

3. SARS-CoV-2 に対する感染増強抗体

荒瀬 尚^{1,2,3)}

1) 大阪大学 微生物病研究所 免疫化学分野

2) 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫化学研究室

3) 大阪大学 感染症総合教育研究拠点

SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質の受容体結合ドメインに対する抗体は、中和抗体として感染防御に重要な機能を担っている。ところが、スパイクタンパク質の N 末端ドメインの特定の部位を認識する抗体は、ACE2 と結合性が高くなる開いた受容体結合ドメインが誘導し、SARS-CoV-2 の感染性を高める。さらに、この感染増強抗体が存在すると中和抗体の中和能が低下する。従って、新型コロナウイルスに対する抗体応答を考える場合、中和抗体ばかりでなく、感染増強抗体とのバランスを考慮する必要があることが明らかになってきた。そこで、本稿では、これまでに判明してきた感染増強抗体について紹介する。

はじめに

新型コロナウイルスのスパイクタンパク質の受容体結合部位 (RBD) に対する抗体は、ヒトの受容体である ACE2 との結合を阻害することにより、新型コロナウイルスの感染を抑える中和抗体として重要な機能を担っている^{2,4)}。最近の様々な変異株が中和抗体の認識部位に変異を獲得してきていることは、抗体がウイルスの排除に非常に重要な機能を担っているために、ウイルスが中和抗体に認識されない変異を獲得したと考えられる^{5,6)}。新型コロナウイルスワクチンも中和抗体の産生誘導能をもとに最適化されている。一方、スパイクタンパク質は 1000 アミノ酸以上からなる大きなタンパク質であり、中和抗体以外にスパイクタンパク質に対する多くの抗体が産生されるが、これまでそれらの抗体の詳細な機能は明らかでない^{2,4)}。

一方、上記のように ACE2 との結合を阻害する RBD に対する抗体は、中和抗体として重要であると考えられてきたが、最近 NTD に対する抗体にも多くの中和抗体があることが報告されている^{7,8,9,10,11)}。実際、モデル動物を用い

た感染実験においても、NTD に対する中和抗体は高い抑制効果を示す。さらに、野生型 (武漢型) の RBD に対する中和抗体は、アルファ株、ベータ株、デルタ株等ほとんどの変異株に対して、一部の中和抗体のみが結合できなくなるが、その他の大部分の中和抗体は認識できる。一方、野生型の NTD に対する中和抗体の多くは変異株にほとんど結合できなくなっている。このことは、SARS-CoV-2 にとって、RBD に対する中和抗体以上に NTD に対する中和抗体が、感染防御に重要な機能を担っていることを示唆する。従って、SARS-CoV-2 に対する中和抗体を考える場合、RBD に対する中和抗体ばかりでなく NTD に対する中和抗体も重要であると思われる。

この様に抗体は中和抗体としてウイルス感染防御に重要な機能を担う一方で、ウイルスに対する抗体によって感染が増悪する現象が知られており、その現象は抗体依存性感染増強 (ADE) と言われている。ADE はデングウイルス等で知られており、一度デングウイルスに感染した後、異なる型のデングウイルスに感染すると、最初の感染によって産生された抗体によって重症化する場合がある¹²⁾。また、コロナウイルスの一つである猫伝染性腹膜炎ウイルスにおいても、ウイルスに対する抗体が増悪因子になることが報告されている^{13,14)}。これらの抗体による感染増強には、ある種の免疫細胞が発現している Fc 受容体が関与していると考えられてきた。すなわち、ウイルス粒子に結合した抗体が細胞の Fc 受容体に結合すると、Fc 受容体を介してウイルス感染を引き起こされる。しかし、これらの Fc 受容体を介した感染は、Fc 受容体を発現した特定の免疫

