

COVID-19 急性呼吸不全患者における重症化病態の解明への新手法

「気管支マイクロサンプリング法」で肺内炎症サイトカインを分析！

本研究成果のポイント

- これまでの重症肺炎の研究では、血液を調べることで免疫機能への影響が考察されてきましたが、肺の炎症が激しい新型コロナウイルス感染症（COVID-19）患者の免疫反応については、血液を調べるだけでは不十分です。最近の研究では、COVID-19 患者の肺には特有の免疫反応があり、その影響が治療の効果にも大きい影響があることが示唆されています。
- 本研究では、人工呼吸器療法が必要であった27人のCOVID-19患者において、肺の気管支上皮細胞上の被覆液（気管支上皮被覆液 ELF）を世界で初めて気管支マイクロサンプリング法で採取し、肺内炎症サイトカイン濃度を定量し、胸部 CT 画像で認められる肺傷害の程度との関連を明らかにしました。
- その結果、重症呼吸不全や健康状態が悪化の患者の急性肺傷害の複雑な病理を理解する上で、肺特有の炎症についての重要な洞察を提供できることを示しました。

京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学（京都府立医科大学附属病院 集中治療部）助教 須藤 和樹，京都府立医科大学附属病院 病院長 佐和 貞治，同大学大学院医学研究科 分子病態感染制御・検査医学 病院教授 稲葉 亨，同大学大学院医学研究科 ゲノム医学 教授 田代 啓，同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 凡らの研究グループによる、COVID-19 急性呼吸不全患者における肺内炎症性サイトカイン解析に関する研究成果が科学雑誌『Critical Care』に（2024年4月23日）付けでオンライン掲載（doi: 10.1186/s13054-024-04921-3）されましたのでお知らせします。

本研究では、重症 COVID-19 急性呼吸不全患者における気管支上皮被覆液に含まれる炎症性サイトカインを **世界で初めて気管支マイクロサンプリング法で詳しく分析**しました。その結果、肺内の炎症性サイトカインの量が異常に増加し、かつ高度に肺内に区画化されていることが解明されました。この研究から、重症 COVID-19 肺傷害への理解がより深まり、治療的介入に関しても新たな観点が必要であることを報告しました。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名 Critical Care
	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 欧州連合
	オンライン閲覧 可
	https://cforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-024-04921-3

論文情報	<p>論文タイトル (英) Case study observational research: Inflammatory cytokines in the bronchial epithelial lining fluid of COVID-19 patients with acute hypoxemic respiratory failure</p> <p>代表著者 京都府立医科大学附属病院 佐和 貞治</p> <p>共同著者 京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学 (京都府立医科大学附属病院 集中治療部) 須藤和樹 京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学 木下 真央 京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学 川口 顕 京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学 串本 洗輔 京都府立医科大学附属病院 集中治療部 井上 敬太 京都府立医科大学附属病院 集中治療部 吉井 龍吾 京都第一赤十字病院 集中治療部 山崎 正記 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 京都府立医科大学附属病院 集中治療部 小尾口 邦彦 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 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 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 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 太田 凡</p>
研究情報	<p>研究課題名 新型コロナウイルス COVID-19 感染症患者レジストリ構築・臨床試料集積と基盤研究(ERB-C-1810-4), 及び健常成人における気管・気管支分泌液中のサイトカイン濃度解析(ERB-C-2179-1)</p> <p>代表研究者 京都府立医科大学附属病院 佐和 貞治</p> <p>主たる共同研究者 京都府立医科大学大学院医学研究科 麻酔科学 (京都府立医科大学附属病院 集中治療部) 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 田代 啓 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 太田 凡 他, 12名</p> <p>資金的関与 (獲得資金等)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業 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 (研究開発代表者: 萩原 正敏, 京都大学) ・文部科学省科学研究費 基盤研究(B) 22H03176 COVID-19 に対するスパイク蛋白 CpG-ODN 経鼻投与ワクチンの開発 (研究代表者: 佐和 貞治, 京都府立医科大学)

