していると考えられる[9-11]. mRNA ワクチンの3回目接種により, オミクロン株 BA.1 を含む変種株に対する抗RBD-IgG および中和抗体価が上昇したことは, 医療従事者[20-22] および高齢者施設入居者における先行研究[23-24]と一致している. 本研究では, 3回目接種により, オミクロン株 BA.5 に対する中和抗体価が増強され, BA.1 に対する中和抗体価と同等になることが明らかになった. Kotakiらは, mRNA ワクチン2回目接種により, 接種後約5か月間, 種々の変異株に対する中和抗体が持続し, 3回目接種後, メモリーB細胞サブセットがオミクロン中和抗体を誘導する可能性を示している[25].

一方, BA.5 流行期に35名の参加者に発生したブレイクスルー感染は, COVID-19 mRNA ワクチンの3回目接種により誘導された武漢株, アルファ株, デルタ株, オミクロン株 BA.1, BA.5 に対する中和抗体価を増強することが判明した. mRNA ワクチンを1～2回目接種すると医療従事者の抗体反応が高まるというこれまでの報告は, 我々の結果と一致している[26-27]. Altarawnehらは, 既感染者におけるBNT162b2 ワクチン3回目接種のワクチン効果は77.3%であったのに対し, 既感染者におけるBNT162b2 ワクチン2回目接種のワクチン効果は55.1%であり, 自然感染と最近のブースターワクチン接種によるハイブリッド免疫が最も強力であると報告している[28]. ワクチン接種後のブレイクスルー感染者におけるBA.5に対する中和抗体価の持続期間については未だ明らかではないため, 今後の検討課題である.

本研究では, SARS-CoV-2 未感染者における中和抗体価は, 武漢株に比較してBA.1で36.7倍, BA.5で51.8倍低く, オミクロン株 BA.5 流行期のブレイクスルー感染者における中和抗体価は, 武漢株に比較してBA.1で42.8倍, BA.5で28.7倍低かった. Hachmanらは, SARS-CoV-2 未感染者 (年齢中央値35歳) のmRNA ワクチン3回目接種後の中和抗体価は, 武漢株と比較して, BA.1で6.4倍, BA.5で21倍低いことを報告している[29]. 本研究と先行研究におけるBA.1とBA.5の中和抗体価の違いは, 参加者の年齢分布

の違いが一因と考えられる。

また、本研究における、SARS-CoV-2 未感染者のオミクロン株 BA.1 および BA.5 に対する中和抗体価は、mRNA ワクチン 3 回目接種 2 か月後に顕著に増加したが、3 回目接種から 5 か月後に急速に減少したことがわかった。Lyke らは、オミクロン株を含む SARS-CoV-2 既感染者において、mRNA ワクチン 3 回目接種 9 か月後の中和抗体価の減少速度がやや緩やかであることを報告している [30]。Qu らは、ワクチン 3 回目接種 30 日後の中和抗体価の低下率は、D614G 変異を持つプロトタイプウイルスに対しては 17.1%，BA.4/5 に対しては 12.1% であり、SARS-CoV-2 既感染者はオミクロン株、特に BA.4/5 に高い中和抗体価を有していることを報告している [31]。

他方、Müller らは、ドイツの成人において、BNT162b2 ワクチン 2 回目接種後のスパイク特異的 IgG 値の年齢依存的な負の相関を報告している [32]。また、Kawasuji らは、20 歳から 70 歳までの医療従事者において、変異株に対する RBD IgG および中和抗体価の年齢依存的な減少を報告している [21]。これらの知見は、高齢者施設における mRNA ワクチン 2 回目および 3 回目接種後に RBD IgG と中和抗体価が年齢依存的に減少するという我々の知見と一致する。本研究では、COVID-19 mRNA ワクチン 2 回目接種後の抗 RBD-IgG および中和抗体価は、職員と入居者の間で有意な差が見られたが、3 回目接種 2 か月後には、職員、入居者ともに中和抗体価が上昇し、抗体価に差が見られなかった。これらの結果は、COVID-19 mRNA ワクチンのブースター接種により、高齢者施設の入居者においても職員等と同様にオミクロン株に対する高い中和抗体価が得られることを示唆しており、既報 [33] と一致する。

