

2022 年度

博士学位論文

新型コロナウイルスに対するワクチン接種後の喫煙者の抗体反

応：タバコの依存性に基づく評価

**Antibody response of smokers to the SARS-CoV-2 vaccination:**

**Evaluation based on cigarette dependence**

中部大学大学院

生命健康科学研究科 生命医科学専攻

森 幸弘

## 目次

論文要旨-----	4
第一節 背景および目的-----	6
第一項 新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の動向と特徴-----	6
第二項 SARS-CoV-2 に対する mRNA ワクチンの普及と有効性-----	9
第三項 mRNA ワクチン接種後の抗体価に影響する要因-----	11
第四項 喫煙による mRNA ワクチン接種後の抗体価への影響-----	12
第五項 本研究の目的と仮説-----	14
第二節 材料および方法-----	16
第一項 研究参加者-----	16
第二項 調査項目-----	17
第三項 タバコ依存度の評価方法-----	18
第四項 血液サンプルの採取方法-----	20
第五項 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG の測定方法-----	21

第六項	血清コチニン濃度の測定方法-----	22
第七項	統計解析-----	23
第八項	倫理的配慮-----	24
第三節	結果-----	25
第一項	参加者の特性-----	25
第二項	Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG の測定結果-----	27
第三項	Fagerstrom Test for Nicotine Dependence (FTND) の測定結果-----	30
第四項	血清コチニン濃度の測定結果-----	33
第五項	FTND と Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG との相関-----	36
第六項	FTND と血清コチニン濃度との相関-----	38
第七項	血清コチニン濃度と Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG との相関-----	40
第4節	考察-----	42
第一項	タバコ依存性と mRNA ワクチン接種後の抗体価との関連-----	43
第二項	血清コチニン濃度と mRNA ワクチン接種後の抗体価との関連---	45

第三項 本研究の限界と長所-----	48
第5節 結論-----	50
付録：新型コロナウイルス感染症パンデミック下における当研究室の貢献--	51
謝辞-----	55
研究業績-----	56
参考文献-----	60

## 論文要旨

### 新型コロナウイルスに対するワクチン接種後の喫煙者の抗体反応：タバコの依存性に基づく評価

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) に対する mRNA ワクチン接種後、喫煙者は非喫煙者と比較して低い抗体価を示す可能性が指摘されている。一方、mRNA ワクチンを接種した喫煙者の中で、タバコに対する依存性に基づいて抗体価を評価した研究はない。

本研究では、SARS-CoV-2 に対する mRNA ワクチンである BNT162b2 (Pfizer/BioNTech) を接種した喫煙者の抗体 (Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG) レベルについて、タバコ依存性および血清コチニン濃度との関連を明らかにすることを目的とした。本研究では、喫煙者において、タバコ依存性が強い者、また血清コチニン濃度が高い者ほど、mRNA ワクチン接種後の Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルが低いとの仮説を立て、検証を行った。

結果、喫煙者における mRNA ワクチン接種後の Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルは、タバコ依存性スコア (Fagerstrom Test for Nicotine Dependence) との間で有意な負の相関を示した。一方、血清コチニン濃度と Anti-SARS-CoV-

2 S-RBD protein IgG レベルには有意な相関を認めなかった。

本研究では、喫煙者のタバコへの強い依存性による喫煙行動の蓄積が、mRNA ワクチン接種後の低い抗体価に繋がる可能性を示唆した。また、タバコに含まれている mRNA ワクチン接種後の低い抗体価に影響を与える因子は、ニコチンに限局しない可能性を示唆した。

## 第一節 背景および目的

### 第一項 新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の動向と特徴

2019年に、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の原因となる重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2（SARS-CoV-2）が報告されて以降、世界では前例のないパンデミックを引き起こしている<sup>1,2</sup>。これは、5,000万人以上の死者を出した1918年のインフルエンザ・パンデミック以来、社会、経済、医療システム、人々の健康に対し、世界的に深刻な影響を及ぼしている。

SARS-CoV-2は、主に密接な接触、飛沫、媒介物、汚染された表面を通してヒトからヒトに感染することが知られている<sup>3-5</sup>。また、かねてより空気感染の可能性も指摘されている<sup>6</sup>。SARS-CoV-2に初めて感染した後の潜伏期間は、約2～14日と報告され、年齢層や合併症の有無によって異なる可能性がある<sup>7</sup>。SARS-CoV-2は、SARS-CoVおよびMERS-CoVと同様に、主に気道に感染し、軽度の呼吸器感染症から重症急性呼吸器症候群までの症状をもたらし、さらには一部の患者で多臓器不全を引き起こし、最終的に死に至る場合もある<sup>8</sup>。COVID-19の最も一般的な症状は、発熱、咳嗽、疲労、呼吸困難などであり、症状が重症化すると全身感染や肺炎を合併する場合もある<sup>9</sup>。

COVID-19のクラスター感染は、家庭内<sup>10</sup>、地域社会<sup>11</sup>、老人ホーム<sup>12</sup>、教育

機関<sup>13</sup>など、あらゆる集団、コミュニティで発生している。また、スポーツによる交差感染の危険性も指摘されている<sup>14</sup>。さらには、COVID-19 感染が繰り返された大学の運動部において、無症候性 COVID-19 感染者が一定割合で存在することが報告された<sup>15</sup>。

このように、COVID-19 はあらゆる環境において蔓延し、人々のライフスタイルを一変させている。日本では、感染拡大を食い止めるため、2020 年の東京オリンピックをはじめとするイベントや、集会在延期・中止され、外出の制限やオンラインによる学業、在宅勤務などが奨励された。日本政府は、日常生活において、人と人との距離をできるだけ保つ、直接話すことはできるだけ避けるなど、「密閉」、「密集」、「密接」の「3密」を避けるよう呼びかけている<sup>16</sup>。その他の感染予防対策として、マスクの着用、手洗いなどの基本的な衛生管理、毎日の健康チェックなどが挙げられる。このような対策が続けられているにもかかわらず、日本では、2022 年 12 月現在、COVID-19 の累計感染者数は 2,400 万人に達し、4 万 9 千人以上の死亡者が報告され、今もなお蔓延は続いている。

長期間に及ぶ COVID-19 蔓延の大きな要因のひとつには、SARS-CoV-2 の新たな変異株の出現があげられる。具体的に、アルファ (B.1.1.7、英国)、ベータ (B.1.351、南アフリカ)、ガンマ (P.1、ブラジル)、デルタ (B.1.617.2、インド)、



オミクロン (B.1.1.529、ボツワナ) などの変異株では、免疫回避に繋がる変異が認められている<sup>17</sup>。抗ウイルス剤、特異的モノクローナル抗体などの治療手段の選択的圧力の影響により、SARS-CoV-2 の変異はゲノム複製とともに絶えず進化する、変異率は急激に加速している<sup>18</sup>。SARS-CoV-2 変異株の出現は、ウイルスの感染性、疾患の重症度、再感染率に大きな懸念をもたらし、受容体結合ドメイン (RBD) を標的とするモノクローナル抗体や、感染やワクチン接種によって誘発されるポリクローナル抗体の効果に影響を及ぼすことが指摘されている<sup>18,19</sup>。

## 第二項 SARS-CoV-2 に対する mRNA ワクチンの普及と有効性

COVID-19 パンデミックによる深刻な状況に対し、SARS-CoV-2 感染に対する予防戦略として、効果的な予防ワクチンの迅速な開発が必要となった。その結果、2020 年 12 月に、BNT162b2 (Pfizer/ BioNTech) および mRNA-1273 (Moderna) の緊急使用が、米食品医薬品局 (Food and Drug Administration : FDA) によって許可された<sup>20,21</sup>。この当時の有効性試験の結果、BNT162b2 を 21 日間隔で 2 回接種した人々は、COVID-19 に対する 95% の保護力を有することが示された<sup>22</sup>。以来、SARS-CoV-2 の蔓延を防止または抑制させるため、公衆衛生と感染管理措置を課すことの重要性に加え、ワクチン接種は世界各国で SARS-CoV-2 に対抗するための重要なアプローチのひとつに位置づけられている<sup>23</sup>。

日本では、mRNA ワクチンの優先接種が、2021 年 2 月上旬から約 480 万人の医療従事者に対して開始された。同年 4 月上旬からは、約 3,600 万人の高齢者を対象に接種が始まり、5 月から全国民が対象となった。2021 年 4 月時点で、東京オリンピック・パラリンピックを控えた日本の接種率は 4%であった<sup>24</sup>。その後、2021 年 10 月当時には、接種者は 7,700 万人を超え、対象者の約 61%に達した<sup>25</sup>。

SARS-CoV-2 は、エンベロープ型一本鎖 RNA (ssRNA) ウイルスで、表面には

スパイク状の糖タンパク質（S タンパク）が発現している<sup>26</sup>。SARS-CoV-2 の S タンパクは、ヒト細胞上のアンジオテンシン変換酵素 2（ACE2 受容体）に高い親和性で結合する主要な表面タンパク質である<sup>27,28</sup>。そのため、S タンパク、特に S1 受容体結合ドメイン（S-RBD）は、中和抗体の主要な標的とされる<sup>29-33</sup>。BNT162b2 および mRNA-1273 は、この S タンパク質を標的抗原として開発された mRNA ワクチンである。

先行研究において、この 2 つ mRNA ワクチンの有効性として、COVID-19 の予防と、重症化のリスクを軽減することが強調されている<sup>34</sup>。本研究を実施した当時、日本では 3 回目以降の mRNA ワクチン接種はまだ進んでいなかったが、対象者が 80 万人以上の規模で行われた最近の研究では、BNT162b2 の 2 回目の投与から少なくとも 5 カ月後に 3 回目のブースター接種を受けた群は、対象群に比べて、COVID-19 による死亡率が 90%低下したといった結果が報告されている<sup>35</sup>。さらに、COVID-19 の流行を封じ込め、感染を予防する最も重要な対策として、従来のマスクなど非薬物介入による感染予防とともに、ワクチン接種を組み合わせることで相乗効果が期待されることが示唆されている<sup>36</sup>。

### 第三項 mRNA ワクチン接種後の抗体価に影響する要因

日本国内において、SARS-CoV-2 の感染拡大を制御するため、政府の主導により mRNA ワクチンの普及は急速に進んだが、予防医学研究の分野では、よりワクチンの効果が発揮されるために、抗体価に影響を与える因子を探ることが重要な研究課題である。そのため、これまでに、mRNA ワクチン接種後の低い抗体価に影響する要因について複数の研究が行われている。

その例として、加齢による影響が指摘されている。BNT162b2 ワクチン接種者を観察した先行研究では、年齢と抗体価には負の相関があったと報告されている<sup>37,38</sup>。性別による影響も指摘されてきた。先行研究では、BNT162b2 または mRNA-1273 を接種した集団において、接種後の抗体価は男性よりも女性が有意に高かったと報告している<sup>39</sup>。その他に、中枢性肥満や高血圧があること<sup>40</sup>、ステロイドの使用<sup>41-43</sup>、飲酒<sup>44</sup>などが抗体価を低くする因子として指摘されている。

#### 第四項 喫煙による mRNA ワクチン接種後の抗体価への影響

第三項で述べた mRNA ワクチン接種後の抗体価に影響する因子に加え、抗体価に影響を与える生活習慣として、喫煙者の抗体価は非喫煙者に比べて低いことが指摘されている<sup>38,40,45</sup>。これは、予防医学の観点からも COVID-19 パンデミック中における重要な問題と考えられる。