【論文概要】

1 研究分野の背景や問題点

重症 COVID-19 に認められる急性低酸素血症性呼吸不全 (AHRF) やサイトカイン放出症候群は、しばしば多臓器不全や死につながるがありました。これまでの COVID-19 の研究では、AHRF を患う患者の免疫機能に及ぼす COVID-19 の影響を研究するため、血液サンプルを用いることの容易さから血液内の因子の分析に主に焦点が当てられてきました。しかし、最近の報告によると COVID-19 患者の気管支肺胞の免疫反応は、これらの患者の血液で観察される免疫反応とは大きく異なる特有の局所プロファイルを示していることが示唆されています。ウイルスが感染した肺には複雑な免疫メカニズムが存在し、その肺内に区分化された炎症反応が病態形成に重要な役割を果たしている可能性があります。

2 研究内容・成果の要点

本研究では人工呼吸器 (MV) を必要とした 27 人の COVID-19 AHRF 患者を対象にしました。気管支マイクロサンプリング (MS) を用いて気管支上皮内腔液 (ELF) を採取し (図 1)、マルチプレックスビーズ法を用いて COVID-19 患者の ELF および血漿内の 25 種類のサイトカイン濃度を分析し、胸部 CT 画像で示される肺傷害の重症度との関連を探求しました。

結果：健康人と比べて、新型コロナ患者の気管支の液体には、IL-8, TNF- α や、MIP-1 β , MCP-1 などの炎症性サイトカインが特に多く含まれていることが分かりました。加えて、気管支 ELF と血液中のサイトカインの発現プロファイルには、肺傷害の重症度によって違いがあることが解りました (図 2, 図 3, 図 4)。

結論：COVID-19 の AHRF 患者では、肺 ELF に含まれる炎症性サイトカインの発現量が増加しており、更にこの肺の炎症性サイトカインの発現は肺内に高度に区画化されていることが解りました。この研究から、COVID-19 AHRF 患者の病態を理解するためには、血液中のサイトカインだけ分析することは不十分であり、肺 ELF に含まれるサイトカインを詳しく分析することで重症肺炎の病態メカニズムへの理解が深まることが解りました。

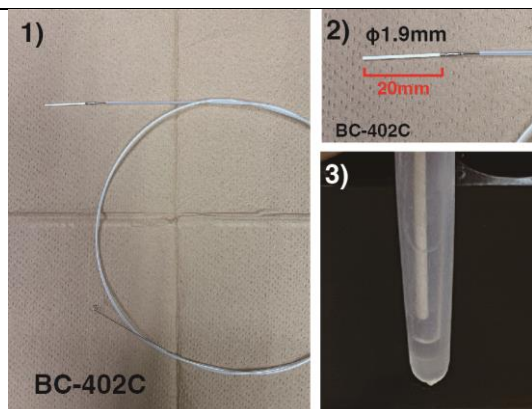


図 1. マイクロサンプリングプローブ. 1) マイクロサンプリングプローブ (型番 BC-402C; オリンパス, 東京, 日本) は, 外径 2.5 mm のポリエチレン製シースと内部に 1.9 mm のポリエステル繊維ロッドプローブが 20 mm の長さで取り付けられ, ステンレス製のガイドワイヤーに接続されている. 2) マイクロサンプリングプローブの先端. 3) マイクロサンプリングプローブから上皮内腔液を遠心分離によって抽出.