さらに、本研究では、特に 80 歳以上の SARS-CoV-2 未感染者において、mRNA ワクチン 3 回目接種 5 か月後に中和抗体価が非常に低いことが判明した。日本では 8 月から 2022 年末までオミクロン株 BA.5 の流行が続いたため、2022 年 9 月以降、mRNA ワクチン 2 回目接種済の 12 歳以上を対象に BA.1 または BA.5 の 2 価 mRNA ワクチンが接種されている。これまでの報告では、BA.1 または BA.5 の 2 価 mRNA ワクチンブースター接種による BA.5 に対する中和抗体価は、1 価の mRNA ワクチンブースター接種による中和抗体価よりも高いか同等であると報告されている [34-35]。80 歳以上の高齢者における、BA.1 または

BA.5 の 2 価 mRNA ワクチン追加接種によって誘導されたオミクロン株 BA.5 等の変異株に対する中和抗体の持続性は明らかでないため、さらなる調査が必要であると考えられる。

本研究にはいくつかの制限がある。第 1 に、地域で生活する高齢者施設職員と入居者の抗体反応のデータを 1 つのコホートとして分析した。第二に、慢性疾患の有無など、各参加者の病歴に関する情報を収集していない。これらの要因が抗体反応に影響を与えた可能性が考えられる。第三に、自己免疫疾患や免疫抑制剤の使用など、特定の慢性疾患が抗体反応に影響を与えた可能性があるが [36]、本研究では、このような慢性疾患の抗体反応に与える影響を評価することができなかった。

結論：SARS-CoV-2 未感染者では、COVID-19 mRNA ワクチンの 3 回目接種 2 か月後に、オミクロン株 BA.1 および BA.5 に対する抗 RBD-IgG および中和抗体価が顕著に増加した。SARS-CoV-2 未感染者のオミクロン株 BA.1 および BA.5 に対する抗 RBD-IgG および中和抗体価は、年齢が高くなるに従い 3 回目接種 2 か月後および 5 か月後に低下し、特に 80 歳以上で顕著であった。BA.5 流行期（3 回目接種 2～5 か月）のブレイクスルー感染者は、3 回目接種 5 か月後でもオミクロン株 BA.5 に対して高い中和抗体価がみられた。

謝 辞

本研究にご協力くださった高齢者施設の入居者、職員、富山市医師会の看護師の方々、室谷ゆかり氏（アルペンリハビリテーション病院）、杉森洋一氏、石黒真弓氏（特別養護老人ホームアルペンハイツ、あしたねの森）、平田洋介氏（特別養護老人ホーム雅）、伊勢美和氏（特別養護老人ホームはるかぜ）、坂井麻貴氏（特別養護老人ホームかがやき）、見波栄二郎氏、幅一芳氏（特別養護老人ホームくれは苑）に深謝いたします。本研究の実施にあたり、技術支援くださった長谷川澄代氏、川口泉氏、金森陽子氏、ウイルスゲノム解析の技術的支援をいただいた国立感染症研究所病原体ゲノム解析センターの黒田誠博士、関塚剛博士にお礼申し上げます。