先行研究では、喫煙は平均余命を短縮し、全体的な医療費を増加させ、生産性の低下に寄与することが示され<sup>46</sup>、喫煙が人間の健康や社会に対して及ぼす有害な影響は明確に認識されている。また、喫煙によって起きるニコチンへの長期曝露により、免疫機能が抑制される問題が報告されている<sup>47-49</sup>。さらに具体的には、長期喫煙が免疫グロブリンの血清レベルを大幅に低下させることが以前から示唆されている<sup>50,51</sup>。インフルエンザワクチンに関する先行研究においても、喫煙者では接種後の抗体価は急速に低下することが指摘されている<sup>52</sup>。喫煙による免疫制御に関するメカニズムについては、タバコは慢性炎症を誘発し、抗原特異的な抗体を産生する CD4+ T 細胞や B 細胞を下方制御すると指摘されている<sup>51</sup>。さらに、樹状細胞にも悪影響を与え、宿主の免疫応答を抑制することが報告されている<sup>53</sup>。ただし、タバコの煙には、ニコチンに加えて、タールや一酸化炭素など、非常に多くの有害成分が含まれている。そのため、mRNA ワクチン

接種後の、喫煙による免疫調節の原因となる物質やメカニズムの特定は難しく、  
明確には解明されていない状況にある。

興味深いことに、先述の通り、先行研究では、非喫煙者に比べ喫煙者が mRNA  
ワクチン接種後の抗体価が低くなると指摘されているが、喫煙者の抗体価を観  
察した先行研究<sup>38,40</sup>では、喫煙者の中でも抗体価には個人差が見受けられる。  
現状、SARS-CoV-2 に対する mRNA ワクチン接種後の抗体価と喫煙に関する知  
見は極めて限定的であり、喫煙者のどのような特性が mRNA ワクチン接種後の  
抗体価に影響するのかについてはほとんど解明されておらず、重要な検討課題  
のひとつと考えられる。

## 第五項 本研究の目的と仮説

これまでに示した通り、喫煙による mRNA ワクチン接種後の抗体価に対する悪影響が指摘されている。しかしながら、喫煙者によってタバコに対する依存性の重症度には個人差があり、また、ニコチンへの曝露レベルも変動する可能性がある<sup>54</sup>。ところが、喫煙者の中で、mRNA ワクチン接種後の抗体価に対するタバコ依存性や体内のニコチンレベルによる影響を調べた研究はなく、本研究ではこの点に着目した。

そこで、本研究では、BNT162b2 を接種した喫煙者の抗体 (Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG) レベルについて、タバコ依存性との関連を明らかにすることを第一の目的とした。さらに、ニコチンの代謝物質である血液中のコチニンレベルと抗体価の関連を明らかにすることを第二の目的とした。タバコ依存性は習慣的なニコチンの摂取と密接に関連することが指摘されている<sup>55-59</sup>。本研究では、喫煙者において、タバコ依存性が強い者、また血清コチニン濃度が高い者ほど、mRNA ワクチン接種後の Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルが低いといった仮説を立て、検証を行った。

喫煙者のタバコへの依存性を評価する指標として、最も広く活用されるスケールのひとつが Fagerstrom Test for Nicotine Dependence (FTND)<sup>60</sup> である。FTND

は、被験者の自己申告によって算出されるが、遺伝的素因<sup>61</sup>や癌患者<sup>62</sup>とタバコ依存性との関連など、科学的な検証において積極的に使用されている。したがって、本研究ではタバコへの依存性を評価する指標として FTND を採用した。

ニコチンによる免疫機構への影響は、これまでの研究でも示されてきた<sup>51,63,64</sup>。ただし、ニコチンは半減期が短いため、タバコの煙への曝露のマーカーとしては使用しにくい。一方、コチニンは、約 10~30 時間の長い半減期を持ち<sup>65</sup>、喫煙状況を評価するために、複数の研究で用いられている<sup>66,67</sup>。そのため、本研究では、客観的指標として血清コチニン濃度を採用した。

本研究で対象とした集団は、消防署に勤務する消防士、救急隊員、救助隊員である。COVID-19 感染者、または疑いのある市民に直面する可能性のあるファーストレスポnderとして、この集団に対する mRNA ワクチン接種後の抗体価の評価は重要と考える。



## 第二節 材料および方法

### 第一項 研究参加者

本研究の対象者は、日本のある都市に設置された 5 つの消防署に勤務する消防士、救急隊員、救助隊員である。各署の管理者に研究協力依頼書を配布し、参加者の募集を行った。その結果、55 名の現喫煙者が本研究に参加した。

すべての参加者は、2021 年 5 月中旬に BNT162b2 ワクチンの 2 回目の接種を終えていた。また、すべての参加者は、1 回目と 2 回目のワクチン接種の間に 3 週間の間隔を空けていた。6 月中旬、すなわちほとんどの参加者が 2 回目の接種を受けてから約 4 週間後に採血を実施した。このタイミングは、2 回目の接種後、抗体価がピークに達する時期と推測される<sup>68</sup>。調査を行ったこの時期は、日本における第 4 回目と 5 回目の COVID-19 の流行期の狭間であった。

## 第二項 調査項目

参加者には、自記式の質問紙を用いて、使用する喫煙具について、紙巻きタバコ、加熱式タバコ、電子タバコ、または併用のいずれかを選択して回答するよう求めた。さらに、年代、性別、病歴、内服歴について質問した。

### 第三項 タバコ依存度の評価方法

本研究では、タバコ依存度を評価するための尺度として、FTND を使用した。FTND は、タバコに対する生理学的依存を評価するものである。質問項目は、(1) あなたは、朝目覚めてから何分ぐらいで最初のタバコを吸いますか、(2) あなたは、喫煙が禁じられている場所、例えば図書館、映画館などでタバコを吸うのがまんすることを難しいと感じますか、(3) あなたは、一日の中でどの時間帯のタバコをやめるのに最も未練がのこりますか、(4) あなたは、一日何本タバコを吸いますか、(5) あなたは、目覚めてから2～3時間以内の方がその後の時間帯よりも頻繁にタバコを吸いますか、(6) あなたは、病気でほとんど一日中寝ている時でも、タバコを吸いますか、の6項目である(表1)。FTND は、これら6つの項目を単独で評価するものではなく、合計得点により評価され、高得点ほど依存度が高いとされる。最小スコアは0、最大スコアは10である。本研究では、FTND の得点が高い喫煙者ほど、タバコ依存度が高いと定義した。

分析の結果、本研究で用いた日本語訳された FTND のクロンバックのアルファ係数は 0.636 であり、先行研究と比較しても一定の信頼性を示していた<sup>69,70</sup>。

表1 Fagerstrom Test for Nicotine Dependence (FTND) の概要

項目	選択肢	点数
1. あなたは、朝目覚めてから何分ぐらいで最初のタバコを吸いますか。	5分以内	3
	6～30分	2
	31～60分	1
	61分後	0
2. あなたは、喫煙が禁じられている場所、例えば図書館、映画館などでタバコを吸うのをがまんすることを難しいと感じますか。	はい	1
	いいえ	0
3. あなたは、一日の中でどの時間帯のタバコをやめるのに最も未練がのこりますか。	朝目覚めたときの1本	1
	それ以外	0
4. あなたは、一日何本タバコを吸いますか	31本以上	3
	21～30本	2
	11～20本	1
	10本以下	0
5. あなたは、目覚めてから2～3時間以内の方がその後の時間帯よりも頻繁にタバコを吸いますか。	はい	1
	いいえ	0
6. あなたは、病気でほとんど一日中寝ているでも、タバコを吸いますか。	はい	1
	いいえ	0

#### 第四項 血液サンプルの採取方法

採血は、セーフティランセットを用いて、衛生管理、感染対策に細心の注意を払いながら、参加者の指先から行った。採血後、採取した血液を30分間静置した後に、5分間、3,000 rpm で遠心分離し、血清を-20°C で凍結保存した。

## 第五項 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG の測定方法

血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルは、酵素免疫法 (Enzyme-linked immunoassay: ELISA) によって測定した。血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルの測定には、Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein Human IgG Kit (Proteintech Group, Rosemont, IL, USA) を、メーカーのプロトコルに従い使用した<sup>71,72</sup>。この ELISA キットは、間接 ELISA を測定原理として利用している。

## 第六項 血清コチニン濃度の測定方法

ELISA による血清コチニン濃度の測定は、Cotinine ELISA Kit (Abnova Corporation, Neihu District, Taipei, Taiwan) を用いて、メーカーのプロトコルに従って行った<sup>73,74</sup>。なお、この Cotinine ELISA Kit では、固相競合によってコチニンの濃度に関連付けた検量線を作成した。

吸光度は、POWERSCAN HT (Bio Tec Instruments, Winooski, VT, USA) を用いて測定した。

## 第七項 統計解析

FTND、血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG、および血清コチニン濃度に関するデータの統計量は、中央値（四分位範囲）で表記した。

FTND、血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG、および血清コチニン濃度に関する年齢グループあるいは喫煙具ごとの群間比較には、Kruskal-Wallis 検定を用いた。血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベル、FTND、血清コチニン濃度との間における相関性は、Spearman の順位相関係数を算出することによって評価した。

有意差水準は、全て 5%未満 ( $p < 0.05$ ) を統計学的に有意とした。統計解析ソフトには、SPSS Statistis ver.27 (IBM Corp, Armonk, NY, USA) を用いた。



## 第八項 倫理的配慮

本研究の参加者には、事前に研究の目的、方法、個人情報の管理などについて詳しく説明した。また、研究への参加に同意しない場合も、不利益を被ることはないことを説明した。参加した全ての者からインフォームドコンセントを得た。

本研究は、ヘルシンキ宣言の原則に則って実施された。また、本研究は、中部大学倫理審査委員会により承認され、実施された（承認番号：20200042）。

### 第三節 結果

#### 第一項 参加者の特性

研究参加者の特性を表 2 に示す。参加者の年齢層は、20 歳代 13 名 (23.6%)、30 歳代 29 名 (52.8 %)、40 歳代 9 名 (16.4%)、50 歳代 2 名 (3.6 %)、60 歳 2 名 (3.6 %) であった。参加者は、全て男性であった。使用されている喫煙具は、紙巻きタバコが 14 名 (25.5 %)、加熱式タバコが 29 名 (52.7 %)、併用が 12 名 (21.8 %) に分類された。電子タバコを使用する参加者は確認されなかった。

病歴については、COVID-19 が 2 名 (3.6%)、高血圧が 2 名 (3.6%)、心疾患が 1 名 (1.8%)、高脂血症が 1 名 (1.8%) から回答があった。経口薬の服用歴は、抗アレルギー薬が 6 名 (10.9%)、高脂血症用剤が 1 名 (1.8%)、降圧薬が 1 名 (1.8%) から確認された。これらの病歴、経口薬の服用歴は、サンプル数の偏りから、血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルや血清コチニン、および FTND に影響を与える説明変数としては採用しなかった。

表 2. 参加者の特性

		<i>n</i>	%
年齢層	20–29	13	23.6
	30–39	29	52.8
	40–49	9	16.4
	50–59	2	3.6
	60–69	2	3.6
性別	男性	55	100
喫煙具	紙巻きタバコ	14	25.5
	加熱式タバコ	29	52.7
	紙巻きタバコと加熱式タバコを併用	12	21.8
病歴	新型コロナウイルス感染症	2	3.6
	高血圧	2	3.6
	心疾患	1	1.8
	高脂血症	1	1.8
経口薬	抗アレルギー薬	6	10.9
	高脂血症治療薬	1	1.8
	抗アレルギー薬	1	1.8
	降圧薬	1	1.8

## 第二項 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG の測定結果

Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG の中央値は 15.5  $\mu\text{g/mL}$  (11.3 - 36.5) だった。

年齢層ごとに Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルを比較した結果、有意差を認めなかった ( $p=0.286$ ) (図 1)。喫煙具の分類ごとに Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルを比較したが、有意差を示さなかった ( $p=0.278$ ) (図 2)。したがって、本研究においては、年齢、喫煙具は、血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルに影響する説明変数として採用しなかった。

