



新型コロナウイルス感染症（COVID-19）サイトカインストーム 発生の経路モデルを提唱

本研究成果のポイント

- 新型コロナウイルス感染症（以下、「COVID-19*¹」と言う。）重症患者の肺では、好中球とマクロファージの浸潤及びT細胞からのサイトカインが産生され、血中サイトカインの異常上昇（以下、「サイトカインストーム*²」と言う。）によって肺炎、血管内皮の損傷、血栓などを併発します。
- 本研究により、COVID-19サイトカインストームが発生する原因経路モデルを見出しました。
- サイトカインの血中濃度変化の情報を有効に活用することで、COVID-19サイトカインストームの発生機序の解明、治療への応用、創薬研究などに貢献できる可能性があります。

京都府立医科大学大学院医学研究科 救急・災害医療システム学 教授 太田 凡、同大学院医学研究科 ゲノム医科学 教授 田代 啓および同大学院医学研究科 麻酔科学 教授 佐和貞治（現 京都府立医科大学附属病院 病院長）らの研究グループは、COVID-19患者の血清中の生理活性物質であるサイトカインの濃度を経時的に測定し、患者の臨床データと併せて解析を行い、COVID-19サイトカインストームが発生する経路モデルを見出しました。本研究成果に関する論文が、2024年2月27日付で学術雑誌「Frontiers in Medicine」に掲載されましたのでお知らせします。

COVID-19サイトカインストームでは、連続的かつ異常上昇を示すサイトカインの一群が造血前駆細胞から免疫細胞であるヘルパーT細胞への分化経路上にあることから、サイトカインの経時的血中濃度変化の情報を有効に活用することで、COVID-19サイトカインストームの発生機序の解明、治療への応用、創薬研究などに貢献できる可能性が考えられます。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名：Frontiers in Medicine 発表媒体： <input checked="" type="checkbox"/> オンライン速報版 <input type="checkbox"/> ペーパー発行 <input type="checkbox"/> その他 雑誌の発行元国：スイス オンライン閲覧： <input type="checkbox"/> 不可 <input checked="" type="checkbox"/> 可 https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2024.1319980/full 掲載日：2024年2月27日（現地時間）
論文情報	<u>論文タイトル（英・日）</u> Potential marker subset of blood-circulating cytokines on hematopoietic progenitor-to-Th1 pathway in COVID-19 (COVID-19における造血前駆細胞からTh1細胞への分化経路の血液循環サイト

	<p>カインの潜在的マーカーサブセット)</p> <p>代表著者 京都府立医科大学大学院医学研究科 救急・災害医療システム学 太田 凡 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 田代 啓 京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学 佐和貞治 (現 京都府立医科大学附属病院)</p> <p>共同著者 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 高島康郎 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子病態感染制御・検査医学 稲葉 亨 京都府立医科大学大学院医学研究科 救急・災害医療システム学 松山 匡 京都府立医科大学大学院医学研究科 生命基礎数理学 吉井健悟 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 田中雅深 京都府立医科大学附属病院 臨床検査部 松本和道 京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学 須藤和樹 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 徳田雄市 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 大見奈津江 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 中野正和 京都府立医科大学大学院医学研究科 感染病態学 中屋隆明 京都府保健環境研究所 藤田直久 京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学 外園千恵</p>
研究情報	<p>研究課題名 新型コロナウイルス感染症COVID-19の病態メカニズム解明と反復パンデミックを防止できる治療薬の開発</p> <p>共同研究者 京都府立医科大学大学院医学研究科 救急・災害医療システム学 太田 凡 京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 田代 啓 京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学 佐和貞治 (現 京都府立医科大学附属病院) 京都府立医科大学大学院医学研究科 感染病態学 中屋隆明 京都府保健環境研究所 藤田直久</p>