本研究は、日本公衆衛生学会（2021）（谷英樹）、大同生命厚生事業団（2021-14）（谷英樹）、黒住医学研究振興財団（2021）（板持雅恵）の助成を受けた。

本資料は, Vaccine. 2023; 41: 2234-2242 に報告した。

文 献

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. (2020). N Engl J Med, 382, 727-733
2. White EM, Kosar CM, Feifer RA, et al. (2020). Am J Geriatric Society, 68, 2167-2173
3. 共同通信. 介護施設で死亡全体の14% 新型コロナ、共同通信自治体調査 <https://www.47news.jp/4808143.html> (2023 年 5 月 23 日アクセス可能)
4. Comas-Herrera A, Marczak J, Byrd W, et al. LTCcovid International living report on COVID-19 and Long-Term Care. <https://ltccovid.org/international-living-report-covid-ltc/> (2023 年 5 月 23 日アクセス可能)
5. Iritani O, Okuno T, Hama D, et al. (2020). Geriatr Gerontol Int, 20, 715-719
6. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. (2020). N Engl J Med, 383, 2603-2615
7. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, et al. (2021). N Engl J Med, 384, 403-416
8. WHO. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>(2023 年 5 月 23 日アクセス可能)
9. Lucas C, Vogels CB, Yildirim I, et al. (2021). Nature, 600, 523-529
10. Iketani S, Liu L, Guo Y, et al. (2022). Nature, 604, 553-556
11. Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, et al. (2021). Nature Rev Microbiol, 19, 409-424
12. Matsumura Y, Yamamoto M, Shinohara K, et al. (2022). Am J Infect Control, S0196-6553, 00675-00677
13. Lee N, Jeong S, Lee SK, et al. (2022). Vaccines, 10, 1143
14. Itokawa K, Sekizuka T, Hashino M, et al. (2020). PLoS One, 15, e0239403
15. Li H, Durbin R. (2009). Bioinformatics, 25, 1754-1760
16. Koboldt DC, Zhang Q, Larson DE, et al. (2012). Genome Res, 22, 568-576
17. Melero R, Sorzano COS, Foster B, et al. (2020). IUCrJ, 7, 1059-1069.
18. Tani H, Kimura M, Tan L, et al. (2021). E Virol J, 18, 16
19. Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, et al. (2021). BMJ Open Respir Res, 8, e000830
20. Haveri A, Solastie A, Ekstrom N, et al. Eur J Immunol, 52, 816-824
21. Kawasuji H, Morinaga Y, Tani H, et al. (2021). Microbiol Spectr, 9, e0056121
22. Furukawa K, Handayani T, Kurahashi Y, et al. (2022). JAMA Netw Open, 5, e2210780
23. Chong Y, Goto T, Tani N, et al. (2022). Influenza Other Respir Viruses, 16, 1066-1071
24. Canaday DH, Oyebanji OA, White E, et al. (2022). EBioMedicine. 80, 104066
25. Kotaki R, Adachi Y, Moriyama S, et al. (2022). Science Immunol, 7, eabn8590
26. Vicenti I, Gatti F, Scaggiante R, et al. (2021). Int J Infect Dis. 108, 176-178.
27. Ontanon J, Blas J, de Cabo C, et al. (2021). EBioMedicine, 73, 103656.
28. Altarawneh HN, Chemaitelly H, Ayoub HH, et al. (2022). N Engl J Med, 387, 21-34
29. Hachmann NP, Miller J, Collier AY, et al. (2022). N Engl J Med, 387, 86-88
30. Lyke KE, Atmar RL, Islas CD, et al. (2022). Cell Rep Med, 3, 100679
31. Qu P, Faraone JN, Evans JP, et al. (2022). N Engl J Med, 387, 1329-1331
32. Müller L, Andrée M, Moskorz W, et al. (2021). Clin Infect Dis, 73, 2065-2072
33. Shapiro JR, Sitaras I, Park H-S, et al. (2022). Clin Infect Dis, 75, S61-S71
34. Chalkias S, Harper C, Vrbicky K, et al. (2022). N Engl J Med, 387, 1279-1291.
35. Collier AY, Miller J, Hachmann NP, et al. (2023). N Engl J Med, 388, 565-567
36. Furer V, Eviatar T, Zisman D, et al. (2021). Ann Rheum Dis, 80, 1330-1338

表. 性別, 年齢別, 感染歴別の研究参加者数

	SARS-CoV-2 未感染者			SARS-CoV-2 ブレイク スルー感染者			計
	職員	入居者	小計	職員	入居者	小計	
参加者(n)	161	123	284	33	18	51	335
女性 (%)	114(71)	92(75)	206(73)	28(85)	16(89)	44(86)	250(75)
年齢 (歳) 中央値 (四分位範囲)	47 (36-58)	88 (83-93)	66 (45-86)	38 (26-43)	90 (85-94)	43 (35-86)	62 (43-86)
年齢区分 (歳)							
18-29	21		21	9		8	30
30-39	29		29	9		7	38
40-49	40		40	11		9	51
50-59	36	1	37	2		2	39
60-69	22	2	24	2		2	26
70-79	13	14	27		2	2	29
80-89		56	56		7	7	63
90-103		50	50		9	8	59

