



SARS-CoV-2におけるT細胞検査

SARS-CoV-2感染の正確な同定は、集団全体へのウイルス拡散を追跡、そして封じ込めを可能にし、治療、および潜在的なワクチン接種のための戦略を策定するために極めて重要である。PCR法と抗体法は、それぞれ現在と過去の感染を検出することができるが、課題もある。

その中で、SARS-CoV-2が強力なT細胞応答を引き起こすことを示唆する強力なエビデンスがある。SARS-CoV-2に対するT細胞応答測定は、感染の検出と免疫を証明することができる可能性があり、現在の診断方法の重要な補助となる可能性があるといえる。

現在の診断環境を取り巻く具体的な課題を検討し、COVID-19の一連の病理学に沿ったT細胞検査の重要性を示す新たなエビデンスを提示する。

緒言

コロナウイルス疾患2019(COVID-19)は、2019年後半に中国武漢で初めて同定されたが、正確な起源は不明である。COVID-19を引き起こすウイルスであるSARS-CoV-2は、世界中に急速に広がり、近年最も深刻なパンデミックを引き起こし、増え続ける症例とCOVID-19に関連するとされる死亡数は、公衆衛生と世界経済に重大な脅威をもたらしている¹。

政府にとって重要な課題の1つは、疾病がどの程度人口に蔓延しているかを正確に測定することである。現在利用可能な通常の診断検査には、分子検査(PCR抗原検査)があり、これは現在のSARS-CoV-2感染を示し、血清学的検査(ELISA抗体検査)は、現在および過去のSARS-CoV-2感染(感染中に抗体が検出可能となり、感染が根絶された後もしばしば検出可能なため)を示すことができる。

個々のリスクを正確に理解するためには、精密かつ大規模に行える検査が不可欠であり、そのような検査があれば、政府による介入が減少し、経済的にプラスの影響をもたらす。最終的には、正常な生活を再開することを可能にする。しかしながら、PCRおよび抗体の結果が感染後の時間²に依存するというエビデンスが増えており、これらのテストの有効性については疑問が残ると言える³。

ウイルスに対するわれわれの理解は急速に進化しているが、個々の免疫系がウイルスにどのように反応するかについてはまだ不明な点が多い。これは無症候性感染から呼吸不全までさまざまである¹。最近のCOVID-19患者のT細胞応答の研究において、SARS-CoV-2感染中および回復後に形成されるT細胞免疫応答の役割を明確に裏付けているエビデンスが蓄積されている⁴。患者のT細胞応答を特定することは、SARS-CoV-2検査の重要な部分であり、ワクチン開発、治療モニタリング、さらには免疫を持つ患者の特定にも使用できる可能性がある。

現在用いられている検査

SARS-CoV-2感染の診断検査は、現在、SARS-CoV-2に感染しているかを確認するための分子検査と、抗SARS-CoV-2抗体を検出することによって過去に感染しているかを判定する抗体検査の2つに大別される。

分子検査(PCR)は、鼻腔または唾液スワブに存在するウイルスRNAを早期に検出し、感度、特異度が高い。また、処理が比較的迅速であることから、急速なアウトブレイクを制御する際に明確な利点がある。しかし、PCR検査の主な限界は、個人が過去に感染したかどうか、また、より重要なポイントであるウイルスが依然として活性型であるかどうかを検出できないことである。また、症状のある患者でウイルス血症が低下した場合には、偽陰性となることもある。

抗体検査の主な利点は、比較的安価で迅速に処理できることである。ただし、根本的な欠点は、患者の免疫反応が遅れている場合、または抗体を介した反応なしにSARS-CoV-2感染を排除できた場合に、偽陰性の結果が生じる可能性があるという事実である⁵。その結果、SARSCoV-2抗体検査は、過去に感染した人数を著しく過小評価する可能性がある²。

さらに、最近の知見は、感染後にSARS-CoV-2抗体が有意に減少することを示唆しており⁷、MERSおよびSARS-CoV-1感染で認められた速度よりもさらに速い速度で減少する²ことを示唆している。これは、SARS-CoV-2に対する抗体の防御的役割が、特にCOVID-19患者の大多数を占める軽度の症状を持った個人²では、期待したほど強力ではない可能性があることを意味する⁸。

この一過性の抗体反応は、重症度の低いCOVID-19と、一般的な風邪を引き起こす季節性コロナウイルスと共通する特徴である可能性があり、²軽度の症状の人は、より重度の症状の人と比較して、抗体の産生が少なく、持続時間が短い可能性がある。