ELF/plasma ratio

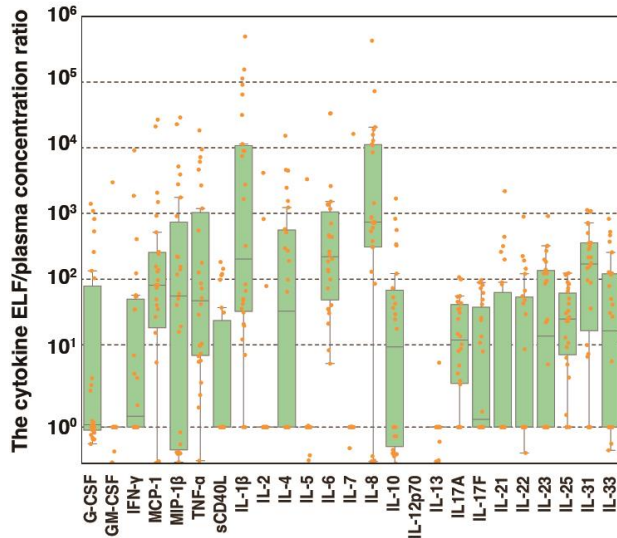


図 2. 急性低酸素血症性呼吸不全 (AHRF) を持つ COVID-19 患者の気管支上皮内腔液 (ELF) および血漿のサイトカイン濃度を分析. 気管支 ELF/血漿濃度の比率を箱ひげ図, 中央値 (中心線).

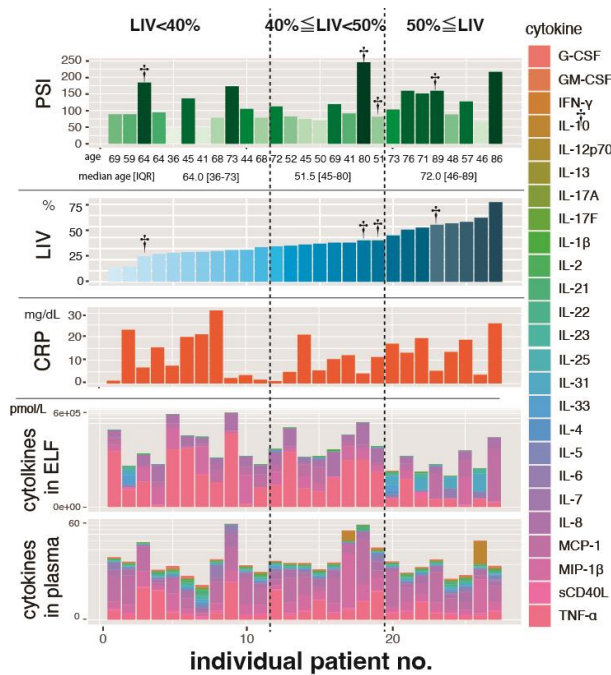


図 3. 各患者における肺炎重症度指数 (PSI), 肺浸潤体積 (LIV), 血中 C 反応性タンパク (CRP) 濃度, 気管支上皮内腔液 (ELF) および血漿中のサイトカイン濃度. 患者データは COVID-19 による急性低酸素血症性呼吸不全を発症した患者は LIV の順. †死亡した患者. ELF: 上皮被覆液, CRP: C 反応性タンパク, PSI: 肺炎重症度指数, LIV: 肺浸潤体積 (%).