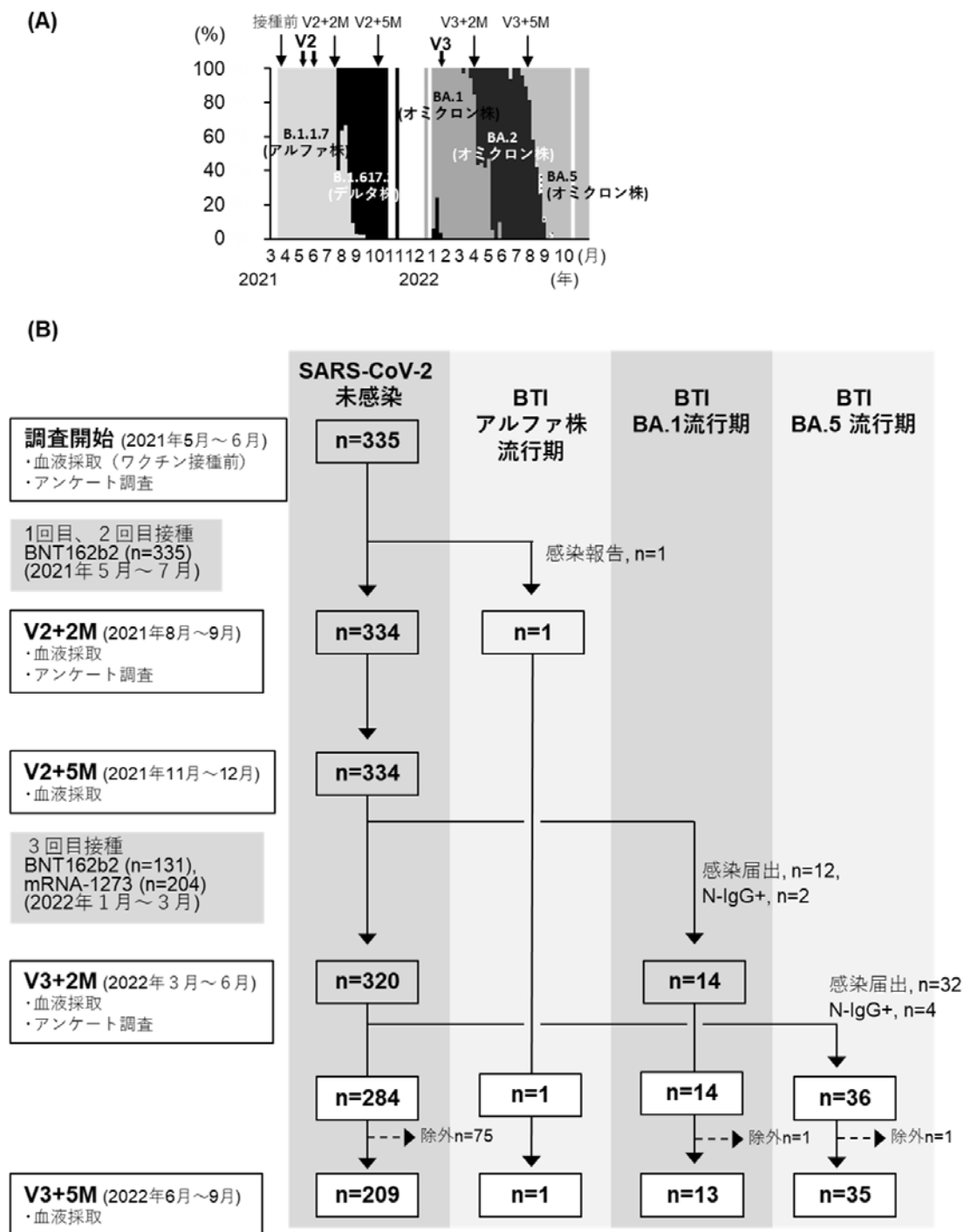
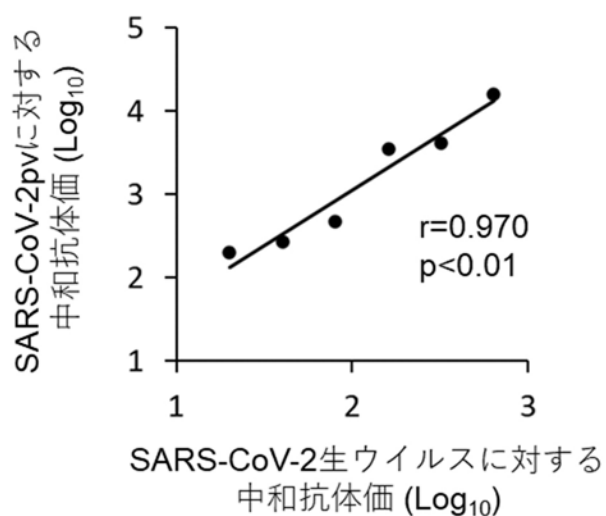