連絡先

〒 565-0871

大阪府吹田市山田丘 3-1

TEL: 06-6879-8291

FAX: 06-6879-8290

E-mail: arase@biken.osaka-u.ac.jp

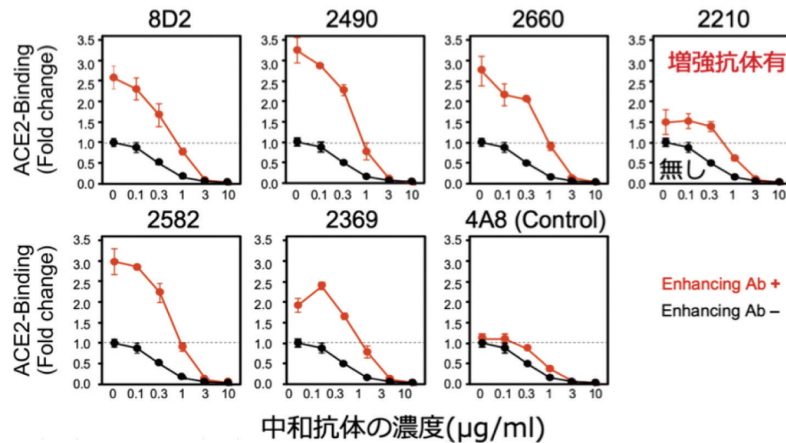


図1 感染増強抗体の中和抗体に与える影響

RBD に対する中和抗体 (C144) は ACE2 の結合性を濃度依存性に阻害する (黒). 高濃度の中和抗体の存在化では感染増強抗体による ACE2 の結合性の増加は見られなかったが, 低濃度の中和抗体の存在化では, 中和活性が減弱し, 感染増強作用が認められた (Liu et al Cell 2021 より改変¹⁾).

細胞に限定されるため, 体の中の多くの細胞の感染にはあまり関与していないと考えられてきた.

そこで, 我々は, COVID-19 患者で産生される抗体の機能を解明するために, COVID-19 患者の免疫細胞からクローニングされたスパイクタンパク質に対する中和抗体遺伝子をヒト細胞に発現させて用意した 76 種類のスパイクタンパク質に対する抗体の機能を詳細に解析した. その結果, 今までに知られていた Fc 受容体を介した抗体依存性感染増強とは全く異なり, ウイルス粒子に結合するだけで感染性を Fc 受容体非依存性に高める抗体が存在することが明らかになった¹⁾.

感染増強抗体

スパイクタンパク質は N 末領域 (NTD), RBD, S2 から構成される. 新型コロナウイルスはスパイクタンパク質の RBD が宿主細胞の受容体である ACE2 に結合することで, 膜融合が引き起こされ, 宿主細胞に感染する^{15,16)}. 新型コロナウイルスに感染するとスパイクタンパク質の様々な部位に対する抗体が産生される. 実際, COVID-19 患者の免疫細胞から同定された 76 種類のスパイクタンパク質に対する抗体を解析すると, RBD に対する抗体の多くはスパイクタンパク質への ACE2 の結合を阻害する. 一方, S2 に対する抗体は ACE2 の結合性に影響を与えない. ところが, NTD に対する抗体の中に ACE2 の結合性を増加させる抗体が 6 種類存在することが判明した¹⁾. さらに, これらの抗体の SARS-CoV-2 感染への影響を解析すると, これらの抗体は SARS-CoV-2 のヒト細胞への感染性を顕著に増加させることが判明した. これらの抗体による感染性の増加は, 抗体によるスパイクタンパク質へ

の直接的な影響であり, Fc 受容体は関与していない. 従って, 今までに知られていた抗体依存性感染増強とは全く異なる新たな機序で感染性を高める抗体である¹⁾. 以下ではこれらの ACE2 との結合性を高めて, SARS-CoV-2 の感染性を高める抗体を感染増強抗体と呼ぶ.

RBD に対する中和抗体はスパイクタンパク質に対する ACE2 の結合を阻害する. そこで, 感染増強抗体の中和抗体に与える影響を解析した. その結果, 感染増強抗体は, 中和抗体による ACE2 結合阻害能を減弱させることが判明した. つまり, 感染増強抗体が産生されると, 中和抗体の中和活性が低下することが判明した (図 1).

次に, 感染増強抗体の認識部位を明らかにするために, 6 種類の感染増強抗体を用いて競合阻害実験を行なった結果, いずれの感染増強抗体も互いに競合阻害することから, 感染増強抗体は NTD の近接した領域を認識すると考えられる. 実際, NTD のアミノ酸をアラニンへ置換することによって, 感染増強抗体のエピトープの解析を行うと, 感染増強抗体はいずれも NTD の特定の部位を認識することが明らかになった (図 2). さらに, 抗体の結合様式を解析するためにクライオ電子顕微鏡法にて, 抗体とスパイクタンパク質との複合体を解析すると, 感染増強抗体は NTD の下面に結合することが判明した¹⁾. また, 感染増強抗体のエピトープは, ほとんどの変異株で保存されており, 野生型 NTD に対する感染増強抗体は, 変異株に対しても増強作用を示す^{1,17)}. また, 同様な感染増強抗体は, Li らも報告し, クライオ電顕解析の結果, 我々が同定した感染増強抗体とほぼ同じ部位に結合することが明らかになった⁹⁾.