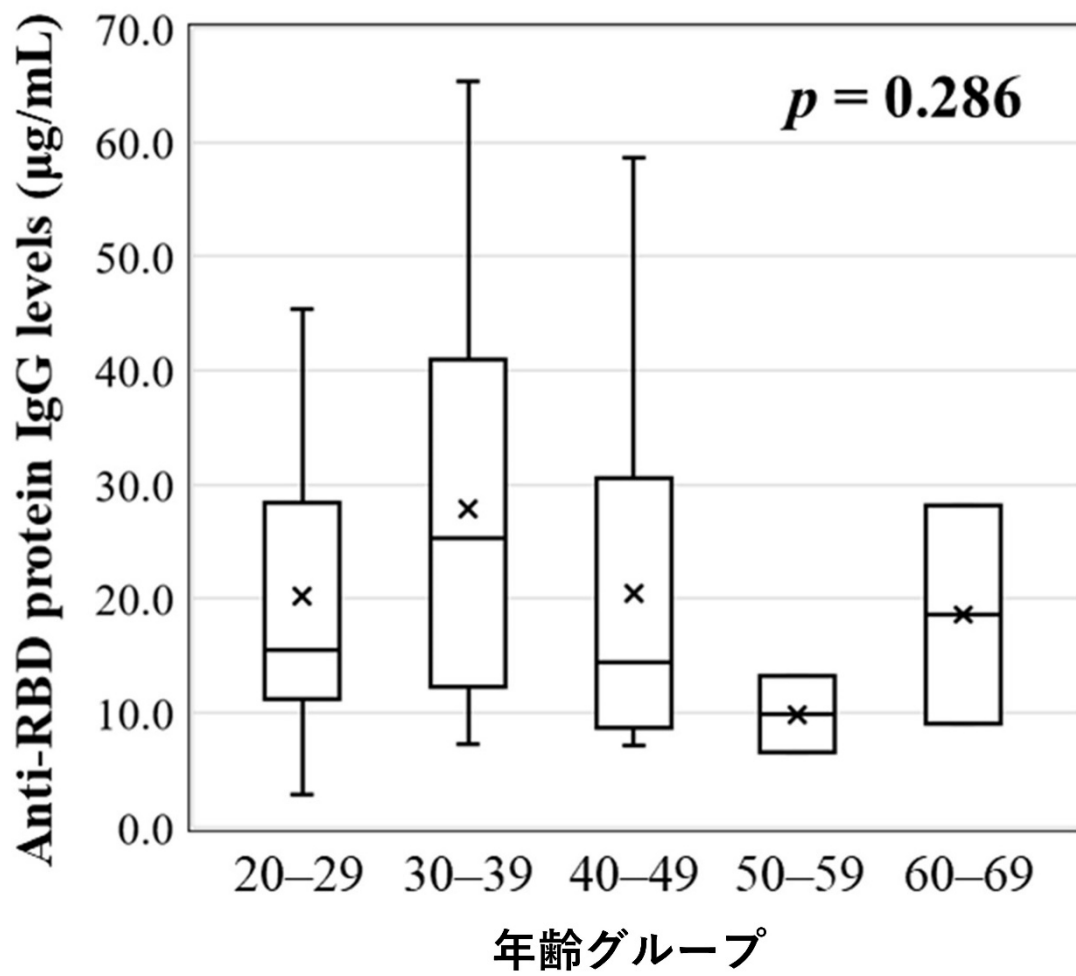


図1. 年齢グループによる Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルの比較

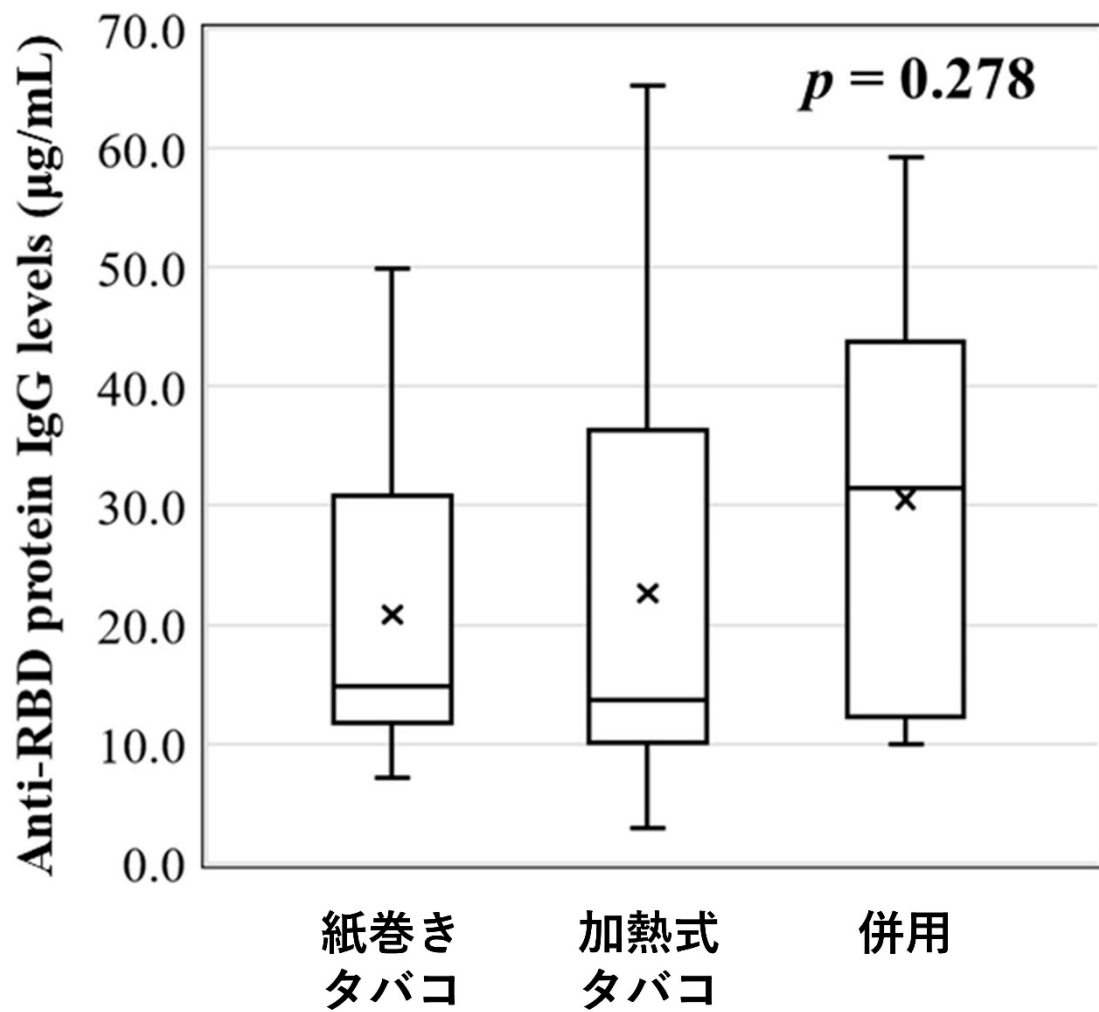


図2. 喫煙具による Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルの比較

### 第三項 Fagerstrom Test for Nicotine Dependence (FTND) の測定結果

FTND の中央値は、3.0 (2.0-5.0) だった。

年齢グループ別に FTND を比較したところ、有意差は認められなかった ( $p=0.144$ ) (図 3)。喫煙具の分類ごとに FTND を比較した結果、有意差を認めなかった ( $p=0.078$ ) (図 4)。