これらの所見はすべて、広範な血清学的検査、SARS-CoV-2による再感染に対する抗体防御、およびワクチン耐久性を検討する際に重要な意味を持つ⁸。

これらの結果は、PCRおよび抗体検査の信頼性が感染後のサンプル採取時期に依存することを示すエビデンスに寄与しているといえる²。そして、この因子は、日常の臨床診療や、SARS-CoV-2に対する抗体を介した免疫応答に加え、細胞性免疫応答に焦点を当てることを考慮されるべきであると示唆している。

SARS-CoV-2におけるT細胞検査の必要性

抗体反応が、過去のSARS-CoV-2感染を確実に検出しているかどうかを知るには時期尚早である。しかし、COVID-19患者におけるT細胞応答の重要性を調査した研究では、SARS-CoV-2感染からの回復後に形成される免疫学的記憶においてT細胞が重要な役割を果たすことが確認されている^{4,9}。例えば、COVID-19で入院したほとんどの患者は、CD8およびCD4 T細胞応答の両方を示した⁴といったことである。

SARS-CoV-2に対する細胞性免疫において考慮すべきもう一つの興味深い側面は、血清陰性(抗体陰性)個体で観察されるT細胞応答である。曝露を受けた人および健康者において、抗体反応と比較してほぼ2倍の人数が記憶T細胞を産生することがわかった⁹。これは、抗体検査がSARS-CoV-2に対する集団レベルの免疫の程度を著しく過小評価する可能性があることを意味する。

SARS-CoV-2が、ワクチン成功の状況下で観察されたものと同様の強力なメモリーT細胞応答を誘発することを示唆する所見もあり、自然曝露または感染が、血清反応陰性の個体においてさえ、重症COVID-19の再発を予防する可能性があることを示唆している⁹。

T細胞検査の応用

T細胞検査の用途としては、ワクチンの開発や治療モニタリングへの応用が考えられる。また、SARS-CoV-2に対する免疫を持っている人やCovid-19重症化リスクが低い人を特定するのにも役立つ可能性がある。

ワクチン開発

T細胞応答は既存の免疫またはSARS-CoV-2への曝露に関するベースライン情報を提供するため、T細胞検査はワクチン試験に組み入れする前の免疫状態を判定する上で重要な役割を果たす可能性がある¹⁰。

T細胞検査は、自然免疫を持たない非感染者と、ワクチン中の特定の抗原に曝露されたときにT細胞依存性過敏免疫反応の可能性のある過去の自然免疫を持っている人の両方を特定するのに役立つ¹⁰。これは、特定の個人を試験に組み入れるかの意思決定に役立つであろう。

また、SARS-CoV-2に特異的なT細胞がワクチン接種前ではなくワクチン接種後に存在することを確認することにより、フェーズ1～3試験におけるワクチン開発においてもT細胞検査は重要であると考えられる。

SARS-CoV-1 特異的T細胞が、最初の曝露から17年も一部の個体に存在し続けることを示す証拠を考慮すると¹⁰、非常に堅牢なSARS-CoV-2 T細胞は、世界的なCOVID-19公衆衛生対応で考慮されるべきであることは明らかである。ワクチン接種後の特異的T細胞応答の持続時間を理解することは、ワクチンによってどの程度の免疫が提供されるかを理解し、予測する上で同等に重要である。

治療薬モニタリング

治療薬モニタリング(Therapeutic drug monitoring : TDM)は、最良の臨床転帰を達成するために、薬物の最適な用量を決定するのに役立つ。これは、COVID-19において特に重要である。COVID-19では、患者の反応には大きなばらつきがあり、薬剤が新規であるか、あるいは新たな状況で適用されているからである。SARS-CoV-2に対するT細胞の応答も、ウイルス蛋白の応答が個々の患者によって大きく異なる可能性があり¹¹、この応答の強さを評価することは、*in vitro*におけるTDMの重要な要素である¹²。

集団免疫

T細胞検査は、抗体産生が少ない無症候性感染を含め、集団内の感染者数をよりよく理解することができ、抗体検査を補完することができる。これは、集団レベルの免疫のより信頼できる全体像を把握するのに役立つ。

また、T細胞検査により、重度のCOVID-19を発症するのをある程度自然に防御できるコホートを特定することができ、それは、逆に重度のCOVID-19を発症する可能性が高いコホートを同定することができることにつながる¹²。

そしてこれは、最もリスクの高い患者への影響を軽減するための最善の方針の決定に寄与することになり、COVID-19患者のリスクプロファイルに基づいて、臨床医が最善の治療方針について十分な情報を得た上で決定を下すのを助ける可能性がある。