図1. ゲノム疫学と研究デザイン

(A) 富山県における SARS-CoV-2 変異株のゲノム疫学 2021 年 3 月から 2022 年 10 月まで SARS-CoV-2 陽性検体のうち 0 ～ 178 検体 / 月を解析し、各変異株の割合を示した。(B) 高齢者施設におけるコホート調査のフローチャート。SARS CoV-2 未感染者 335 名の登録後、アルファ株流行期 (n = 1)、オミクロン株 BA.1 流行期 (n = 14)、BA.5 流行期 (n = 36) にブレイクスルー感染者がみられた。うち 6 名は、COVID-19 感染者としての報告はなかったが、3 回目接種の 2 か月後 (n = 2) または 5 か月後 (n = 4) に、抗 N IgG 陽性であった。77 名の研究参加者は、49 名が 3 回目接種 5 か月後の採血前に mRNA ワクチン 4 回目接種を受けたため、研究対象から除外された。また、3 回目接種 5 か月後において、職員 14 名と入居者 7 名が採血を辞退し、入居者 7 名は老衰で死亡した。V2 + 2M：ワクチン 2 回目接種 2 か月後、V2 + 5M：ワクチン 2 回目接種 5 か月後、V3 + 2M：ワクチン 3 回目接種 2 か月後、V3 + 5M：ワクチン 3 回目接種 5 か月後、BTI：ブレイクスルー感染

(A) ウサギ血清希釈系列



(B) ヒト血清

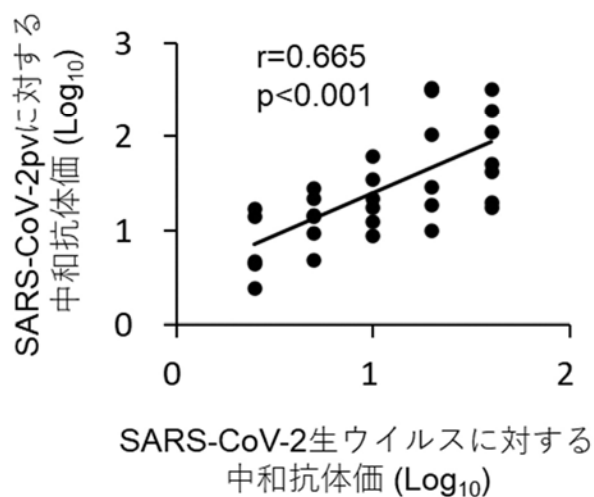


図 2. ウサギ免疫血清とヒトの血清サンプルを用いた, SARS-CoV-2 生ウイルスに対する中和抗体価と SARS-CoV-2pv に対する中和抗体価の相関

(A) ウサギ免疫血清の希釈シリーズ, (B) ヒト血清検体 (n=31)