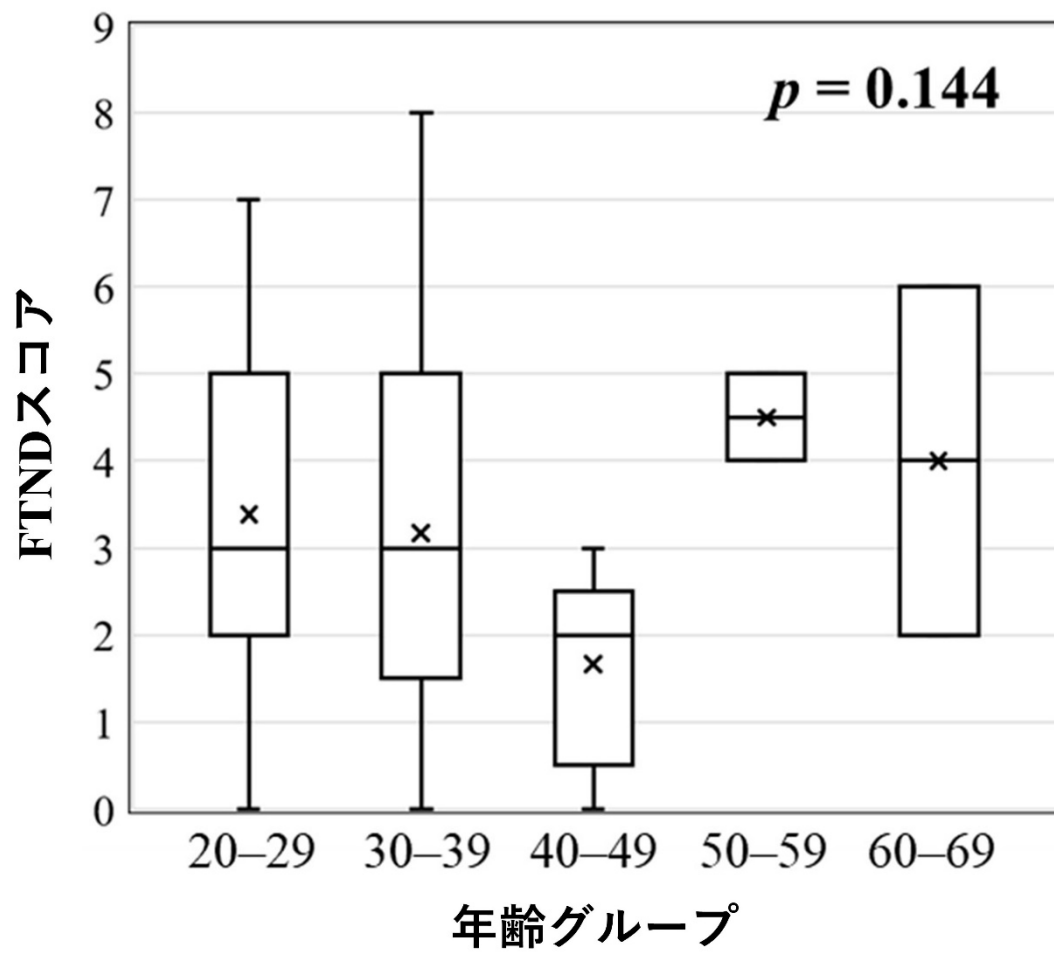


図3. 年齢グループによる FTND の比較

FTND : Fagerstrom Test for Nicotine Dependence



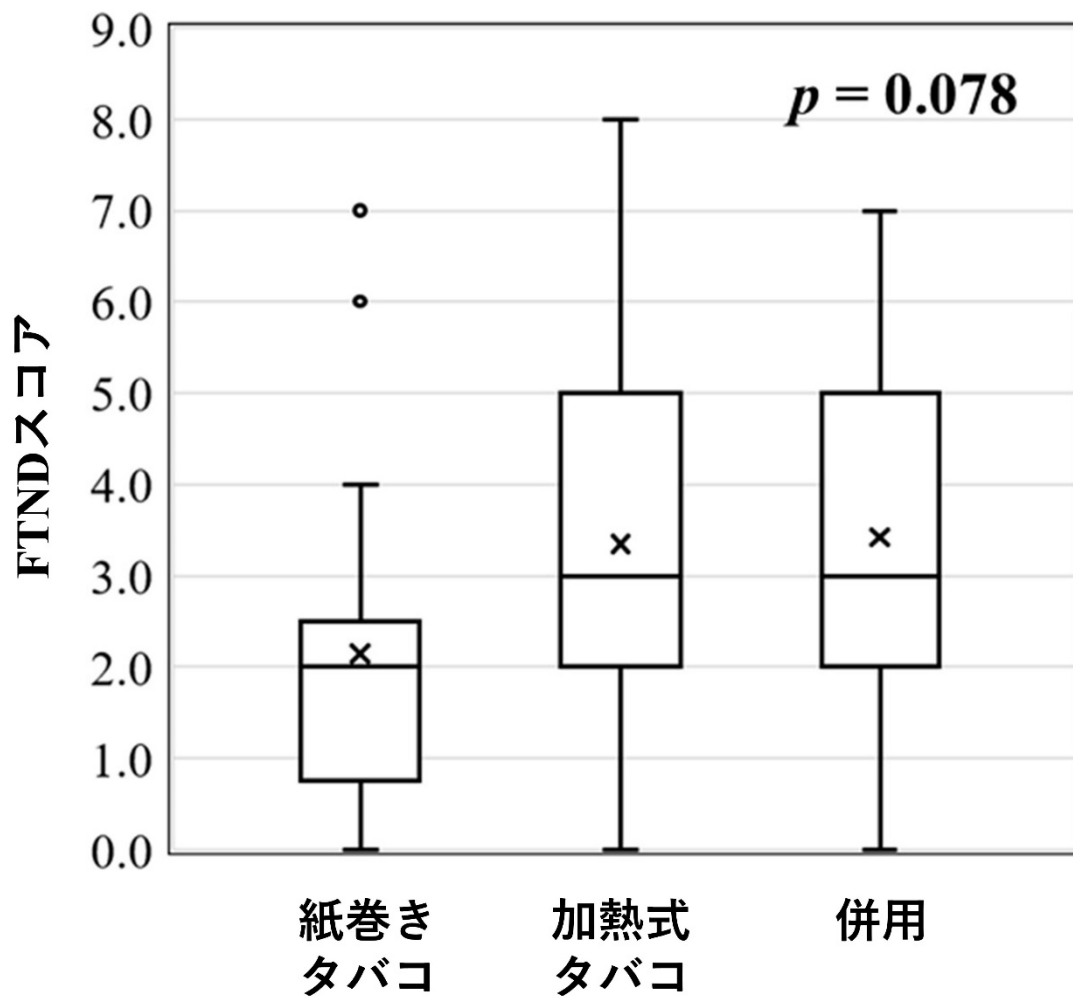


図4. 喫煙具による FTND の比較

FTND : Fagerstrom Test for Nicotine Dependence

#### 第四項 血清コチニン濃度の測定結果

血清コチニン濃度の中央値は、60.4 ng/ml (44.1 - 150.0) であった。

年齢グループによる血清コチニン濃度を比較した結果、有意差を認めなかった ( $p=0.284$ ) (図 5)。喫煙具の分類ごとに血清コチニン濃度を比較した結果、有意差を認めなかった ( $p=0.868$ ) (図 6)。

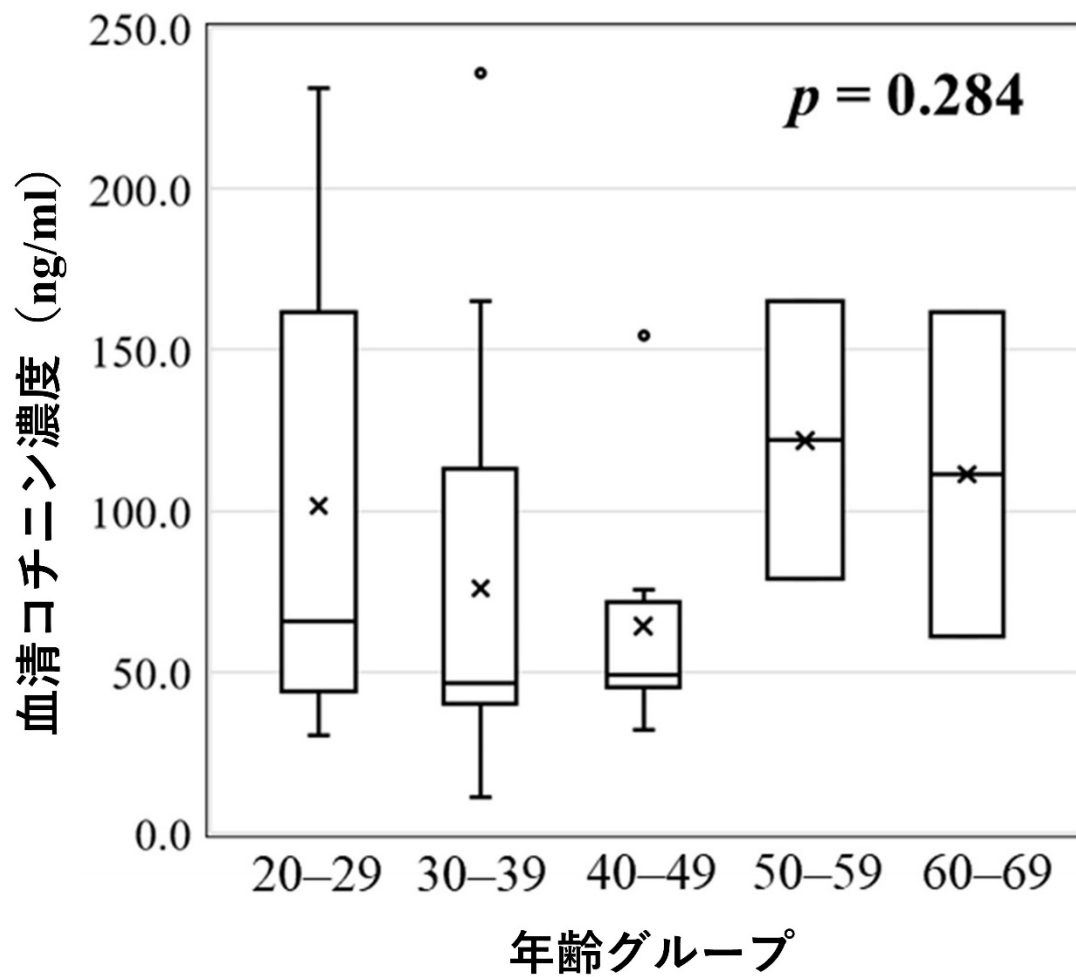


図5. 年齢グループによる血清コチニン濃度の比較

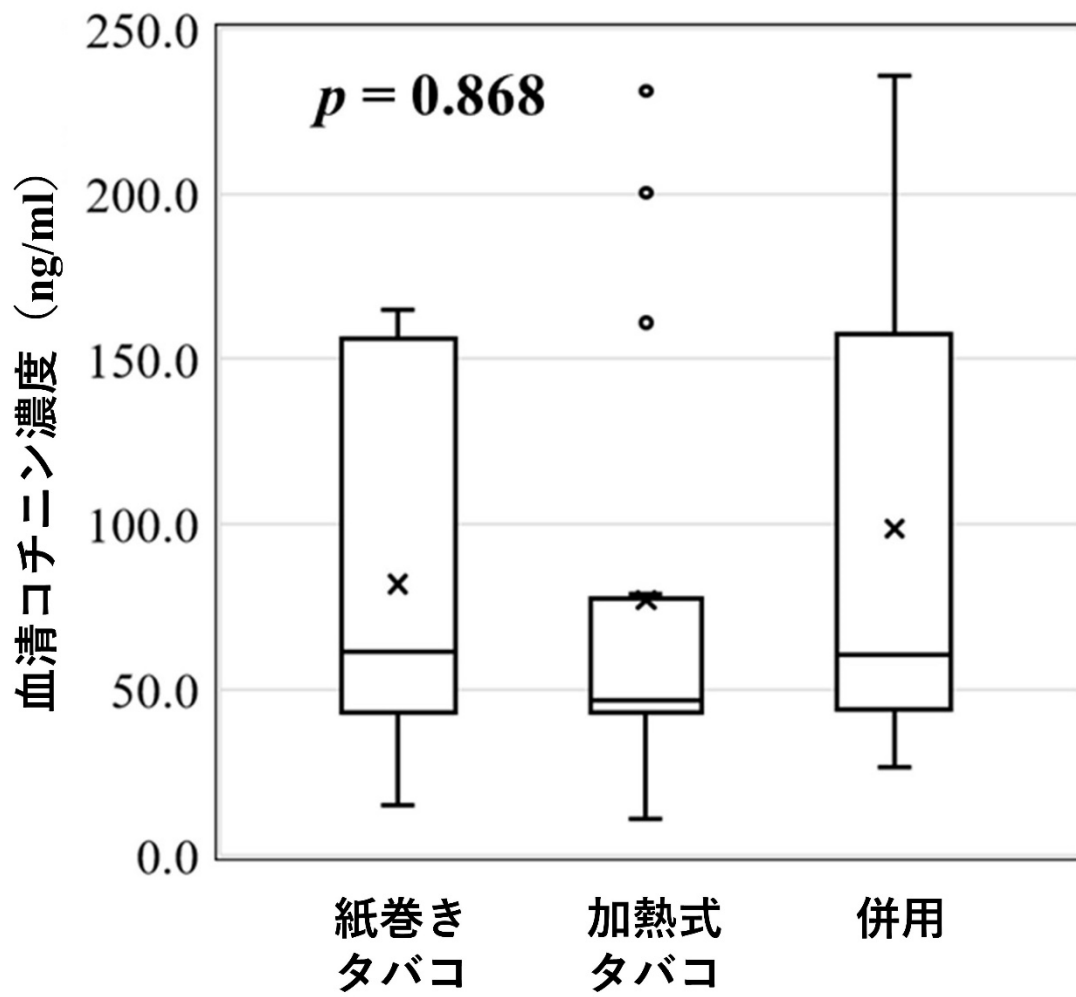


図 6. 喫煙具による血清コチニン濃度の比較

## 第五項 FTND と Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG との相関

FTND と Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルの間には、有意な負の相関を認めた ( $\rho = -0.426$ ,  $p = 0.001$ ) (図 7)。