一方, 感染増強抗体の生体内での機能についてはまだ十

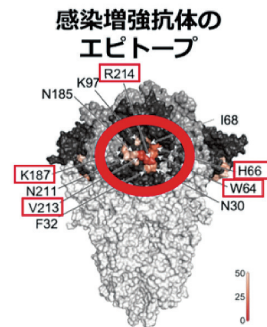


図2 新型コロナウイルスに対する感染増強抗体のエピトープ

新型コロナウイルスに対する感染増強抗体は、全てスパイクタンパク質の特定の部位を認識する (Liu et al *Cell* 2021 より改変¹⁾).

分明らかではない。Liらの報告では、マウスやサルを用いた実験では、感染増強作用は示さなかったが、彼らは、エフェクター活性の最も強いヒト IgG1 型感染増強抗体を用いた。最近、IgG1 型中和抗体の抗ウイルス活性には、抗体の Fc 受容体との結合が重要であり、Fc 結合領域を変異させた中和抗体や、Fc 受容体を欠損したマウスでは中和活性が顕著に減弱することが報告されている^{8,18,19)}。従って、スパイクタンパク質に対する中和抗体の抗ウイルス活性は、ACE2 との結合阻害作用より、NK 細胞等の Fc 受容体を発現している細胞によるエフェクター機能の方が重要である可能性が考えられる。実際、抗体カクテル薬を COVID-19 感染患者に投与すると一過性に発熱することが報告されており、ウイルス感染細胞に対するエフェクター活性による可能性が考えられる。従って、IgG1 型感染増強抗体もエフェクター活性によって感染防御に働く可能性があるため、今後、感染増強抗体の機能を明らかにするためには、エフェクター活性の低い抗体である IgG2, IgG4, IgA の感染増強抗体を用いた機能解析が必要であると考えられる。

抗 NTD 感染増強抗体による感染増強のメカニズムについての解析

抗 NTD 感染増強抗体がスパイクタンパク質に結合するとなぜ ACE2 との結合性が高まるかが重要である。スパイクタンパク質の RBD は開いた構造をとるとことにより、受容体である ACE2 に結合しやすくなり、感染性が高まる。スパイクタンパク質は 3 量体であり、1 分子のスパイクタンパク質には 3 個の RBD が存在するが、そのうち一部の RBD のみが開いた構造をとる。そこで、開いた RBD に特異的な H014 抗体を用いて感染増強抗体の影響を解析すると、感染増強抗体が NTD の感染増強部位に結合すると H014 抗体で認識されるようになる。一方、NTD の別の部位を認識する抗体では、H014 抗体の結合性は増加しない。

また、高親和性の感染増強抗体の Fab と F(ab)₂ フラグメントを解析すると、双方とも同程度にスパイクタンパク質に結合するにも関わらず、F(ab)₂ のみが開いた RBD を誘導して感染を増強する。スパイクタンパク質は膜上で可動性の高い分子であるため、抗体が NTD に結合することで NTD 同士が抗体で架橋されると、スパイクタンパク質の動きに伴って NTD が引っ張られ、その結果、RBD が開いた構造をとり感染性が高くなる可能性が考えられる。これらのことから、スパイクタンパク質の NTD は RBD の機能を制御する重要な機能領域であると考えられる (図 3)。

COVID-19 患者における感染増強抗体

COVID-19 患者における感染増強抗体を解析するために、競合阻害法を用いて血清中の感染増強抗体測定する方法を開発した。実際、感染増強抗体は、感染後に中和抗体の増加とともに増加する。また、重症患者では感染増強抗体が高い傾向が認められる。また非感染者においても感染増強抗体を持っている人がわずかに存在する。従って、感染増強抗体を持っている人が新型コロナウイルスに感染することで、感染増強抗体の産生が高まる可能性が考えられるが、感染増強抗体の産生と重症化との関連には、さらに解析が必要であると思われる。