* 中和抗体価 = 陰性血清中の SARS-CoV-2pv ルシフェラーゼ活性 / 被験血清中の SARS-CoV-2pv ルシフェラーゼ活性

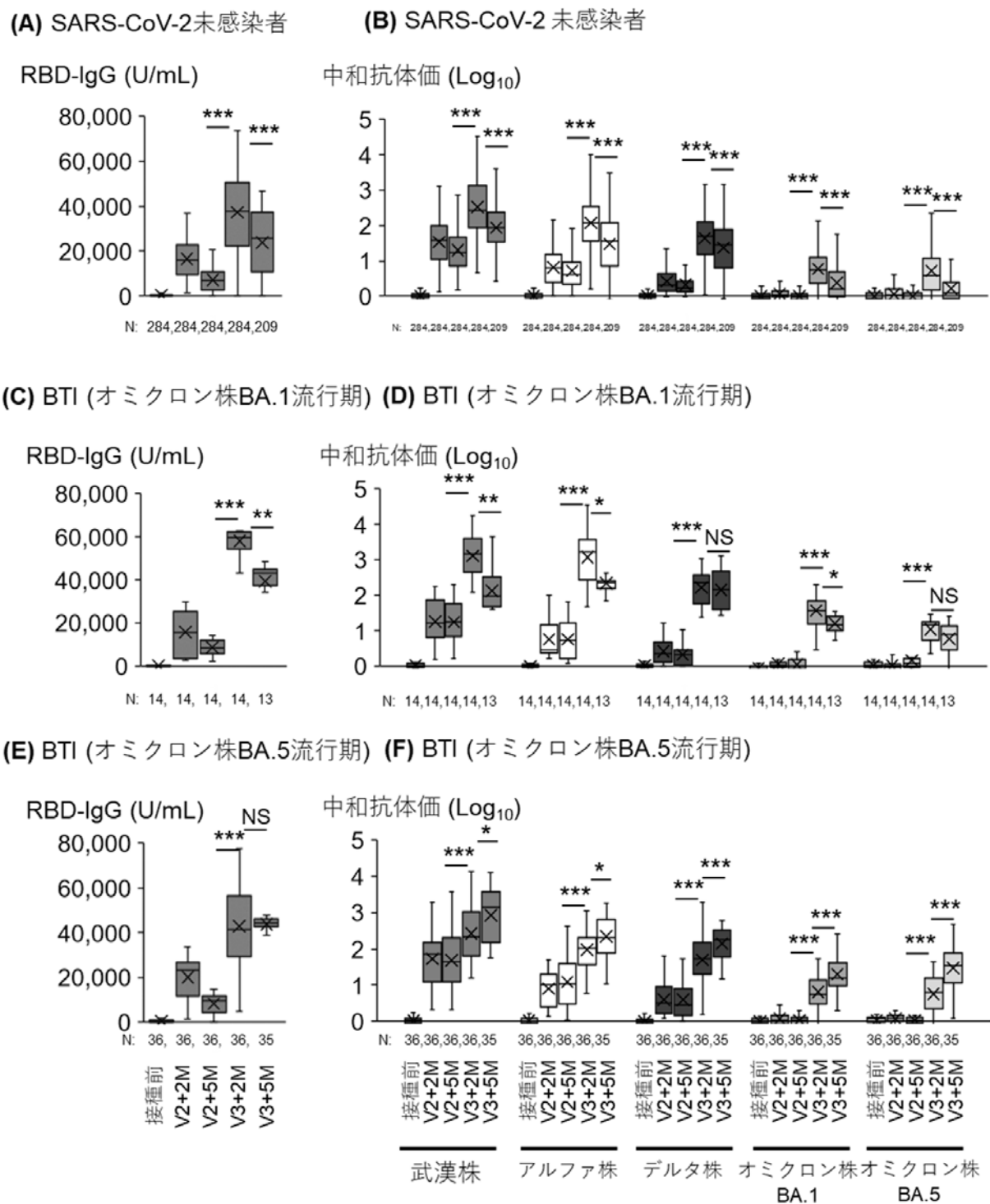


図 3. 感染歴別の mRNA ワクチン 2 回目および 3 回目接種 2 か月および 5 か月後の抗 RBD IgG 価および中和抗体価

(A) SARS-CoV-2 未感染者における RBD IgG 価, (B) SARS-CoV-2 未感染者における SARS-CoV-2pv に対する中和抗体価, (C) BA.1 流行期 (2022 年 1 ~ 3 月) ブレイクスルー感染者における RBD IgG 抗体価, (D) BA.1 流行期 (2022 年 1 ~ 3 月) ブレイクスルー感染者における中和抗体価, (E) BA.5 流行期 (2022 年 6 ~ 9 月) ブレイクスルー感染者における RBD IgG 価, (F) BA.5 流行期 (2022 年 6 ~ 9 月) ブレイクスルー感染者における中和抗体価. ***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; NS, 有意差なし. V2 + 2M: ワクチン 2 回目接種 2 か月後, V2 + 5M: ワクチン 2 回目接種 5 か月後, V3 + 2M: ワクチン 3 回目接種 2 か月後, V3 + 5M: ワクチン 3 回目 5 か月後, BTI: ブレイクスルー感染