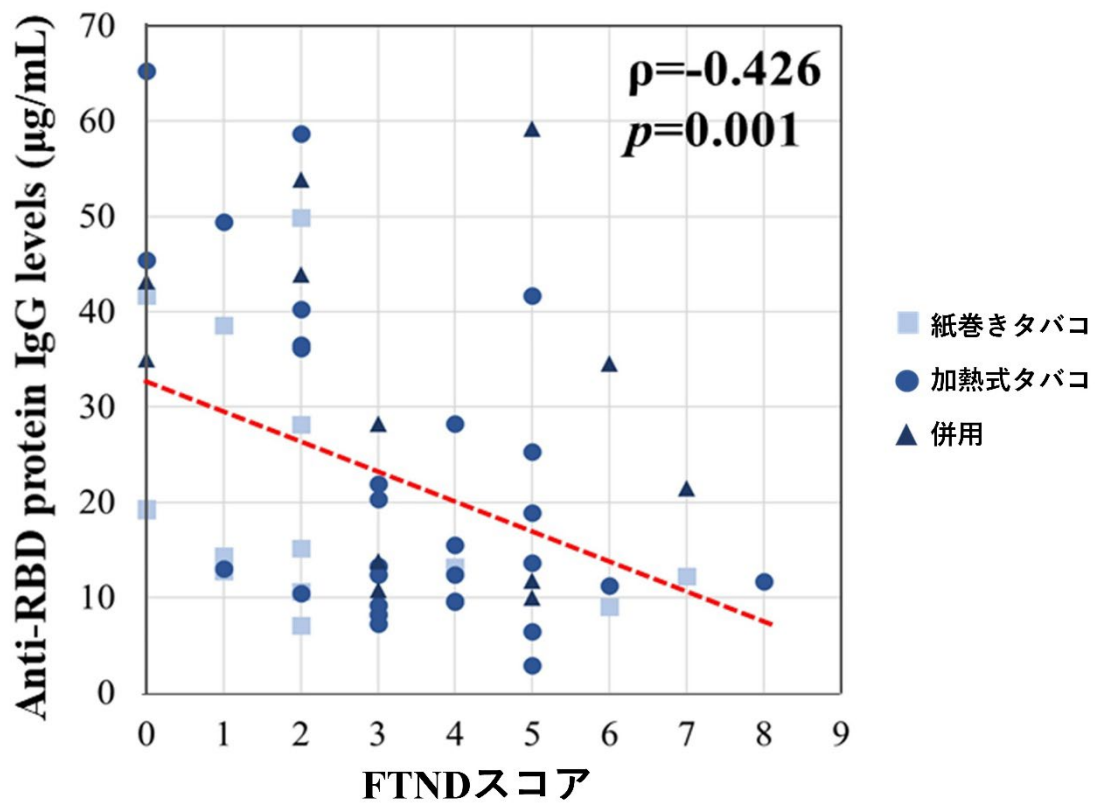


図7. FTND と Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルとの相関

FTND : Fagerstrom Test for Nicotine Dependence

## 第六項 FTND と血清コチニン濃度との相関

血清コチニン濃度と FTND との間には、有意な正の相関が認められた ( $\rho=0.470$ 、 $p<0.001$ ) (図 8)。

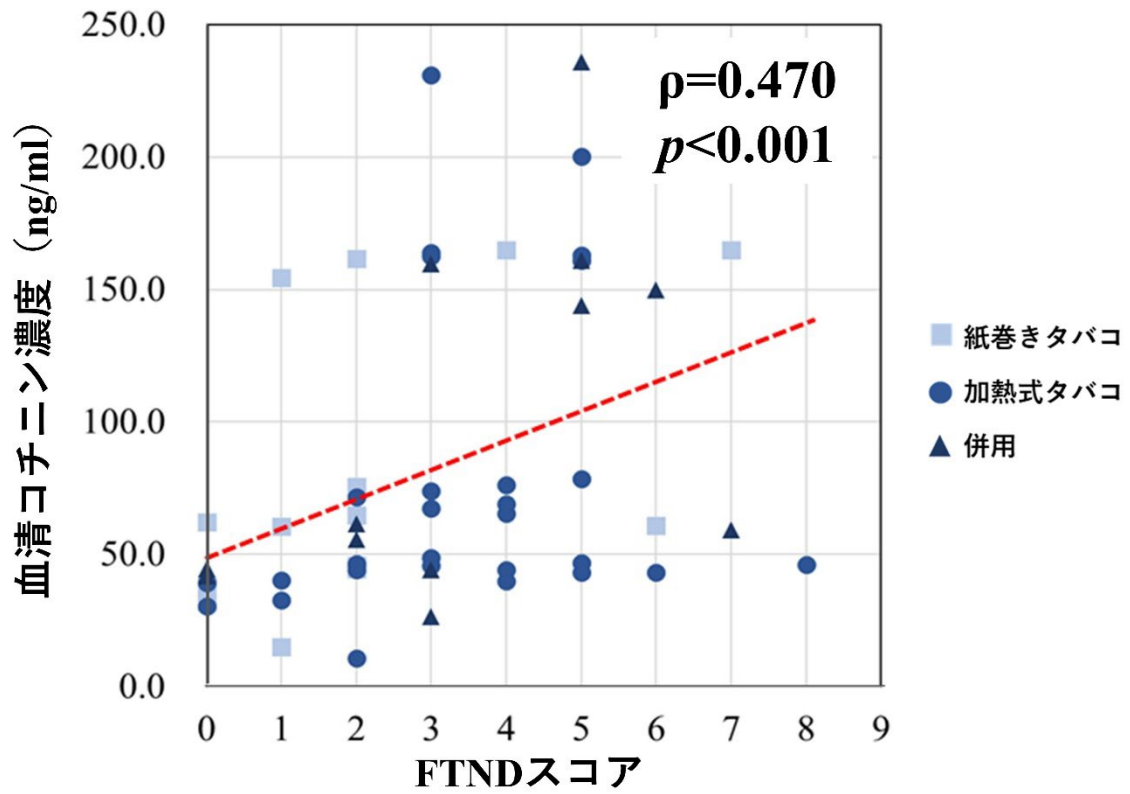


図 8. FTND と血清コチニン濃度との相関

FTND : Fagerstrom Test for Nicotine Dependence



## 第七項 血清コチニン濃度と Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG との相関

血清コチニン濃度と、Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルの間に負の相関傾向が認められたが、統計学的に有意性のある相関とは言えなかった ( $\rho = -0.156$ 、 $p = 0.256$ ) (図 9)。

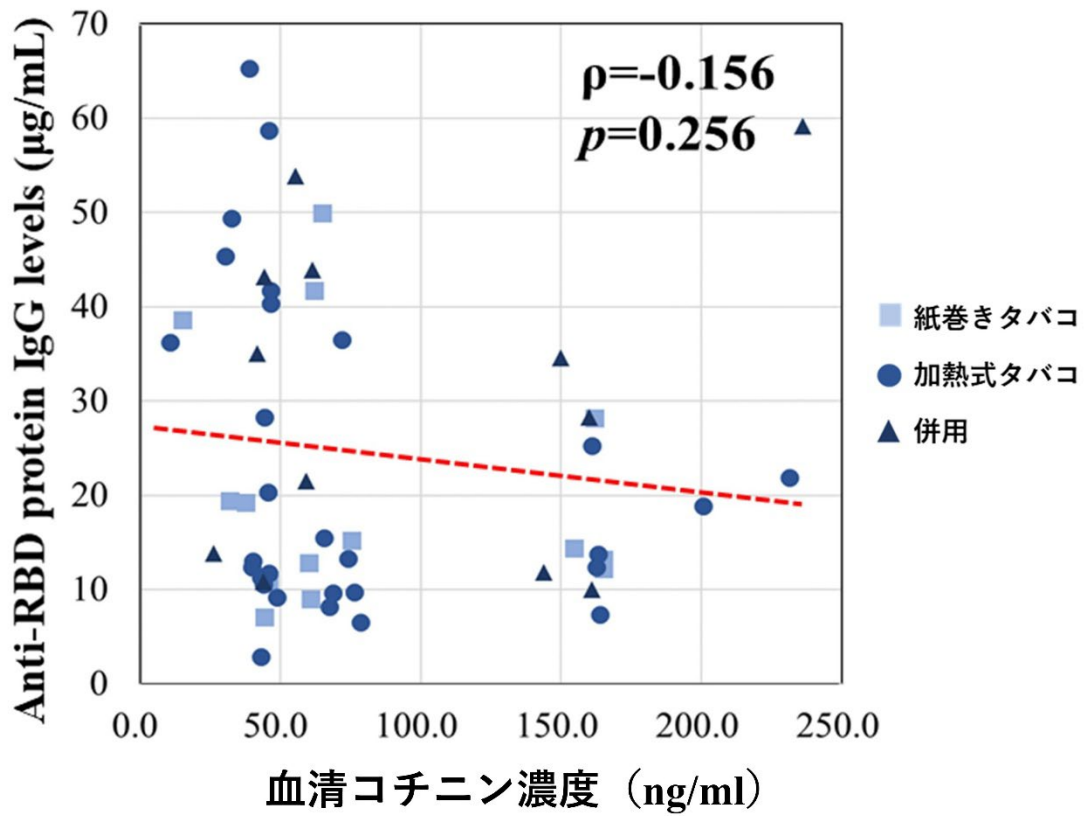


図9. 血清コチニン濃度と Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルの相関

#### 第4節 考察

本研究は、日本で BNT162b2 ワクチンの接種を受けた 20 歳代から 60 歳代までの喫煙者をターゲットとして、Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルを評価した。その結果、主に以下の 2 点について明らかになった。

第一に、喫煙者における mRNA ワクチン接種後の血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルは、FTND との間に負の相関があることを確認した。この結果から、喫煙者のタバコへの強い依存性による喫煙行動の強化が、mRNA ワクチン接種後の低い抗体価に繋がる可能性があると考えられた。

第二に、FTND と血清コチニン濃度には有意な正の相関が認められたが、血清コチニン濃度と血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルの間には、明確な負の相関を示さなかった。タバコの煙には、相当な種類の有害物質が含まれていることから<sup>75</sup>、以上の結果は mRNA ワクチン接種後の低い抗体価への影響因子がニコチンに限局しない可能性を示唆するものと考えられる。

## 第一項 タバコ依存性と mRNA ワクチン接種後の抗体価との関連

本研究において、喫煙者の mRNA ワクチン接種後の血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルと、FTND との間の負の相関が確認された。この結果からは、タバコへの強い依存性が喫煙行動の強化に繋がり、mRNA ワクチン接種後の低い抗体応答を招く可能性が考えられる。この詳細なメカニズムについては未解明である。しかし、mRNA ワクチンは、感染および重症化のリスクを軽減する重要な役割を果たすことが、先行研究で報告されている<sup>34</sup>。そのため、タバコへの依存性の強い喫煙者の mRNA ワクチン接種後の低い抗体価は、パンデミック中の重要な懸念事項である。また、本研究は、mRNA ワクチンを接種してから抗体価がピークに達する約 4 週間経過したタイミング<sup>68</sup>で採血を実施している。したがって、本研究は、横断的調査であるが、タバコ依存性の強い者が示す低い抗体価は、今後さらに低い値で推移していく可能性が考えられる。

また、今回の研究結果では、紙巻きタバコ、加熱式タバコ、および併用喫煙グループ間で、血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルおよび FTND に有意な差を認めなかった。本研究を実施した以降の最近の研究では、加熱式タバコ喫煙者も紙巻きタバコ喫煙者と同様に、非喫煙者と比較して BNT162b2 ワクチン接種後の抗体価が低い結果を示したと報告されている<sup>76</sup>。したがって、高い

タバコ依存性によって引き起こされる mRNA ワクチン接種後の低い抗体価に関する可能性の懸念については、紙巻きタバコ喫煙者だけでなく、加熱式タバコ喫煙者および併用者についても注意する必要があると考える。日本は、加熱式タバコ製品を生産する企業にとって重要な市場となっており<sup>77</sup>、本研究で対象とした集団においても、約 7 割が加熱式タバコ喫煙者、または紙巻きタバコとの併用喫煙者であった。ただし、電子タバコの使用は誰からも申告されなかったため、今回の検討には含まれていない。

さらに考慮が必要な点は、喫煙者は、遺伝、代謝、身体的および精神的健康状態に加えて、特有のライフスタイルを持つことである<sup>78</sup>。そのため、これらの因子が、mRNA ワクチン接種後の血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルに影響を与える可能性がある。しかしながら、本研究では、喫煙者における mRNA ワクチン接種後の抗体反応に関与するあらゆる交絡因子を完全に排除することはできない。また、本研究では、サンプルサイズの規模に加え、職業や、接種された mRNA ワクチンの種類も限定している。特に、本研究の被験者は、消防署の隊員であり、24 時間体制の過酷な勤務に従事し、一般の職業人とはサーカディアンリズムが異なる集団である可能性がある点を考慮する必要がある。さらに、受動喫煙を含めた対照群の設定が課題である。

## 第二項 血清コチニン濃度と mRNA ワクチン接種後の抗体価との関連

ニコチンは、不安やストレスの軽減、快楽、刺激、気分の変調などの効果があり<sup>79</sup>、タバコへの依存や、喫煙行動を強化させる要因と考えられる。そのため、本研究では、喫煙状況や依存性を評価するためのバイオマーカーである血清コチニン濃度が、FTND の場合と同様に、血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルと負の相関を示すかどうかを検証した。

まず、FTND と、血清コチニン濃度の相関性を確認したところ、有意な正の相関関係が認められ、これはサンプルの特性は異なるが、先行研究の結果を支持していた<sup>80</sup>。しかし、注目すべきことに、mRNA ワクチン接種後の血清 Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルは、血清コチニン濃度と確かな負の相関関係があるとは言えない結果を示した。