COVID-19 ワクチンと感染増強抗体

現行の COVID-19 ワクチンは野生型のスパイクタンパク質で作られている。従って、COVID-19 ワクチンを接種すると上記の感染患者と同様に感染増強抗体が産生される。しかし、感染増強抗体は RBD に対する中和抗体が十分存在すると作用しない¹⁾。デルタ株以前の多くの変異株は、NTD の変異が多く、野生型に対する NTD の中和抗体はほとんど機能しないが、RBD の変異は限られており、野生型の RBD に対する中和抗体は十分作用する。従って、

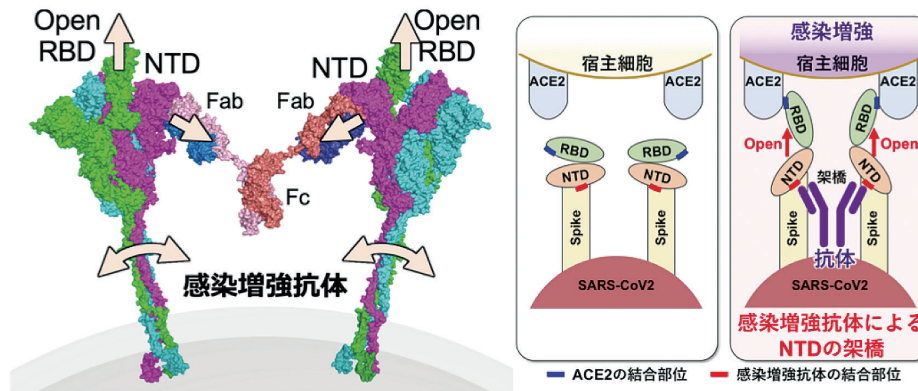


図3 感染増強抗体の作用機序

感染増強抗体のFabフラグメントは、通常の抗体と同様にスパイクタンパク質に結合するにも関わらず、感染増強作用は認められない。一方、F(ab)₂フラグメントは感染増強効果を示すことから、抗体によってNTDが架橋され、牽引されることで開いたRBDが誘導され、その結果感染性が増強するという抗体の全く新たな機能が明らかになった (Liu et al *Cell* 2021より改変¹⁾)。

現行のCOVID-19ワクチンが武漢型のスパイクタンパク質で作られていてもオミクロン株以外のほとんどの変異株に対して中和活性は十分示す。また、mRNAワクチンでは、キラーT細胞等による細胞性免疫を強力に誘導するのが特徴である。従って、中和抗体が十分作用しなくてもワクチンとしての効果は充分みられる可能性がある。

2021年11月において、日本ではデルタ株が蔓延しているが、デルタ株のスパイクタンパク質を解析すると、我々が解析した16種類の野生型NTDに対する中和抗体は、どれも結合性を失っていたが、野生株のRBDに対する中和抗体は多くが認識できる¹⁷⁾。従って、デルタ株に対しては、野生型スパイクワクチンを接種して産生された中和抗体は、主にRBDに対する中和抗体が作用していると考えられる。つまり、デルタ株のRBDの中和抗体のエピトープに変異が進むと、現行のワクチンで産生された中和抗体が全く作用しなくなることが予想される。そこで、GISAIDのデータベースで、デルタ株のRBDの変異獲得状況を解析すると、様々な変異が急激に増えていることが判明した¹⁷⁾。デルタ株のRBDのK417に変異が入ったものはデルタプラスとして知られているが、それ以外にも、他の中和抗体のエピトープに変異が入った株が複数存在する。さらに、中和抗体のエピトープに変異が2種類、3種類入った変異株が出現し始めている。そこで、RBDに対する中和抗体の機能を解析するために、RBDの主要な中和抗体のエピトープ4種類に変異を加えたスパイクタンパク質を解析すると、実際ほとんどのRBDに対する中和抗体は認識できなくなる。そこで、この様なRBDに複数の変異が入ったスパイクタンパク質のシュドウイルスを解析すると、多くのワクチン接種者の血清で中和活性が顕著

に低下することが判明した。さらに、ワクチン接種者の血清は、比較的低濃度で濃度依存性に感染性を高める血清がかなり存在する。一方、濃度が高くなると急に中和活性を示す様になる。感染増強抗体の作用を抑えるのに必要な中和抗体の閾値が存在するため、一定濃度以下に中和抗体が下がると、急に増強抗体が優位になる可能性が考えられる。従って、ワクチンを接種して時間が経過して中和抗体が次第に低下したり、中和抗体が十分産生されなかったりした場合は、感染増強抗体が優位になる可能性が考えられる。一方、RBDの中和抗体のエピトープに変異を加えてもNTDを野生型にすると増強作用が見られることはなかったことから、デルタ株が中和抗体に抵抗性の原因にはNTDのユニークな変異が関与していると考えられる¹⁷⁾。