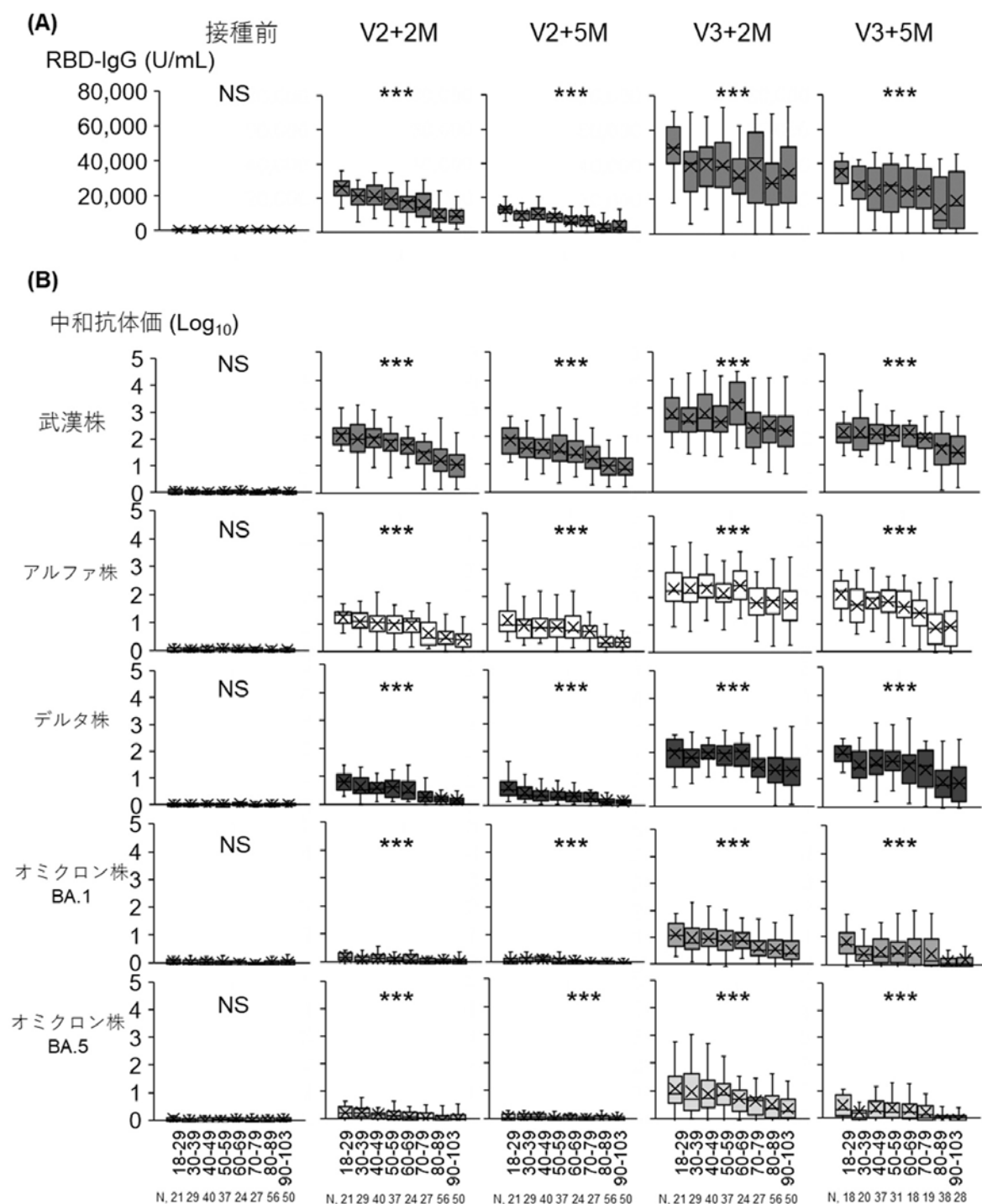


図 4. 年齢区分別のSARS-CoV-2 未感染者におけるmRNA ワクチン 2 回目および 3 回目接種 2 か月および 5 か月後の抗 RBD IgG 価および中和抗体価

(A) SARS-CoV-2 RBD IgG 価, (B) SARS-CoV-2pv に対する中和抗体価, N = 284. ***, $p < 0.001$; *, $p < 0.05$; NS, 有意差なし (Jonckheere-Terpstra 検定)