T-SPOT® Discovery SARS-CoV-2について

T-SPOT® Discovery SARS-CoV-2研究用試薬 (Research Use Only : RUO)キットは、SARS-CoV-2感染に対するT細胞応答の検出測定をするために開発された。このキットは、末梢血から調製されたサンプルがSARS-CoV-2由来のペプチドプールによって*in vitro*で刺激されるよう設計されたELISPOTアッセイである。この刺激によりSARS-CoV-2特異的T細胞数を数え、T細胞応答を評価することができる(図1)。細胞を洗浄し、各アッセイにおいて特定の数の細胞を使用する標準化およびELISPOTの高い感度によって、免疫抑制された患者からの検体でも、その性能を維持することができることを意味する。

T-SPOT® Discovery SARS-CoV-2研究用試薬は、世界的に薬事承認されている唯一のELISPOTプラットフォームであるOxford ImmunotecのT-SPOTテクノロジーを用いている。このテクノロジーは、現在、別の呼吸器病原体（結核の原因となる病原体）へのT細胞応答を同定するために設計されており、米国、EU、中国、日本を含む50カ国以上の国々で、結核感染を検出するための臨床使用が承認されている。このT-SPOTテクノロジーは、品質マネジメントシステム下で2,000万テスト以上のT-SPOTキットが製造され、世界中で使用されており、このことからこのテクノロジーが信頼性が高く、再現性のある高いクオリティを有していることが分かる。

T-SPOT® Discovery SARS-CoV-2研究用試薬の主な利点は、さまざまなSARS-CoV-2抗原に反応するSARS-CoV-2特異的T細胞の数を数えることができることである。すべての抗原はSARS-CoV-2ウイルスの構造タンパク質の長さに基づいて最適化された抗原混合により、SARS-CoV-2に対する免疫応答の最大幅を調査できる。

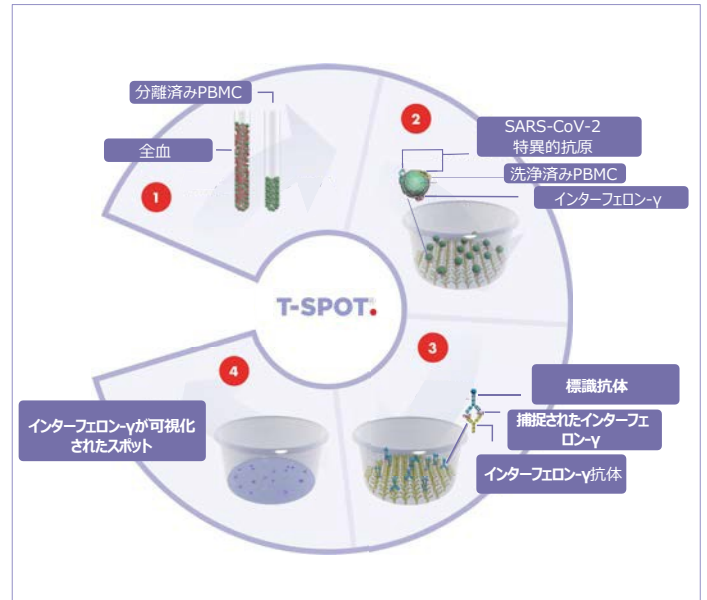


Figure 1: T-SPOT® Discovery SARS-CoV-2は、SARS-CoV-2用に設計されたELISPOTアッセイに基づくT.SPOT技術を利用している。この試験は、検体の違いによっての結果への影響を避けるため、洗浄細胞数の標準化を行う。

他の地方病性コロナウイルスと高い相同性を持つ抗原は除去されており、各抗原混合物を別々のウェルに平板培養し、科学者が個々のSARS-CoV-2タンパク質に対する応答を決定できるようにしており、これにより、免疫応答の多様性とT細胞免疫の可能性を、個体レベルと集団レベルの両方で信頼できる全体像をつかめるようにしている(図2)。このキットは、簡単に自動化することができ、この自動化プラットフォームによって検体の安定性が拡張し、異なる場所からの血液検体の集中化を可能にする。つまり、大量のサンプルを処理する場合に理想的であり、大規模な研究において、またはより広範な試験において必須であると言える。

血清学的検査では感染後の一部の患者の血液中からSARS-CoV-2に対する抗体を検出することができるが、これがどのようにして免疫を付与するかについては現在のところほとんど知られていない。