ニコチンによる免疫機構への影響は、これまでの先行研究でも指摘されてきた<sup>51,63,64</sup>。特に、喫煙によるニコチンへの長期曝露は、B 細胞の増殖および発達を阻害し、抗体分泌を減少させ、最終的に正常な免疫機能を抑制することが報告されている<sup>47-49</sup>。さらに、樹状細胞への悪影響の可能性も指摘されている<sup>53</sup>。しかし、タバコの煙には、その気体と粒子状の段階で 4,500 以上の成分が含まれている<sup>75</sup>。以前の研究でも、タバコの煙は、様々な宿主防御メカニズムに影響を与

えることが示されているが<sup>51</sup>、タバコに含まれる有害物質の多さから、そのメカニズムは明確に理解されていない現状にある<sup>81</sup>。本研究の結果は、mRNA ワクチン接種後の低い抗体価に影響する要因として、タバコの煙に含まれる有害物質をモニタリングする場合、標的はニコチンに限定されない可能性を示唆するものと考えられる。

加熱式タバコと紙巻きタバコにおける主流煙含有の化学物質を比較した研究では、日本で流通する加熱式タバコの iQOS と、従来の紙巻きタバコの主流煙中のニコチン濃度はほぼ同じであったと報告している<sup>82</sup>。ただし、コチニンは、約 10~30 時間の長い半減期を持つニコチンの代謝産物であり<sup>65</sup>、喫煙習慣を評価する最適な客観的指標だが、本研究の血清コチニンの観察は、あくまでも横断的な評価であることを考慮する必要がある。さらに、先行研究ではコチニン代謝率の人種/民族の違いが説明されているが<sup>83,84</sup>、本研究の被験者は日本人に限定されている点に注意が必要である。

これまでの考察を要約すると、本研究では、喫煙者の中でも、タバコに大きく依存している者は、mRNA ワクチン接種後に特に低い抗体価を示す可能性を示している。また、低い抗体価に影響を与える因子はニコチンに限定されず、その他の複数の有害物質の関与の可能性と、モニタリングの必要性が示唆された。し

かし、現在の COVID-19 によるパンデミックの最中では、必ずしもそれらの有害物質を解明することが最優先事項であるとは言い切れない。なぜなら、血中コチニン濃度にはある程度の日内変動があると考えられるが、タバコ依存性そのものは多くの喫煙者個人にとって持続的かつ不変的な要因であるからである。したがって、今回提示した重要な結果は、喫煙者のタバコへの強い依存性によって強化された喫煙行動の蓄積そのものが、 mRNA ワクチン接種後の抗体価に対し、より不利に働く可能性を強調するものである。これは、タバコ依存性の強い喫煙者が mRNA ワクチン接種を受けた場合、 SARS-CoV-2 に対する防御力が不十分である可能性を示す重要な結果と考える。



### 第三項 本研究の限界と長所

これまでに述べてきた点に加え、以下に本研究の限界を示す。

第一に、本研究は横断的調査であり、時間の経過に伴う変動を確認できていない。次に、SARS-CoV-2 抗体価の測定は、使用するキットによって複数の異なる結果をもたらす可能性がある<sup>85,86</sup>。また、タバコへの依存性を評価する尺度は、本研究で用いた FTND 意外にも複数存在するため、用いる尺度により結果が異なる可能性がある。さらに、この研究の対象者は、自発的に参加することを決めた消防隊員に依存しており、潜在的な選択バイアスを考慮する必要があるとともに、集団の特性上、参加者が全て男性であった点も考慮しなければならない。最後に、先行研究では、mRNA ワクチンは、3つの SARS-CoV-2 変異株に対する中和抗体応答を誘導することが示されているが<sup>87</sup>、本研究の知見には、SARS-CoV-2 変異株に関する中和抗体の検討は含まれていない。

現時点では、mRNA ワクチン接種後のブレイクスルー感染のリスクが生じる抗体価の閾値はまだ明確になっていない<sup>88</sup>。そのため、mRNA ワクチン接種後の抗体反応を損なう、あるいは低下させる可能性のある、あらゆる要因を探索し、可能な限り排除していかなければならない。現状、SARS-CoV-2 に対する mRNA ワクチン接種後の抗体反応と喫煙習慣に関する知見は限られている。本

研究の強みは、mRNA ワクチンの効果を向上させるための禁煙推進に対する公衆衛生、生命健康上の新たな興味深い知見を加えるものであると考える。

## 第5節 結論

本研究では、BNT162b2 ワクチン接種後の Anti-SARS-CoV-2 S-RBD protein IgG レベルは FTND と負の相関を示し、血清コチニン濃度とは明確な相関を示さないことが明らかとなった。これらの結果から、強いタバコ依存性による喫煙行動の蓄積が、 mRNA ワクチン接種後の低抗体価をもたらす可能性があり、タバコに含まれている mRNA ワクチン接種後の低い抗体価に影響を与える因子はニコチンに限局しない可能性が示唆された。

## 付録：新型コロナウイルス感染症パンデミック下における当研究室の貢献

当研究室では、COVID-19 パンデミック下において、予防医学を基盤とし、感染症予防を目的とした実験的疫学研究を推進している。本研究のように、特に免疫システムと喫煙との関連を軸に研究を実施するとともに、その他にも、特定集団における COVID-19 パンデミック中の SARS-CoV-2 抗体保有率の調査や、スポーツ、救急医療分野に加え、大学生のメンタルヘルスに関する研究に取り組み、幅広く貢献を果たしている。

COVID-19 パンデミック開始以降、若い世代での SARS-CoV-2 感染の拡大や、無症候性感染者による感染伝播の問題が指摘されてきた。この状況を受け、大学生に対する SARS-CoV-2 抗体スクリーニングを実施してきた。この研究では、イムノクロマト法による迅速検査キットを用いて抗体検査を実施し、運動部コミュニティや寮などの共同生活の場におかれた mRNA ワクチン普及以前の大学生における無症候性 SARS-CoV-2 抗体陽性率を明らかにした<sup>15</sup>。本成果により、運動部活動内でのスクリーニング検査や、健康チェック、感染予防対策の重要性が改めて確認され、COVID-19 パンデミック中の部活動の継続支援に寄与した。

COVID-19 パンデミックにおける、スポーツ活動中の課題に関する実験研究では、蛍光塗料を用いて、野球ボールでキャッチボールをする際の汚染物質の拡散

性を評価した。この研究では、野球で投げたり捕球したりする際の動作時に、汚染物質が非常に効率的に人から人へと伝播することが示された<sup>14</sup>。野球の練習や試合中に起こりうる感染症の予防には、手や器具の徹底的かつ頻繁な消毒が重要であることが示唆され、COVID-19 パンデミック時の安全なスポーツ環境の構築に役立つ成果のひとつとなった。

また、8千人を超える大学生を対象に、COVID-19に関連する感染予防への意識や、喫煙等の生活習慣に関する大規模な調査を実施した。この研究では、喫煙の有無や新型タバコを含む喫煙具の分類によって、COVID-19に対する感染予防への意識、または医療逼迫への危機感や不安の程度が異なる点が明らかとなった<sup>89</sup>。この成果は、COVID-19の流行下において、喫煙を開始する世代である大学生に対する禁煙教育の重要性を示し、その対策に貢献するものとなった。

さらに、当研究室では、COVID-19のパンデミックにより、病院外の心停止患者に対するバイスタンダーの心肺蘇生法（BCPR）の介入率が低下している点について問題提起し、研究を推進している。例えば、COVID-19パンデミック時における大学新生のBCPRの介入意欲とその予測因子を明らかにするため、約2500名に対して調査を行った。結果、約60%がCOVID-19パンデミックの際にBCPRを提供する意欲があることが明らかとなった。さらに、COVID-19パンデミ

ック時に BCPR に介入する意欲への障壁は、感染に対する不安ではなく、介入によって予後不良にさせるかもしれないという躊躇であることが判明した<sup>90</sup>。さらにこの研究では、パンデミック下で BCPR への躊躇を克服するための因子を解析により特定し、BCPR に対する教育内容の検討に資する重要な成果となった。

研究分野は、COVID-19 パンデミック下における大学生のメンタルヘルスの領域にも拡大している。例えば、SARS-CoV-2 オミクロン株の感染が広がった日本における「第6波」の最中において、大学に入学した 2500 名を超える新入生を対象に、心理的苦痛（うつ）の有病率とその予測因子について研究した。この研究では、対象者の約 4 分の 1 にあたる新入生が軽度から重度の心理的苦痛を抱えて学生生活を送っていることが明らかになった。また、心理的苦痛に対する要因は、睡眠不足、体重の増減、対人関係の悪化、身体的症状と慢性疾患をもつなどであると報告した。加えて、運動部に積極的に参加することや、悩みや不安を相手に相談しやすい環境が、心理的苦痛を阻害する要因として抽出された。この研究から、大学における身体活動や対人活動への支援強化の必要性や、身体の健康管理や相談支援体制の積極的な整備と活用が不可欠であるとの示唆を得ることができた<sup>91</sup>。

最後に、本研究のように、喫煙と免疫システムに関連し、加熱式タバコが唾液中の自然免疫成分の分泌に与える影響について研究を推進している。COVID-19のような新興感染症によるパンデミック下では、特に自然免疫は重要視されている。例えば、加熱式タバコ喫煙が、唾液中の抗菌性タンパク質であるラクトフェリン（Lac）とリゾチーム（Lys）の分泌レベルに与える影響を実験的疫学調査によって評価した。この研究では、加熱式タバコ喫煙者は非喫煙者と比較して唾液分泌速度に加え、LacとLysの分泌速度が有意に低いことを解明した。加熱式タバコは近年使用者が増加傾向にあるにもかかわらず、健康への影響は未解明な点が多い。この研究では、加熱式タバコがもたらす自然免疫システムへの悪影響の可能性を示す重要な成果をもたらした<sup>92</sup>。

SARS-CoV-2変異株の脅威もあり、パンデミックの状況は今後も続くことが予測される。当研究室では、喫煙とCOVID-19の関連に加え、今後も多角的な視点から研究を推進し、予防医学、公衆衛生の分野において貢献していきたいと考えている。

## 謝辞

本研究の遂行と論文執筆にあたり、多大なご指導を頂きました中部大学 大学院 生命健康科学研究科 伊藤守弘教授に厚く御礼申し上げます。また、中部大学 大学院 生命健康科学研究科 鶴留雅人教授ならびに岩本隆司教授には、本論文の審査をいただき、深く感謝申し上げます。

さらに、この研究にご参加いただいた消防隊員、救急隊員、救助隊員の皆様には、厚く御礼申し上げます。



## 研究業績

### <論文>

Yukihiro Mori, Mamoru Tanaka, Hana Kozai, Kiyoshi Hotta, Yuka Aoyama, Yukihiro Shigeno, Makoto Aoike, Hatsumi Kawamura, Masato Tsurudome, Morihiro Ito, Antibody response of smokers to the COVID-19 vaccination: Evaluation based on cigarette dependence. *Drug Discoveries & Therapeutics*. 2022; 16(2):78-84. doi: 10.5582/ddt.2022.01022

Yukihiro Mori, Mamoru Tanaka, Hana Kozai, Yuka Aoyama, Yukihiro Shigeno, Kiyoshi Hotta, Makoto Aoike, Hatsumi Kawamura, Masato Tsurudome, Morihiro Ito. Effects of heat-not-burn cigarette smoking on the secretion of saliva and its innate immune system components. *Healthcare*. 2023;11(1):132. doi: 10.3390/healthcare11010132

Yukihiro Mori, Yoko Iio, Yuka Aoyama, Hana Kozai, Mamoru Tanaka, Makoto Aoike, Hatsumi Kawamura, Manato Seguchi, Masato Tsurudome, Morihiro Ito. Willingness and Predictors of Bystander CPR Intervention in the COVID-19 Pandemic: A Survey of Freshmen Enrolled in a Japanese University. *International Journal of Environmental*

*Research and Public Health*. 2022; 19(23):15770. doi: 10.3390/ijerph192315770

Yukihiro Mori, Mamoru Tanaka, Hana Kozai, Kiyoshi Hotta, Yuka Aoyama, Yukihiro Shigeno, Makoto Aoike, Hatsumi Kawamura, Masato Tsurudome, Morihiro Ito. Prevalence of SARS-CoV-2 antibodies among university athletic club members: A cross-sectional survey. *Drug Discoveries & Therapeutics*. 2022;16(4):185-190. doi: 10.5582/ddt.2022.01048

Yoko Iio, Yukihiro Mori, Yuka Aoyama, Hana Kozai, Mamoru Tanaka, Makoto Aoike, Hatsumi Kawamura, Manato Seguchi, Masato Tsurudome, Morihiro Ito. A Survey of Living Conditions and Psychological Distress in Japanese University Freshmen during the COVID-19 Pandemic. *Healthcare*. 2023, 11 (1), 94. doi: 10.3390/healthcare11010094

Makoto Aoike, Yukihiro Mori, Kiyoshi Hotta, Yukihiro Shigeno, Yuka Aoyama, Mamoru Tanaka, Hana Kouzai, Hatsumi Kawamura, Masato Tsurudome, Morihiro Ito, Evaluation of Japanese university students' perception of smoking, interest in quitting, and smoking behavior: An examination and public health challenges during the COVID-19 pandemic.