現在のところ、中和抗体のエピトープが全て変異したデルタ株は存在しないが、RBDに3種類の変異が入ったデルタ株は既に出現し始めている¹⁷⁾。また、2021年12月から急増しているオミクロン株では、さらに多くの変異がRBDに挿入され多くの中和抗体が作用しない可能性が考えられる。そこで、この様なデルタ株が出現した際にどの様なスパイクタンパク質をワクチンの抗原として用いるのが良いかを調べるために、マウスに野生型スパイク、デルタ型スパイクを免疫して、産生された抗体を解析すると、野生型スパイクを免疫したマウスの血清では、ワクチン接種者と同様に感染性を増強する抗体を産生するマウスも見られたが、デルタ型スパイクを免疫したマウスでは、野生型、デルタ型、抗RBD中和抗体のエピトープに変異を加えたデルタ株のどれに対して高い中和活性を示す抗体の産生が認められた¹⁷⁾。従って、今後、デルタ株の変異が進み感染性がさらに高くなった場合は、デルタ型のスパイク

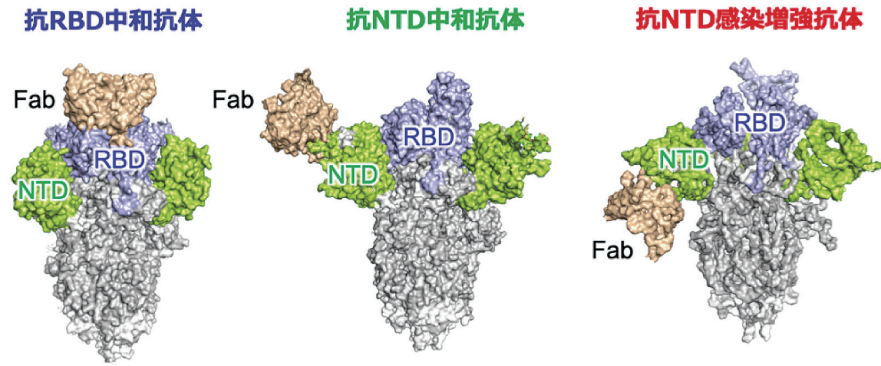


図4 新型コロナウイルスに対する抗体

新型コロナウイルスのスパイクタンパク質に対する機能性抗体には、抗RBD中和抗体、抗NTD中和抗体、抗NTD感染増強抗体の3種類があり、抗体の影響を解析するためには、少なくともこれら3種類の抗体の影響を考慮する必要がある。

を基にしたワクチンを開発する必要があると思われる。おそらく、オミクロン株においても、オミクロン型スパイクを免疫したほうが有効な中和抗体が産生されることが期待される。今後は、複数の変異株のスパイクを混合した多価のワクチン開発が重要であると思われる。

<まとめ>

RBDに対する中和抗体ばかりでなく、NTDに対する中和抗体、NTDに対する感染増強抗体が存在することが明らかになってきた(図4)。特に、新型コロナウイルスのスパイクタンパク質の特定の部位に抗体が結合するとスパイクタンパク質の構造が変化して新型コロナウイルスの感染性が高まる。また、重症患者では感染増強抗体の産生が高い傾向があり、感染増強抗体の産生が重症化に関与している可能性もある。さらに、ワクチン接種血清においても、今後デルタ株の変異が進むことで、中和活性が完全になくなり、増強能を示す様になる可能性がある。しかし、実際に感染増強抗体が体内で感染増悪に関与しているかはまだ不明であり、今後の詳細な解析が必要である。また、これまで機能が不明であったNTDがスパイクタンパク質の機能を制御している重要な領域であることが明らかになった。実際、最近の多くの変異株にはNTDにも多くの変異が認められることから、RBDの機能に影響を与えている可能性がある。今後はRBDのみでなく、NTDを標的とした感染制御法の開発も重要であると考えられる。また、このような抗体による感染増強のメカニズムは、他のウイルスでも存在する可能性があり、今後のさらなる研究が重要である。

