

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：品田 佳那子

専攻分野：内科学（呼吸器内科）

指導教授：峯下 昌道

主論文の題目：

Longitudinal Analysis of Neutralizing Potency against SARS-CoV-2 in the Recovered Patients after Treatment with or without Favipiravir

（新型コロナウイルス感染症から回復した患者について、治療としてファビピラビルを投与した群および投与しなかった群における中和能についての経時的解析）

共著者：

Takashi Sato, Saya Moriyama, Yu Adachi,
Masahiro Shinoda, Shinichiro Ota, Miwa Morikawa,
Masamichi Mineshita, Takayuki Matsumura,
Yoshimasa Takahashi, Masaharu Shinkai

緒言

Coronavirus disease-19 (COVID-19)は、Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)により引き起こされる感染症である。流行初期では既存の抗ウイルス薬等を応用することが検討された。そのなかで新型又は再興型インフルエンザウイルス感染症に対する承認薬である favipiravir は、基礎研究において COVID-19 に対する効果が示唆され、複数の研究や試験で有効性等の検証が行われた。抗ウイルス薬はウイルス抗原量を減少し罹病期間を短縮させるため、宿主の免疫応答時間が短縮することになり、その後の免疫応答に影響しうると考えられ、favipiravir が宿主免疫応答に与える影響を明確にする必要があった。SARS-CoV-2 に対する免疫応答として既報によれば、重症患者でより高値をとるとされる抗レセプター結合領域 (Receptor binding

domain; RBD) 抗体は必ずしも SARS-CoV-2 を中和する力と相関せず、むしろ中和効力活性 (Neutralizing potency index: NPI) のほうが正確に反映するとされる。また今後の懸念として感染力の高い SARS-CoV-2 変異株の出現があり、これらは宿主の獲得体液性免疫から逃れる可能性があることから、再感染を予防する観点から交差反応性 (neutralization breadth index: NBI) を測定することが提案されている。本研究では favipiravir の中和反応および免疫応答に対する影響を明らかにすることを目的とし、favipiravir の投与を受けた中等症 COVID-19 患者を対象に、ウイルスクリアランス、RBD 抗体値、中和抗体価および NPI を評価した。また K417N、E484K、N501Y の 3 つの変異を持つ B. 1. 351 (β) 変異株を用いて NBI を算出し変異株に対する免疫応答についても評価した。

方法・対象

東京品川病院で COVID-19 と診断され鼻咽頭拭い液検体を用いたリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 検査で陽性となり、画像所見で肺炎像が認められ、2020 年 5 月 28 日から 9 月 26 日までの間に退院後初回外来を受診した患者を対象とした。favipiravir の倫理的供与を受けた患者群 (以下、投与群) と、同薬の投与に非同意または併存疾患などを理由に投与しなかった群 (以下、対照群) の二群とした。2021 年 3 月 13 日まで各患者の医療記録を後方視的に確認し追跡調査した。中和抗体価の算出は既報をもとに、ウイルス懸濁液 (SARS-CoV-2 JPN/TY/WK-521 株または変異株 JPN/TY8-612 株) を用い、患者から得た血清を希釈して混合し、Vero E6/TMPRSS2 細胞 (JCRB1819 VeroE6/TMPRSS2、JCRB Cell Bank) と合わせて培養して、各サンプルについて 50% 以上の細胞障害作用を呈する最大希釈値をカットオフとして算出した。SARS-CoV-2 を用いた上記の実験は国立感染症研究所のバイオセーフティーレベル 3 の施設内で行った。血漿サンプル中の RBD 抗体値は、RBD IgG 特異的酵素結合

免疫吸着測定法を用いて定量した。中和抗体価と RBD 抗体値の比を NPI とした。NBI は JPN/TY8-612 株（変異株）の NT を JPN/TY/WK-521 株の NT で除して求めた。連続変数は Shapiro-Wilk 検定で評価したデータ分布に従って平均値または中央値を示した。対応のある 2 群の検定は t 検定または Wilcoxon 検定で、対応のない 2 群の検定は t 検定または Mann-Whitney 検定で解析した。カテゴリー変数の比較は χ^2 検定または Fisher の正確検定で解析した。Time-to-event データは Kaplan-Meier 法で計算し、群間差の比較には log-rank 検定を使用した。両側 p 値 < 0.05 を統計的に有意とした。なお本研究は、東京品川病院倫理審査委員会(承認番号 20-A-08)の承認を得たものである。

結果

99 人の COVID-19 中等症症例が登録され、投与群は 34 人であった。各群 17 人について年齢、性別、Body Mass Index をマッチングさせた合計 34 人を検証の対象とした。対象者は退院後 25～150（中央値 56）日目に初診し、症状発現後最長 254（中央値 187）日目の受診日まで解析した。

両群ともに男性が多く（いずれも 76.5%）、年齢は 22 歳から 73 歳（投与群 49.6 ± 14.8 歳、対照群 50.1 ± 14.5 歳）であった。喫煙歴や、重症化因子とされる高血圧等の併存疾患、入院時の酸素飽和度、症状発現から診断までの時間も両群間で同等であった。favipiravir 投与開始の中央値は症状発現後 9（6～12）日であった。

まず favipiravir のウイルスクリアランスに与える影響について、投与群では症状発現時から PCR 陰性化までの期間が有意に短縮した（中央値 14.0（13.0～18.0）日 vs 18.0（13.8～28.0）日、 $p=0.049$ ）。しかし入院期間について有意差はなかった（中央値 17.0（15.8～21.3）日 vs 18.0（14.0～21.5）日、 $p=0.855$ ）。

次に favipiravir 投与による中和抗体産生および免疫応答への影響に

ついて、RBD 抗体値はいずれの時点でも両群間で有意差はなかった。回復期早期(180 日以下)と後期(180 日以上)で比較したところ、中和抗体価は対照群で急速に減少した一方で(早期 vs 後期、中央値 20 (10~20) vs 5 (3.1~17.5)、 $p=0.0002$)、投与群では有意な減少は認められなかった(早期 vs 後期、中央値 10 (5~20) vs 中央値 10 (5~10)、 $p=0.173$)。NPI は両群ともに経時的に上昇した(投与群:早期 vs 後期、平均 3.31 vs 9.26、 $p<0.0001$ 、対照群:早期 vs 後期、平均 3.37 vs 9.74、 $p=0.031$)。最後に変異株についての検討では、RBD 抗体値はいずれの期間においても有意差はなく、野生型と同様、経時的に減少した(投与群:早期 vs 後期、中央値 3.41 vs 0.86、 $p<0.0003$ 、対照群:早期 vs 後期、中央値 7.00 vs 0.90、 $p=0.003$)。興味深い点として投与群における変異株に対する NPI と NBI の平均値はとくに早期において対照群と比べ有意に高く(NPI 2.88 vs 8.20、 $p<0.0001$ 、NBI 0.31 vs 0.85、 $p=0.0001$)、経時的に増加を示した。

考察

本研究は中等度の COVID-19 患者における体液性免疫の持続に対する favipiravir の効果を検討した初めての症例対照研究である。投与群ではウイルスクリアランスの時間が有意に短縮した。入院期間の短縮は示されなかったが、これはいくつかの症例において治療開始が遅滞したことによる影響を考える。また NPI はより長期間の免疫応答や、変異株に対する交差反応性に対して重要な因子であると考えられるため、さらに長期間での評価を要すると考えられる。変異株に対しても favipiravir は回復期初期および後期のいずれにおいても中和抗体の生成を妨げず免疫応答の成熟を阻害しなかった。本研究は favipiravir の抗ウイルス薬としての評価の一助となる可能性がある。