*Drug Discoveries & Therapeutics*. 2022;16(3):118-123. doi: 10.5582/ddt.2022.01041

Yoko Iio, Yukihiro Mori, Masato Tsurudome, Morihiro Ito. Cross-infection risks of SARS-CoV-2 while playing catch using a baseball: Creating a safe sporting environment during the COVID-19 pandemic. *Drug Discoveries & Therapeutics*. 2022;16(5):240-244. doi: 10.5582/ddt.2022.01057

<学会発表>

青池慎人、堀田清司、森幸弘、繁野行弘、川村初美、青山友佳、田中守、香西はな、伊藤守弘、喫煙が COVID-19 ハイリスク要因と認知している大学生の KTSND・FTND の評価、第 16 回日本禁煙学会学術総会、2022 年 10 月、大阪 (オンラインとのハイブリッド開催).

江尻晴美、荒川尚子、森幸弘、馬場礼三：看護系大学生の運動習慣の実態と心身の健康及びストレス自覚との関連、第 26 回日本体力医学会東海地方会、2022 年 3 月、愛知 (オンラインとのハイブリッド開催).

青池慎人、堀田清司、森幸弘、繁野行宏、川村初美、青山友佳、田中守、香西はな、伊藤守弘：A 大学における加熱式タバコを含む喫煙者の COVID-19 に関する不安の実態調査、第 15 回日本禁煙学会学術総会、2021 年 10 月、大分 (オンラインとのハイブリッド開催).

堀田清司、青池慎人、森幸弘、繁野行宏、川村初美、青山友佳、田中守、香西はな、伊藤守弘：A 大学における喫煙者と非喫煙者の COVID-19 に関する認識と感染予防行動の比較、第 15 回日本禁煙学会学術総会、2021 年 10 月、大分 (オンラインとのハイブリッド開催).

川村初美、青山友佳、堀田清司、森幸弘、田中守、香西はな、繁野行宏、青池慎人、伊藤守弘：新型コロナウイルス感染症における SARS-CoV-2 抗体検査キットの精度評価、第 15 回日本臨床検査学教育学会学術大会、2021 年 8 月、大分 (オンラインとのハイブリッド開催).

## 参考文献

1. Lv H, Wu NC, Tsang OT, et al. Cross-reactive Antibody Response between SARS-CoV-2 and SARS-CoV Infections. *Cell Rep.* 2020;31(9):107725. doi:10.1016/j.celrep.2020.107725
2. Poon LLM, Peiris M. Emergence of a novel human coronavirus threatening human health. *Nat Med.* 2020;26(3):317-319. doi:10.1038/s41591-020-0796-5
3. Cheng VCC, Wong SC, Chen JHK, et al. Escalating infection control response to the rapidly evolving epidemiology of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) due to SARS-CoV-2 in Hong Kong. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2020;41(5):493-498. doi:10.1017/ice.2020.58
4. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;55(3):105924. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105924
5. Sungnak W, Huang N, Becavin C, et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med.* 2020;26(5):681-687. doi:10.1038/s41591-020-0868-6

6. Morawska L, Cao J. Airborne transmission of SARS-CoV-2: The world should face the reality. *Environ Int.* 2020;139:105730. doi:10.1016/j.envint.2020.105730
7. Florindo HF, Kleiner R, Vaskovich-Koubi D, et al. Immune-mediated approaches against COVID-19. *Nat Nanotechnol.* 2020;15(8):630-645. doi:10.1038/s41565-020-0732-3
8. Tay MZ, Poh CM, Renia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(6):363-374. doi:10.1038/s41577-020-0311-8
9. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J Gen Intern Med.* 2020;35(5):1545-1549. doi:10.1007/s11606-020-05762-w
10. Chan JF, Yuan S, Kok KH, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet.* 2020;395(10223):514-523. doi:10.1016/S0140-6736(20)30154-9
11. Kim NJ, Choe PG, Park SJ, et al. A cluster of tertiary transmissions of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) in the community from infectors with common cold

- symptoms. *Korean J Intern Med.* 2020;35(4):758-764.  
doi:10.3904/kjim.2020.122
12. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med.* 2020;382(22):2081-2090. doi:10.1056/NEJMoa2008457
13. Ismail SA, Saliba V, Lopez Bernal J, Ramsay ME, Ladhani SN. SARS-CoV-2 infection and transmission in educational settings: a prospective, cross-sectional analysis of infection clusters and outbreaks in England. *Lancet Infect Dis.* 2021;21(3):344-353. doi:10.1016/S1473-3099(20)30882-3
14. Iio Y, Mori Y, Tsurudome M, Ito M. Cross-infection risks of SARS-CoV-2 while playing catch using a baseball: Creating a safe sporting environment during the COVID-19 pandemic. *Drug Discov Ther.* 2022;16(5):240-244. doi:10.5582/ddt.2022.01057
15. Mori Y, Tanaka M, Kozai H, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 antibodies among university athletic club members: A cross-sectional survey. *Drug Discov Ther.* 2022;16(4):185-190. doi:10.5582/ddt.2022.01048
16. Shimizu K, Wharton G, Sakamoto H, Mossialos E. Resurgence of covid-19 in

- Japan. *BMJ*. 2020;370:m3221. doi:10.1136/bmj.m3221
17. Xu X, Hong Y, Chen E, et al. Antibodies Induced by Homologous or Heterologous Inactivated (CoronaVac/BBIBP-CorV) and Recombinant Protein Subunit Vaccines (ZF2001) Dramatically Enhanced Inhibitory Abilities against B.1.351, B.1.617.2, and B.1.1.529 Variants. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(12). doi:10.3390/vaccines10122110
  18. Abdool Karim SS, de Oliveira T. New SARS-CoV-2 Variants - Clinical, Public Health, and Vaccine Implications. *N Engl J Med*. 2021;384(19):1866-1868. doi:10.1056/NEJMc2100362
  19. Wibmer CK, Ayres F, Hermanus T, et al. SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. *Nat Med*. 2021;27(4):622-625. doi:10.1038/s41591-021-01285-x
  20. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2020;383(27):2603-2615. doi:10.1056/NEJMoa2034577
  21. Walsh EE, Frenck RW, Falsey AR, et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. *N Engl J Med*. 2020;383(25):2439-2450.



doi:10.1056/NEJMoa2027906

22. Lamb YN. BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: First Approval. *Drugs*. 2021;81(4):495-501. doi:10.1007/s40265-021-01480-7
23. Veldhoen M, Simas JP. Endemic SARS-CoV-2 will maintain post-pandemic immunity. *Nat Rev Immunol*. 2021;21(3):131-132. doi:10.1038/s41577-020-00493-9
24. Kosaka M, Hashimoto T, Ozaki A, Tanimoto T, Kami M. Delayed COVID-19 vaccine roll-out in Japan. *Lancet*. 2021;397(10292):2334-2335. doi:10.1016/S0140-6736(21)01220-4
25. Mori H, Naito T. A rapid increase in the COVID-19 vaccination rate during the Olympic and Paralympic Games 2021 in Japan. *Hum Vaccin Immunother*. 2022;18(1):2010440. doi:10.1080/21645515.2021.2010440
26. Chung JY, Thone MN, Kwon YJ. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view. *Adv Drug Deliv Rev*. 2021;170:1-25. doi:10.1016/j.addr.2020.12.011
27. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367(6485):1444-

1448. doi:10.1126/science.abb2762
28. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7
29. Yuan M, Liu H, Wu NC, et al. Structural basis of a shared antibody response to SARS-CoV-2. *Science*. 2020;369(6507):1119-1123. doi:10.1126/science.abd2321
30. 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(6504):643-650. doi:10.1126/science.abc5902
31. Zost SJ, Gilchuk P, Case JB, et al. Potently neutralizing and protective human antibodies against SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;584(7821):443-449. doi:10.1038/s41586-020-2548-6
32. Wan J, Xing S, Ding L, et al. Human-IgG-Neutralizing Monoclonal Antibodies Block the SARS-CoV-2 Infection. *Cell Rep*. 2020;32(3):107918. doi:10.1016/j.celrep.2020.107918
33. 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(9):1422-1427. doi:10.1038/s41591-020-0998-x
34. Thompson MG, Burgess JL, Naleway AL, et al. Prevention and Attenuation of Covid-19 with the BNT162b2 and mRNA-1273 Vaccines. *N Engl J Med.* 2021;385(4):320-329. doi:10.1056/NEJMoa2107058
35. Arbel R, Hammerman A, Sergienko R, et al. BNT162b2 Vaccine Booster and Mortality Due to Covid-19. *N Engl J Med.* 2021;385(26):2413-2420. doi:10.1056/NEJMoa2115624
36. Brussow H, Zuber S. Can a combination of vaccination and face mask wearing contain the COVID-19 pandemic? *Microb Biotechnol.* 2022;15(3):721-737. doi:10.1111/1751-7915.13997
37. Müller L, Andrée M, Moskorz W, et al. Age-dependent immune response to the Biontech/Pfizer BNT162b2 COVID-19 vaccination. *Clin Infect Dis.* 2021. doi:10.1093/cid/ciab381
38. Nomura Y, Sawahata M, Nakamura Y, et al. Age and Smoking Predict Antibody Titres at 3 Months after the Second Dose of the BNT162b2 COVID-19 Vaccine. *Vaccines (Basel).* 2021;9(9). doi:10.3390/vaccines9091042

39. Demonbreun AR, Sancilio A, Velez ME, et al. COVID-19 mRNA Vaccination Generates Greater Immunoglobulin G Levels in Women Compared to Men. *J Infect Dis.* 2021;224(5):793-797. doi:10.1093/infdis/jiab314
40. Watanabe M, Balena A, Tuccinardi D, et al. Central obesity, smoking habit, and hypertension are associated with lower antibody titres in response to COVID-19 mRNA vaccine. *Diabetes Metab Res Rev.* 2021. doi:10.1002/dmrr.3465
41. Naranbhai V, Pernat CA, Gavralidis A, et al. Immunogenicity and Reactogenicity of SARS-CoV-2 Vaccines in Patients With Cancer: The CANVAX Cohort Study. *J Clin Oncol.* 2022;40(1):12-23. doi:10.1200/JCO.21.01891
42. Barriere J, Chamorey E, Adjoutah Z, et al. Impaired immunogenicity of BNT162b2 anti-SARS-CoV-2 vaccine in patients treated for solid tumors. *Ann Oncol.* 2021;32(8):1053-1055. doi:10.1016/j.annonc.2021.04.019
43. Massarweh A, Eliakim-Raz N, Stemmer A, et al. Evaluation of Seropositivity Following BNT162b2 Messenger RNA Vaccination for SARS-CoV-2 in Patients Undergoing Treatment for Cancer. *JAMA Oncol.* 2021;7(8):1133-1140. doi:10.1001/jamaoncol.2021.2155
44. Kageyama T, Ikeda K, Tanaka S, et al. Antibody responses to BNT162b2 mRNA