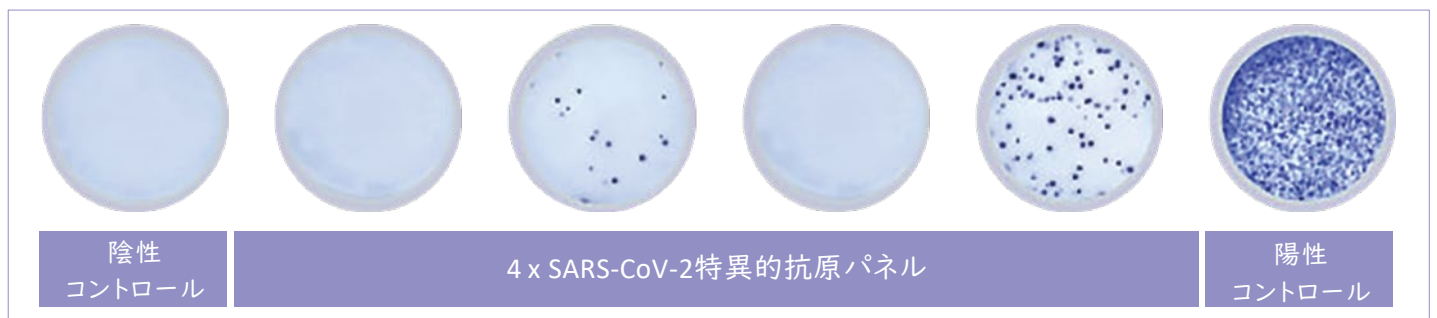


Figure 2: T-SPOT® Discovery SARS-CoV-2による結果サンプル。種々の抗原に対するSARS-CoV-2特異的T細胞の数を、容易に可視化しカウントすることができる。

T-SPOTテクノロジーは、免疫系のT細胞応答を調べ、その応答の強さを測定することによって、血清学的検査より進んでおり、T細胞検査は、SARS-CoV-2に対する免疫を調べる際に、抗体検査への補助的検査を提供することができる。これは、COVID-19パンデミックの集団免疫閾値と予測に関する研究において、血清陰性患者を含めた免疫の全範囲を理解することが重要な場合に、特に有用であると考えられる。

要約

PCRおよび抗体検査は、SARS-CoV-2感染を検出するための標準的な検査として多く見られる。PCR検査は、現在感染しているかを調べることができ、抗体検査は、患者が過去に感染したかどうかを調べることができるが、これらの検査だけでは、個人や集団の免疫状態を完全に把握することはできないため、課題もある。

T細胞検査は、SARS-CoV-2感染における抗体検査に対しての信頼できる補助検査と見做すことができ、検出可能な抗体反応を示さない患者にとっては特に重要である可能性がある。

このことは、被験者が既存の免疫を有しているかどうか、組み入れ前にSARS-CoV-2に曝露されていたかどうか、およびワクチンにどのように反応するかについての最も包括的なデータを必要とするワクチン試験において、重要な意味を持つ可能性がある。また、T細胞応答研究はSARS-CoV-2治療モニタリングにおいても有用である可能性がある。

T細胞検査が長期免疫の信頼できる予測因子として機能できるかどうかはまだ分からないが、それが機能すれば、パンデミックのより正確なモデリングが可能になり、“SARS-CoV-2免疫パスポート”によって防御された個人が通常の生活を再開できるようにする可能性があるだろう。

T-SPOT® Discovery SARS-CoV-2は、研究用試薬であり、臨床使用はできません。

また、特定の地域、国で販売されているかについては、弊社までお問い合わせください。

References

1. Braun J, Loyal L, Frensch M, et al. SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19. *Nature*. 2020
2. Ibarondo R, Fulcher JA, Goodman-Meza D, et al. Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 383:1085-1087
3. Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Kunal Abidi, S, et al. Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020; 370:m2516
4. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020; 1-8
5. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; ciaa344
6. Tan W, Wu Y, Zhang J, et al. Viral Kinetics and Antibody Responses in Patients with COVID-19. *MedRxiv*. 2020; doi:10.1101/2020.03.24.20042382
7. Ward H, Cooke G, Atchison C, et al. Declining prevalence of antibody positivity to SARS-CoV-2: a community study of 365,000 adults. *MedRxiv*. 2020; doi: 10.1101/2020.10.26.20219725
8. Seow J, Graham C, Merrick B, et al. Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection. *MedRxiv*. 2020; doi: 10.1101/2020.07.09.20148429
9. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *Immunology*. 2020; 183(1):158-168.e14
10. Doshi P. Covid-19: Do many people have pre-existing immunity? *BMJ*. 2020; 370:m3563
11. Thieme C, Anft M, Panikaki K, et al. The SARS-CoV-2 T-cell immunity is directed against the spike, membrane, and nucleocapsid protein and associated with COVID-19 severity. *MedRxiv*. 2020; doi:10.1101/2020.05.13.20100636
12. Ogbe A, Kronsteiner B, Skelly DT, et al. T cell assays differentiate clinical and subclinical SARS-CoV-2 infections from cross-reactive antiviral responses. *MedRxiv*. 2020; doi:10.1101/2020.09.28.20202929
13. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, Rawlings SA, Sutherland A, Premkumar L, Jadi RS, Marra M, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell*. 2020; 181(7):1489-1501.e15

T-SPOT® Discovery
SARS-CoV-2

 **Oxford**
Immunotec