利益相反

本研究に関連して、Hula immune株式会社より共同研究費を受給している。

参考文献

- 1) Liu Y, Soh WT, Kishikawa JI, et al: An infectivity-enhancing site on the SARS-CoV-2 spike protein targeted by antibodies, *Cell* 2021; 184: 3452.
- 2) Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, et al: Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability, *Science* 2020; 369: 643.
- 3) Robbiani DF, Gaebler C, Muecksch F, et al: Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals, *Nature* 2020; 584: 437.
- 4) Zost SJ, Gilchuk P, Chen RE, et al: Rapid isolation and profiling of a diverse panel of human monoclonal antibodies targeting the SARS-CoV-2 spike protein, *Nat Med* 2020; 26: 1422.
- 5) Wang P, Nair MS, Liu L, et al: Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7, *Nature* 2021; 593: 130.
- 6) Supasa P, Zhou D, Dejnirattisai W, et al: Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant by convalescent and vaccine sera, *Cell* 2021; 184: 2201.
- 7) Chi X, Yan R, Zhang J, et al: A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2, *Science* 2020; 369: 650.
- 8) Suryadevara N, Shrihari S, Gilchuk P, et al.: Neutralizing and protective human monoclonal antibodies recognizing the N-terminal domain of the SARS-CoV-2 spike protein, *Cell* 2021; 184: 2316.
- 9) Li D, Edwards RJ, Manne K, et al: In vitro and in vivo functions of SARS-CoV-2 infection-enhancing and neutralizing antibodies, *Cell* 2021; 184: 4203.
- 10) Voss WN, Hou YJ, Johnson NV, et al: Prevalent, protective, and convergent IgG recognition of SARS-CoV-2 non-RBD spike epitopes, *Science* 2021; 372: 1108.
- 11) Liu L, Wang P, Nair MS, et al: Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike, *Nature* 2020; 584: 450.

- 12) Wang TT, Sewatanon J, Memoli MJ, et al.: IgG antibodies to dengue enhanced for Fc γ RIIIA binding determine disease severity, *Science* 2017; 355: 395.
- 13) Weiss RC, Scott FW: Antibody-mediated enhancement of disease in feline infectious peritonitis: comparisons with dengue hemorrhagic fever, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1981; 4: 175.
- 14) Vennema H, de Groot RJ, Harbour DA, et al.: Early death after feline infectious peritonitis virus challenge due to recombinant vaccinia virus immunization, *J Virol* 1990; 64: 1407.
- 15) Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al.: SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor, *Cell* 2020; 181: 271.
- 16) Shang J, Wan Y, Luo C, et al.: Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117: 11727.
- 17) Liu Y, Arase N, Kishikawa J-i, et al.: The SARS-CoV-2 Delta variant is poised to acquire complete resistance to wild-type spike vaccines, *bioRxiv* 2021: DOI: 2021.08.22.457114.
- 18) Winkler ES, Gilchuk P, Yu J, et al.: Human neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 require intact Fc effector functions for optimal therapeutic protection, *Cell* 2021; 184: 1804.
- 19) Schafer A, Muecksch F, Lorenzi JCC, et al.: Antibody potency, effector function, and combinations in protection and therapy for SARS-CoV-2 infection in vivo, *J Exp Med* 2021; 218.

Infectivity-enhancing antibodies against SARS-CoV-2

Hisashi ARASE^{1,2,3)}

- 1) Department of Immunochemistry, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka, 565-0871, Japan.
- 2) Laboratory of Immunochemistry, World Premier International Immunology Frontier Research Centre, Osaka University, Osaka, 565-0871, Japan.
- 3) Center for Infectious Disease Education and Research, Osaka University, Osaka, 565-0871, Japan

Antibodies against the receptor binding domain of the spike protein of SARS-CoV-2 play an important role in preventing infection as neutralizing antibodies. However, antibodies that recognize a specific site on the N-terminal domain of the spike protein induce an open domain of receptor binding that increases the binding of ACE2 and enhances the infectivity of SARS-CoV-2. Furthermore, the presence of the infectivity-enhancing antibodies reduces the neutralizing activity of the neutralizing antibodies. Therefore, when considering the antibody response to SARS-CoV-2, it is necessary to consider not only neutralizing antibodies but also the balance between neutralizing and infectivity-enhancing antibodies. In this article, function and mechanism of infectivity-enhancing antibodies are introduced.