【論文概要】

1 研究分野の背景や問題点

COVID-19は2019年に確認され、全世界に拡散し、我が国においても数多くの感染者を出しています。COVID-19は低酸素症を急激に悪化させ、重症化すると気管挿管や集中治療が必要となります。更に、COVID-19サイトカインストームの発生により、急性呼吸窮迫症候群や多臓器不全を引き起こす可能性があります。現在まで重症化の原因の不均一性や発生機序への理解が不十分なため、バイオマーカーに基づいた医療は確実とは言い切れませんでした。また、重症COVID-19は免疫抑制、骨髄機能不全、リンパ球減少、I型インターフェロン炎症性サイトカイン*3の誘導、T細胞の活性化と枯渇、免疫老化などを引き起こします。COVID-19重症患者の肺では、好中球とマクロファージの浸潤およびT細胞からサイトカインが産生されます。その結果、COVID-19サイトカインストームによって、肺炎、血管内皮の損傷、血栓などを併発します。

本研究では、2020年11月から2021年6月（国内第3波—第4波*⁴）にかけて本学附属病院において治療に当たった23例のCOVID-19患者（重症患者を含む）から採取した血清中のサイトカインをBio-Plex 200システムを用いたマルチプレックス蛍光抗体ビーズ法*⁵により定量し、「重症度」「併存疾患」「生化学検査」「治療歴」「入院期間」「臨床転帰」などと併せて考察しました。そして、COVID-19サイトカインストームの発生機序を解明するための研究基盤を構築し、COVID-19の治療へと応用できるサイトカインの精密なデータを取得することを目的としました。特に、国内最大規模である109種類のサイトカイン群を分析し、COVID-19サイトカインストームにおけるサイトカインの血中レベルと変動範囲ならびに症状の進行や回復によって変化するサイトカインを正確に示すことを試みました。

2 研究内容・成果の要点

本研究では、同一患者に由来する時系列の複数検体を扱うため、混合効果モデル*⁶を使用した特殊な統計解析を行いました。COVID-19患者（23例）の血清において109種類のサイトカインを測定しました。そのうち約70%が疾患の重症度、臨床転帰、長期入院、疾患の進行、回復によってサイトカインの血中レベルが変動しました（**図1**）。特に11種類のサイトカインはボンフェローニ補正*⁷によって血中濃度の変化が測定されました。このようにCOVID-19患者と非感染者（13例）との間に多くのサイトカインの発現差が認められ、COVID-19患者に発現低下しているサイトカイン（MDC、IL-31）を特定することができました（**図1**）。

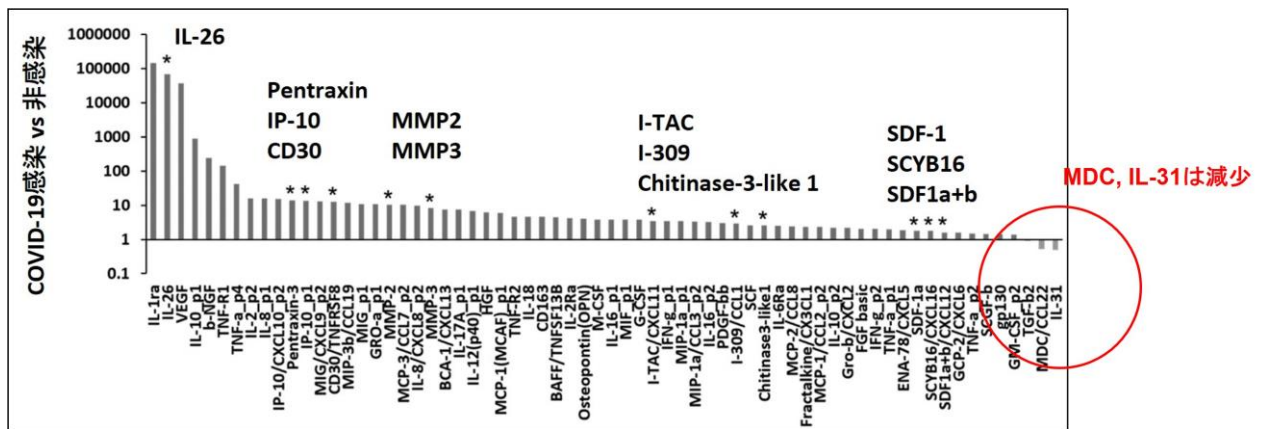


図1 COVID-19患者と非感染者を比較したときの血中サイトカイン濃度の倍率変化 図に示しているサイトカインはすべて有意差 $p < 0.05$ で発現差がある。特に「*」はボンフェローニ補正された有意差($p < 0.00035$)で発現差があった。(Takashima et al., *Front. Med.* 11(2024)より改変)