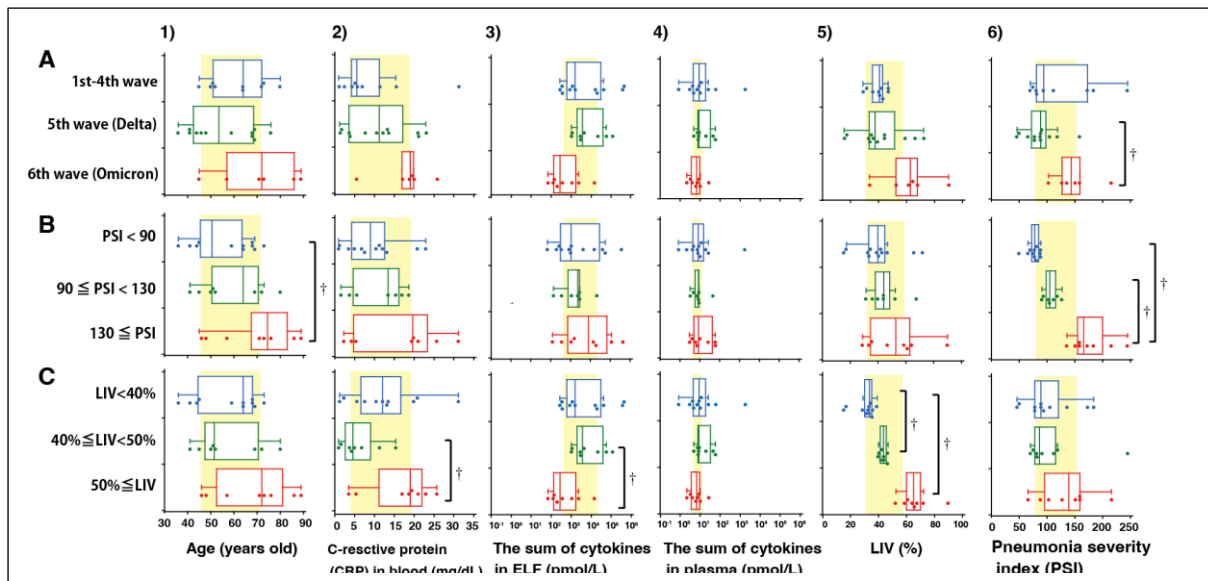


図 4. 年齢, 肺上皮被覆液 (ELF) および血漿中の全サイトカイン濃度, 肺炎重症度指数 (PSI), および急性低酸素血症性呼吸不全 (AHRF) を発症した COVID-19 患者のグループ間の急性肺傷害容量 (LIV). A. COVID-19 による AHRF を発症した患者の 3 つの時系列グループ. B. 肺炎重症度指数 (PSI) によって分類された患者グループ. C. 肺浸潤容量 (LIV) によって評価された急性肺損傷の重症度によって分類された患者グループ. 箱で表される範囲は四分位範囲 (IQR). 箱の中央線は中央値を示す. † $p < 0.05$: Kruskal-Wallis 検定は, 複数比較検定のための Bonferroni 補正により調整). ELF: 上皮被覆液, CRP: C 反応性タンパク, PSI: 肺炎重症度指数, LIV: 肺浸潤体積 (%).

3 今後の展開と社会へのアピールポイント

2001 年に故石坂彰敏 (慶應義塾大学呼吸器内科学前教授) が開発した気管支 MS 技術は, 患者の肺 ELF から抗生物質の量やタンパク質の種類を調べるのに使うことが可能です. 以前は, 肺洗浄液 (BAL 法) を使って肺の炎症を調べていましたが, この BAL 法は病原体に触れるリスクがあり, また重症患者では呼吸困難や肺の浮腫を悪化する可能性があるため, COVID-19 の AHRF 患者では実施は困難です. 一方, MS 法では, より安全に肺の ELF を薄めずに採取できます. COVID-19 患者の肺には特有の炎症反応があり, 肺内の炎症物質が肺内に集中して, 全身の血液の炎症とは大きく異なるものであることを示しました. 興味深いことに, 重症の肺疾患を持つ患者は, より重症度の低い患者よりも肺の液体中の炎症物質が少なかったことが解りました. オミクロン変異株は重症化しにくいとされていますが, 免疫が弱い高齢者には肺に大きなダメージを与えることもあります. これらは, COVID-19 の患者の肺の傷害や全身の症状を理解するためには, 血液中の炎症物質の分析だけでは不十分であることを示しています.

本研究は MS 技術を用いた肺 ELF の分析を行い, 特に重症呼吸不全や健康状態が悪化の患者の急性肺傷害の複雑な病理を理解する上で, 肺特有の炎症についての重要な洞察を提供できることを示しました.

<p>< 研究に関する事 > 京都府立医科大学附属病院 病院長 佐和貞治 電話 : (麻酔科学) 075-251-5633 E-mail : anesth@koto.kpu-m.ac.jp</p>	<p>< 広報に関する事 > 事務局企画広報課 担当 : 堤 電話 : 075-251-5804 E-mail : kouhou@koto.kpu-m.ac.jp</p>
---	--