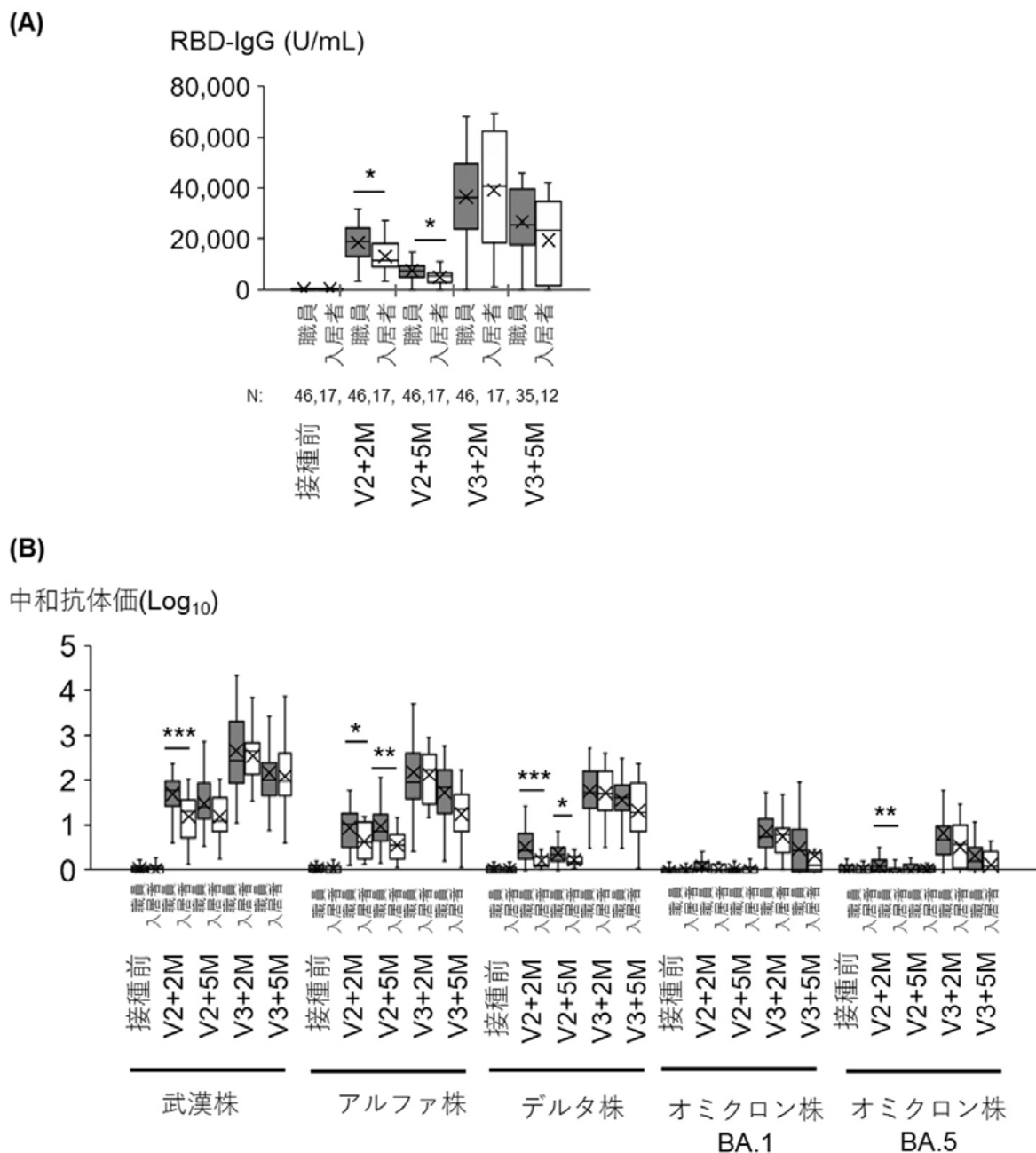


図 5. 57～79 歳の職員および入居者における COVID-19 mRNA ワクチン 2 回および 3 回目接種 2 か月後および 5 か月後の RBD IgG 価および中和抗体価

***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$ (Mann Whitney U 検定による職員と入居者の比較)