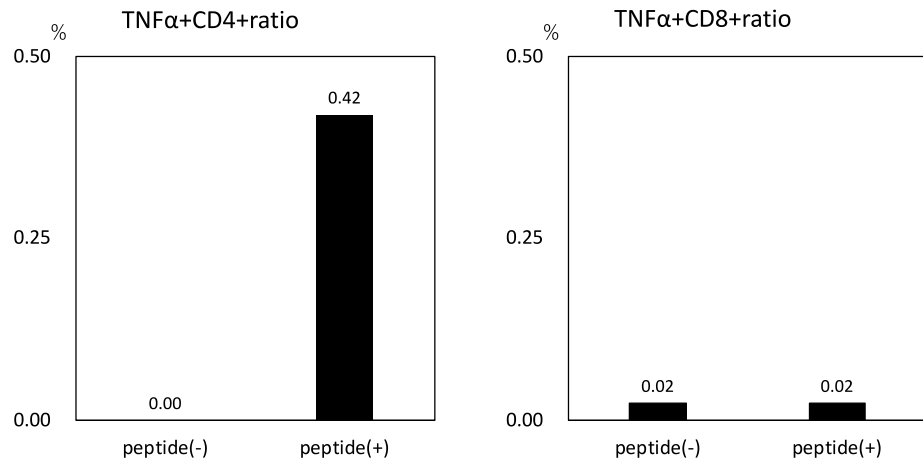


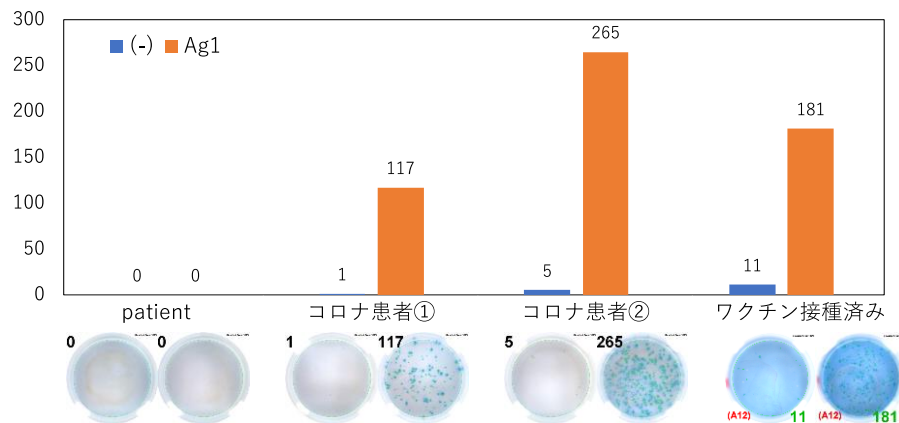
令和3年度京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書

	(所属)	(職名・学年)	(氏名)
研究者 (研究代表者)	京都府立医科大学小児科 (北部医療センター)	助教	中川 憲夫
研究の名称	丹後医療圏の小児におけるCOVID-19の不顕性感染実態の把握に係る研究		
研究の キーワード	小児 COVID19 EliSpot		
研究の概要	<p>COVID19不顕性感染者を把握するために行った令和2年度に抗体保有率の検定では少数の陽性者を把握することができた。しかし、形質細胞による抗原特異的 IgGの活発な分泌は時間経過とともに減少するため陰性者でも消失してしまっていた可能性がある。そこで今回は、抗体分泌細胞に直接焦点を当てたELISpot法を用いることで感度を高めて検定することでさらなる感染実態の解明を明らかにする。</p>		
研究の背景	<p>2019年に中国で端を発した新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、世界的に感染が蔓延し多くの感染者、死亡者を出す重大な感染症である。指定感染症に定められたCOVID-19は、クラスター等からの伝搬以外に、不顕性感染者を介した感染拡大が疑われている。前年行った研究で不顕性感染を疑わせる例が存在した。成人ではワクチン接種が進んでいるが、小児では一律の接種がおこなわれておらず、抗体価測定に変わる感染予防能の評価法としてEliSpot法が有用であると考えられた。</p>		
研究手法	<p>学童のIgG陽性者、COVID19罹患患者2名、COVID-19ワクチン接種済み健常者1名のリンパ球を、COVID-19スパイク蛋白で刺激し、IFN-γ 産生細胞をEliSpot法を用いて解析した。</p>		
研究の成果	<p>まず COVID-19 スパイク蛋白ペプチドプール抗原性を評価することとした。採取したリンパ球を COVID-19 スパイク蛋白ペプチドプールで刺激し、フローサイトメトリーで細胞表面マーカー、細胞内サイトカインを測定した。ワクチン接種者のリンパ球はペプチドプールで刺激した際に CD4+リンパ球において TNF-α 陽性細胞の増加が見られた。CSFE を用いて細胞増殖刺激を評価したが刺激の有無で差は認めなかった。</p>		



COVID-19に感作されたリンパ球がスパイク蛋白ペプチドプールにより活性化されることが明らかになったため、ペプチドプールによる刺激によるリンパ球からのIFN- γ の産生能を、ELISpotを用いて評価した。

先行研究で発覚した学童のIgG陽性者、COVID-19罹患者2名、COVID-19ワクチン接種済み健常者1名のリンパ球を解析した。COVID-19罹患者、ワクチン接種済み健常者は、COVID-19スパイク蛋白刺激によりIFN- γ 産生を行うリンパ球を循環血液中に保持していた。一方、学童のIgG陽性者はCOVID-19スパイク蛋白刺激ではIFN- γ 産生は誘導されなかった。



IgG抗体を保持していたにもかかわらずIFN- γ が誘導されなかったという結果は前回の結果が偽陽性だった可能性を示唆する。

今回、ワクチン接種で、自然感染と同様の獲得免疫が得られることが明らかとなった。ELISpot法はフローサイトメトリー法と比較してサイトカイン産生細胞を検出する感度が高いことが示唆された。ワクチン接種による抗体産生細胞は経時的に減少するため抗体濃度も時間とともに減少する。しかし、抗体濃度が大きく低下しても、記憶細胞が存在することで発症予防効果が保たれると予想される。現在ELISpot法の原理は結核診療にT-Spotとして用いられている。今回のように他の感染症にももちいることで感染症診療のさらなる臨床技術の発展が期待できる。

今後の期待	ワクチン接種による抗体産生細胞は経時的に減少するため抗体濃度も時間とともに減少する。しかし、抗体濃度が大きく低下しても、記憶細胞が存在することで発症予防効果が保たれると予想される。今回用いたEliSpot法は記憶細胞の機能を評価できる検査法であり、抗体測定法以外の発症予防能を評価するツールとなりうる。
研究発表	学会発表検討中