- COVID-19 vaccine and their predictors among healthcare workers in a tertiary referral hospital in Japan. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(12):1861 e1861-1861 e1865. doi:10.1016/j.cmi.2021.07.042
45. Moncunill G, Aguilar R, Ribes M, et al. Determinants of early antibody responses to COVID-19 mRNA vaccines in a cohort of exposed and naive healthcare workers. *EBioMedicine.* 2022;75:103805. doi:10.1016/j.ebiom.2021.103805
46. Das SK. Harmful health effects of cigarette smoking. *Mol Cell Biochem.* 2003;253(1-2):159-165. doi:10.1023/a:1026024829294
47. Skok MV, Kalashnik EN, Koval LN, et al. Functional nicotinic acetylcholine receptors are expressed in B lymphocyte-derived cell lines. *Mol Pharmacol.* 2003;64(4):885-889. doi:10.1124/mol.64.4.885
48. Skok M, Grailhe R, Changeux JP. Nicotinic receptors regulate B lymphocyte activation and immune response. *Eur J Pharmacol.* 2005;517(3):246-251. doi:10.1016/j.ejphar.2005.05.011
49. Skok MV, Grailhe R, Agenes F, Changeux JP. The role of nicotinic receptors in B-lymphocyte development and activation. *Life Sci.* 2007;80(24-25):2334-2336. doi:10.1016/j.lfs.2007.02.005

50. Ferson M, Edwards A, Lind A, Milton GW, Hersey P. Low natural killer-cell activity and immunoglobulin levels associated with smoking in human subjects. *Int J Cancer*. 1979;23(5):603-609. doi:10.1002/ijc.2910230504
51. Sopori M. Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(5):372-377. doi:10.1038/nri803
52. MacKenzie JS, MacKenzie IH, Holt PG. The effect of cigarette smoking on susceptibility to epidemic influenza and on serological responses to live attenuated and killed subunit influenza vaccines. *J Hyg (Lond)*. 1976;77(3):409-417. doi:10.1017/s0022172400055790
53. Nouri-Shirazi M, Guinet E. Exposure to nicotine adversely affects the dendritic cell system and compromises host response to vaccination. *J Immunol*. 2012;188(5):2359-2370. doi:10.4049/jimmunol.1102552
54. Browning KO, DeSarno MJ, Davis DR, et al. Relating individual differences in the reinforcing value of smoking and dependence severity to nicotine exposure levels in vulnerable populations. *Prev Med*. 2022;165(Pt B):107312. doi:10.1016/j.ypmed.2022.107312
55. Henningfield JE, Fant RV. Tobacco use as drug addiction: the scientific foundation.

- Nicotine Tob Res.* 1999;1 Suppl 2:S31-35. doi:10.1080/14622299050011781
56. Sohn M, Hartley C, Froelicher ES, Benowitz NL. Tobacco use and dependence. *Semin Oncol Nurs.* 2003;19(4):250-260. doi:10.1053/j.soncn.2003.08.002
57. Breteler MH, Hilberink SR, Zeeman G, Lammers SM. Compulsive smoking: the development of a Rasch homogeneous scale of nicotine dependence. *Addict Behav.* 2004;29(1):199-205. doi:10.1016/s0306-4603(03)00089-3
58. Pomerleau OF. Individual differences in sensitivity to nicotine: implications for genetic research on nicotine dependence. *Behav Genet.* 1995;25(2):161-177. doi:10.1007/BF02196925
59. Pomerleau OF, Collins AC, Shiffman S, Pomerleau CS. Why some people smoke and others do not: new perspectives. *J Consult Clin Psychol.* 1993;61(5):723-731. doi:10.1037//0022-006x.61.5.723
60. Heatherton TF, Kozlowski LT, Frecker RC, Fagerström KO. The Fagerström Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. *Br J Addict.* 1991;86(9):1119-1127. doi:10.1111/j.1360-0443.1991.tb01879.x
61. Nishizawa D, Kasai S, Hasegawa J, et al. Associations between the orexin (hypocretin) receptor 2 gene polymorphism Val308Ile and nicotine dependence in

- genome-wide and subsequent association studies. *Mol Brain*. 2015;8:50.  
doi:10.1186/s13041-015-0142-x
62. Mikami I, Akechi T, Kugaya A, et al. Screening for nicotine dependence among smoking-related cancer patients. *Jpn J Cancer Res*. 1999;90(10):1071-1075.  
doi:10.1111/j.1349-7006.1999.tb00679.x
63. Cui WY, Li MD. Nicotinic modulation of innate immune pathways via  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2010;5(4):479-488.  
doi:10.1007/s11481-010-9210-2
64. Cloëz-Tayarani I, Changeux JP. Nicotine and serotonin in immune regulation and inflammatory processes: a perspective. *J Leukoc Biol*. 2007;81(3):599-606.  
doi:10.1189/jlb.0906544
65. Benowitz NL. Biomarkers of environmental tobacco smoke exposure. *Environ Health Perspect*. 1999;107 Suppl 2:349-355. doi:10.1289/ehp.99107s2349
66. Duque A, Martínez PJ, Giraldo A, et al. Accuracy of cotinine serum test to detect the smoking habit and its association with periodontal disease in a multicenter study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017;22(4):e425-e431.  
doi:10.4317/medoral.21292



67. Pontes CC, Chikte U, Kimmie-Dhansay F, Erasmus RT, Kengne AP, Matsha TE. Prevalence of Oral Mucosal Lesions and Relation to Serum Cotinine Levels- Findings from a Cross-Sectional Study in South Africa. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(3). doi:10.3390/ijerph17031065
68. Khoury J, Najjar-Debbiny R, Hanna A, et al. COVID-19 vaccine - Long term immune decline and breakthrough infections. *Vaccine*. 2021;39(48):6984-6989. doi:10.1016/j.vaccine.2021.10.038
69. Huang CL, Lin HH, Wang HH. Psychometric evaluation of the Chinese version of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire as a measure of cigarette dependence. *J Adv Nurs*. 2006;55(5):596-603. doi:10.1111/j.1365-2648.2006.03951.x
70. Etter JF. A comparison of the content-, construct- and predictive validity of the cigarette dependence scale and the Fagerström test for nicotine dependence. *Drug Alcohol Depend*. 2005;77(3):259-268. doi:10.1016/j.drugalcdep.2004.08.015
71. Terada M, Kondo N, Wanifuchi-Endo Y, et al. Efficacy and impact of SARS-CoV-2 vaccination on cancer treatment for breast cancer patients: a multi-center prospective observational study. *Breast Cancer Res Treat*. 2022;195(3):311-323. doi:10.1007/s10549-022-06693-2

72. Watanabe Y, Matsuba I, Watanabe K, et al. Heterogeneity assessment of vaccine-induced effects using point-of-care surrogate neutralization test for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *J Clin Lab Anal.* 2022;36(7):e24545. doi:10.1002/jcla.24545
73. Bulgakova O, Zhabayeva D, Kussainova A, Pulliero A, Izzotti A, Bersimbaev R. miR-19 in blood plasma reflects lung cancer occurrence but is not specifically associated with radon exposure. *Oncol Lett.* 2018;15(6):8816-8824. doi:10.3892/ol.2018.8392
74. Philibert R, Dogan M, Beach SRH, Mills JA, Long JD. AHRR methylation predicts smoking status and smoking intensity in both saliva and blood DNA. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2020;183(1):51-60. doi:10.1002/ajmg.b.32760
75. Smith CJ, Hansch C. The relative toxicity of compounds in mainstream cigarette smoke condensate. *Food Chem Toxicol.* 2000;38(7):637-646. doi:10.1016/s0278-6915(00)00051-x
76. Yamamoto S, Tanaka A, Ohmagari N, et al. Use of heated tobacco products, moderate alcohol drinking, and anti-SARS-CoV-2 IgG antibody titers after

- BNT162b2 vaccination among Japanese healthcare workers. *Prev Med.* 2022;161:107123. doi:10.1016/j.ypmed.2022.107123
77. Tabuchi T, Kiyohara K, Hoshino T, Bekki K, Inaba Y, Kunugita N. Awareness and use of electronic cigarettes and heat-not-burn tobacco products in Japan. *Addiction.* 2016;111(4):706-713. doi:10.1111/add.13231
78. Prochaska JJ, Benowitz NL. Current advances in research in treatment and recovery: Nicotine addiction. *Sci Adv.* 2019;5(10):eaay9763. doi:10.1126/sciadv.aay9763
79. Benowitz NL. Nicotine addiction. *N Engl J Med.* 2010;362(24):2295-2303. doi:10.1056/NEJMra0809890
80. Ma E, Brown N, Alshaikh B, Slater D, Yusuf K. Comparison of the Fagerström Test for Cigarette Dependence and the Heaviness of Smoking Index in the Second and Third Trimester of Pregnancy. *Nicotine Tob Res.* 2017;20(1):124-129. doi:10.1093/ntr/ntw271
81. Stämpfli MR, Anderson GP. How cigarette smoke skews immune responses to promote infection, lung disease and cancer. *Nature Reviews Immunology.* 2009;9(5):377-384. doi:10.1038/nri2530

82. Bekki K, Inaba Y, Uchiyama S, Kunugita N. Comparison of Chemicals in Mainstream Smoke in Heat-not-burn Tobacco and Combustion Cigarettes. *J UOEH*. 2017;39(3):201-207. doi:10.7888/juoeh.39.201
83. Benowitz NL, Bernert JT, Caraballo RS, Holiday DB, Wang J. Optimal serum cotinine levels for distinguishing cigarette smokers and nonsmokers within different racial/ethnic groups in the United States between 1999 and 2004. *Am J Epidemiol*. 2009;169(2):236-248. doi:10.1093/aje/kwn301
84. Signorello LB, Cai Q, Tarone RE, McLaughlin JK, Blot WJ. Racial differences in serum cotinine levels of smokers. *Dis Markers*. 2009;27(5):187-192. doi:10.3233/DMA-2009-0661
85. Zainol Rashid Z, Othman SN, Abdul Samat MN, Ali UK, Wong KK. Diagnostic performance of COVID-19 serology assays. *Malays J Pathol*. 2020;42(1):13-21
86. Merrill AE, Jackson JB, Ehlers A, Voss D, Krasowski MD. Head-to-Head Comparison of Two SARS-CoV-2 Serology Assays. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. 2020;5(6):1351-1357. doi:10.1093/jalm/jfaa125
87. Jalkanen P, Kolehmainen P, Häkkinen HK, et al. COVID-19 mRNA vaccine induced antibody responses against three SARS-CoV-2 variants. *Nat Commun*.

2021;12(1):3991. doi:10.1038/s41467-021-24285-4

88. Ponticelli D, Antonazzo IC, Caci G, et al. Dynamics of antibody response to BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine after 6 months. *J Travel Med.* 2021;28(8). doi:10.1093/jtm/taab173
89. Aoike M, Mori Y, Hotta K, et al. Evaluation of Japanese university students' perception of smoking, interest in quitting, and smoking behavior: An examination and public health challenges during the COVID-19 pandemic. *Drug Discov Ther.* 2022;16(3):118-123. doi:10.5582/ddt.2022.01041
90. Mori Y, Iio Y, Aoyama Y, et al. Willingness and Predictors of Bystander CPR Intervention in the COVID-19 Pandemic: A Survey of Freshmen Enrolled in a Japanese University. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(23). doi:10.3390/ijerph192315770
91. Iio Y, Mori Y, Aoyama Y, et al. A Survey of Living Conditions and Psychological Distress in Japanese University Freshmen during the COVID-19 Pandemic. *Healthcare (Basel).* 2022;11(1). doi:10.3390/healthcare11010094
92. Mori Y, Tanaka M, Kozai H, et al. Effects of Heat-Not-Burn Cigarette Smoking on the Secretion of Saliva and Its Innate Immune System Components. *Healthcare*

*(Basel)*. 2022;11(1). doi:10.3390/healthcare11010132