また、症状の進行の前後において、ENA-78、IL2Ra、MCP-4が増加し、MMP-2、CTACKが減少していました。一方、症状の回復の前後において、pentraxin-3、MMP-3、MMP-2など21種類のサイトカインが減少していました（**図2**）。この他にも、COVID-19患者の重症度による比較や、患者の入院期間中のCOVID-19サイトカインストームの発現変化量の総量に着目した解析を行い、上述の結果や患者の臨床データと併せて解析しました。その結果、IP-10、sTNF-R1、sTNF-R2、sCD30、sCD163、HGF、SCYB16、IL-16、MIG、SDF-1、FractalkineがCOVID-19サイトカインストームの主要な構成要素であることがわかりました。更に、SDF-1、SCYB16、sCD3、IL-11、IL-18、IL-8、IFN- γ 、TNF- α 、sTNF-R2、M-CSF、I-309は、「COVID-19感染」

「死亡」「症状の進行と回復」「長期入院」と強い相関があり、サイトカインの発現増加は造血前駆細胞*⁸からTh1ヘルパーT細胞*⁹への分化制御と過炎症に至る一連の経路で説明できる可能性が示されました (図3)。

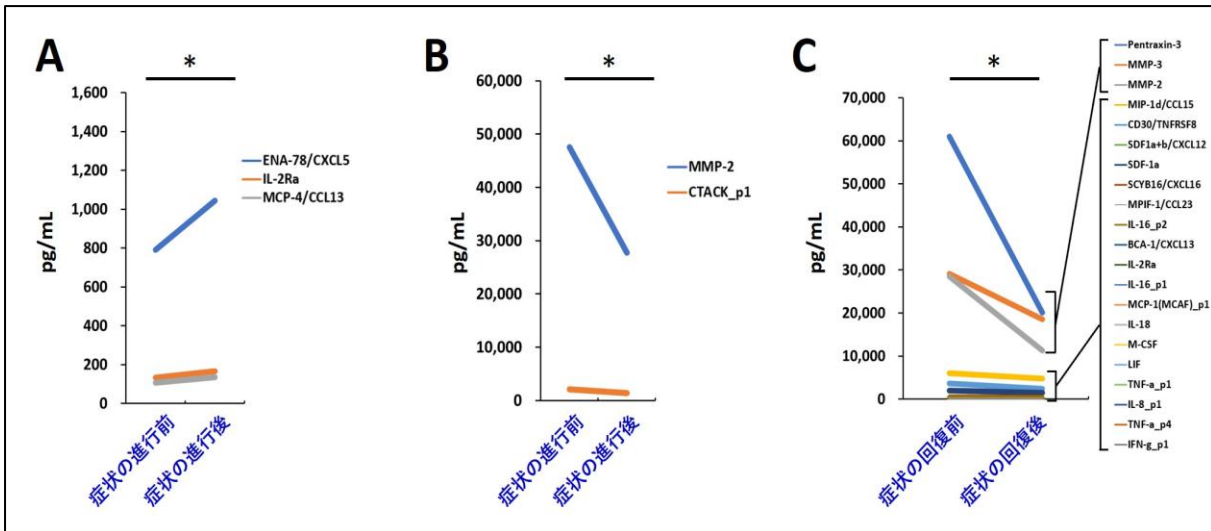


図2 症状の進行と回復の前後における血中サイトカイン濃度の変化 図に示しているサイトカインはすべて有意差 $p < 0.05$ 。症状の進行とは「軽症から中等症、あるいは中等症から重症」を表し、症状の回復とは「重症から中等症、あるいは中等症から軽症」を表す。(Takashima et al., *Front. Med.* 11(2024) より改変)

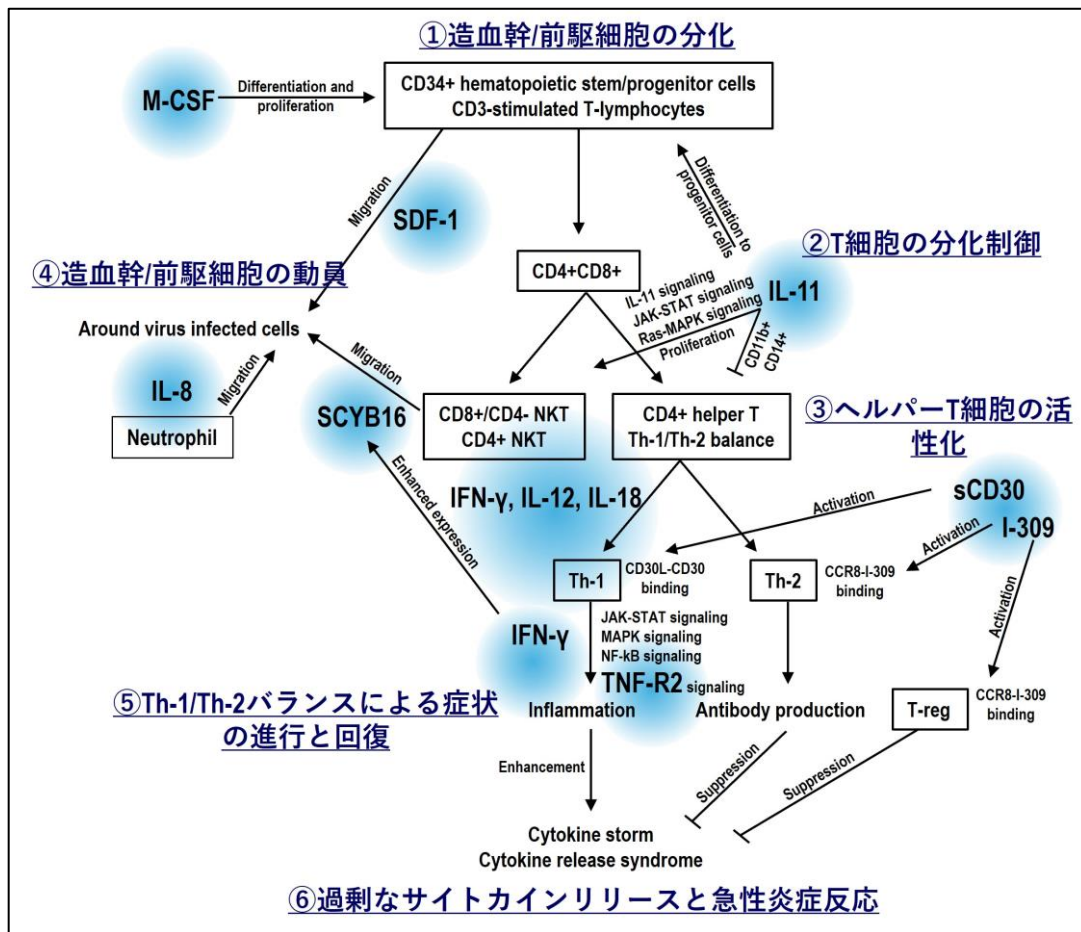


図3 新型コロナウイルス感染症 COVID-19 における血液循環サイトカインの潜在的マーカーサブセットで構成される仮説モデル 図中に示された 11 種類のサイトカインは、COVID-19 患者と非感染者との比較、重症度、臨床転帰、入院期間、症状の進行と回復、発現変化の変動係数などの比較データから繰り返し抽出された。これら 11 種類のサイトカイン (SDF-1、SCYB16、sCD30、IL-11、IL-18、IL-8、IFN- γ 、TNF- α 、sTNF-R2、M-CSF、I-309) は造血前駆細胞から Th1 ヘルパー T 細胞への分化経路上にある潜在的なサイトカインマーカーのサブセットと考えられる。(Takashima et al., *Front. Med.* 11(2024) より改変)

3 今後の展開と社会へのアピールポイント

本研究により、COVID-19感染時に引き起こされるサイトカインストームの主要構成要素ならびに重症度などと相関するTh1ヘルパーT細胞性過炎症反応の経路上に予測された一連の血液循環サイトカインの物質が明らかになりました。このうち、IL-11は、新型コロナウイルス感染症における新規サイトカインのマーカー候補となる可能性があります。組換えインターロイキン11やSDF-1受容体拮抗薬を用いることで、COVID-19の新たな治療戦略に応用できる可能性が考えられます(例：SDF-1受容体拮抗薬により動員した造血前駆細胞を組換えIL-11タンパクにより活性化させ、血小板の生成を促進することで血小板減少症を緩和する)。本研究においても、COVID-19により減少するサイトカインが検出されました。従って、このようなサイトカインを活性化することにより、COVID-19の新規治療戦略へ繋がる可能性が期待されます。

4 用語の説明

- *¹**COVID-19** : Coronavirus disease 2019。コロナウイルス2 (SARS-CoV-2) による新型コロナウイルス感染症。2019年に確認され、その後、世界中に広がった。
- *²**サイトカインストーム** : 過剰な炎症反応によるサイトカインの大量放出。血液凝固異常や血栓形成により、心筋梗塞、肺塞栓、脳梗塞、下肢動脈塞栓などを引き起こす場合がある。
- *³**I型インターフェロン炎症性サイトカイン** : I型サイトカイン受容体 (CCR1) を介してシグナル伝達するサイトカイン。IL-1, IL-6, TNF- α
- *⁴**国内第3波-第4波** : 第3波 (2020年11月1日~2021年3月31日) ではステロイド、レムデシビル、抗凝固薬などで治療した。その後、アルファ株が出現した。第4波 (2021年4月1日~6月30日) ではワクチン接種が導入された。一方で、患者数が増加し、医療体制が逼迫した。
- *⁵**マルチプレックス蛍光抗体ビーズ法** : サンドイッチELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay) の原理でビーズ上の特異的抗体と蛍光標識抗体の間に標的タンパクを固定して、同時に複数の蛍光強度を測定することにより濃度を定量する手法。
- *⁶**混合効果モデル** : 固定効果 (fixed effect) と変量効果 (random effect) の両方を含んだ統計学的モデルで医学や生物学等の幅広い分野で用いられる。任意の項目を繰り返し観察する場合に有用で、欠測データの取り扱いに優れている。
- *⁷**ボンフェローニ補正** : 多重性の問題を解決するために意図的に有意水準低くする手法。有意水準 α / m 。帰無仮説の有意水準 α : $p=0.05$ のとき、仮説の数 m : 測定した143種類のビーズの数により、本研究では α / m : $p=0.00035$ となる。
- *⁸**造血前駆細胞** : 造血幹細胞が成熟した血液細胞 (赤血球、白血球、血小板、マクロファージなど) へと分化する過程の中間段階の細胞。
- *⁹**Th1ヘルパーT細胞** : T helper (Th) 細胞の一種で細胞性免疫を調節する。細菌やウイルスなどの異物に対して免疫応答し、B細胞、キラーT細胞、マクロファージなどを活性化する。

<研究に関すること>	<広報に関すること>
京都府立医科大学大学院 ゲノム医科学 教授 田代 啓 電 話 : 075-251-5347 E-mail : tashiro@koto. kpu-m. ac. jp	事務局 企画広報課 担当 : 堤 電 話 : 075-251-5804 E-mail : kouhou@koto. kpu-m. ac. jp