

翻訳②佐々木脩浩、佐々木紀子、廣瀬立剛、廣瀬邦子

佐々木脩浩：東京歯科大学微生物学教室非常勤講師、八千代市開業

Journal of Emerging Microbes and Infections Volume 9, 2020-Issue 1

p : 727 – 732、Published online:30,Mar

Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染の潜在的病因の仮説- ウイルス性肺炎患者における免疫変化の検討

Ling Lin その他、ウェイ曹感染症科、北京ユニオン医科大学、中国

要約：コロナウイルス病 2019（COVID-19）は、飛沫と接触を主な感染手段とする重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2（SARS-CoV-2）によって引き起こされる感染症である。2019 年 12 月に中国の武漢市で初めて登場して以来、世界的な流行が急激に広がっている。これまで中国保健委員会が発表した公式データによると、新たに診断された患者の数は減少しており、流行は徐々に制御されている。ほとんどの患者は感染後に軽度の症状と良好な予後を示すが、一部の患者は重篤に発症し、多臓器不全症で死亡している。ヒトにおける SARS-CoV-2 感染の病因は不明のままである。免疫機能は、侵襲的な病原体に対する強力な防御であり、現在、ウイルスに対する特定の抗ウイルス剤はない。本稿では、SARS、MERS、および SARS-CoV-2 と同様の他のウイルス性肺炎のようなコロナウイルスの免疫学的変化を検討している。多くの文献と組み合わせることで、COVID-19 の潜在的な病因が推定され、重症の患者に高用量の静脈内免疫グロブリン療法および低分子ヘパリン抗凝固療法の治療提案が勧告できる。

キーワード：COVID-19、SARS-CoV-2、抗凝固、IVIg、病因

緒言

新型コロナウイルスが湖北省武漢で発生し、中国全土および他の 197 カ国に急激に広がっていることから、2003 年の重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（SARS-CoV） [1]およびサウジアラビアと韓国で大流行した中東呼吸器症候群（MERS-CoV） [2]以来、コロナウイルス（CoVs）が再びトップニュースとなっている。現在までに（2020 年 4 月 11 日時点、朝日新聞）、約 160 万 5548 人の患者が感染し、9 万 5808 人の死亡が確認されており

[3]、できる限り早い段階での緊急のウイルス感染の特定と治療介入が必要である。核酸検査（リアルタイム PCR 法）はウイルスゲノム配列の検出に最大の役割を果たしているが [4]、超過敏性やサンプリングへの依存は、病院内の偽陽性または偽陰性の結果につながる可能性がある。実用的な治療法や可能な医薬品に対していくつかの種類の研究が行われているにもかかわらず、どの抗ウイルス剤に対してもコンセンサスは得られていない [5]。免疫システムが SARS-CoV および MERS 感染に対する防御において重要な役割を果たしたことはすでに多くの論文で確認されている。SARS [6]、MERS [7] およびインフルエンザ [8] の患者における免疫変化、特に末梢血 T リンパ球サブセットの変化は、病気の特徴、診断、監視、予防および治療の理解に貢献している。

SARS における免疫変化

重症急性呼吸器症候群の場合（2002 年）

SARS-CoV 感染の急性期において、末梢血におけるリンパ球 [6]、主に T リンパ球の急速な減少が観察され、また、CD4+ および CD8+ T リンパ球の両方が減少した。リンパ球の喪失は、胸部 X 線の異常変化にも先立って生じた [9, 10]。SARS 患者の 1 年間のフォローアップの後、CD3+、CD4+ および CD8+ T 細胞は疾患回復期間中に急速に回復した。CD8+ T リンパ球は発症後 2~3 ヶ月以内に正常に戻った。CD4+ T 細胞は発症後 1 年で正常に戻ったのに対し、総 T リンパ球、CD3+ 細胞、CD4+ 細胞、ナイーブ CD4+ T 細胞を含む他の細胞数は依然として健康なコントロールよりも低かった [11]。ウイルス感染後、リンパ球の分離による末梢血中のリンパ球減少症を最初に想定した。回復中のリンパ球の増加は、胸腺によって産生される新しい細胞ではなく、末梢血と組織または器官との間のリンパ球再循環である [11]。SARS 特異的 IgG 抗体は、急性期後期に約 2 週間で産生され、疾患の経過とともに徐々に増加する [12]。IgG の持続的な存在は、患者に感染後の免疫機能を獲得させる。回復中の患者は、S タンパク質特異的中和抗体応答の高くかつ持続的なレベルを有し、疾患の転帰を決定する上で重要な役割を果たす可能性がある [13]。軽度の患者の IgG レベルは、重症患者のそれよりも有意に高かった。疾患の進行の過程で、患者は回復の初期段階でピークに達する IL-8 および TNF- α レベルの増加を伴い、一方、MCP-1 は早期急性期の急速な増加を示し、疾患の進行に伴って徐々に減少する。上記の知見に基づき、疾患の初期段階においてグルココルチコイドの低用量を 2 週間未満で治療し、最も重篤な患者の症状が十分に制御されるようにすることが提案されている [9]。これは他の文献で示される高容量のグルココルチコイドの効果とは異なる [14]。

MERS の免疫変化（2012 年）

中東呼吸器症候群の場合（MERS コロナウイルス）

2012年に患者から分離し[15]、家族間や病院内での感染拡大で高い死亡率を伴う[2]、以前は未知であったコロナウイルス（MERS-CoV）は、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（SARS-CoV）に類似していた。2つのウイルスのゲノム構造は非常に類似しており、両方とも一本鎖陽性感覚 RNA ウイルスである。しかし宿主細胞に入ると、MERS-CoV と SARS-CoV は、それぞれ異なる受容体ジペプチジルペプチダーゼ 4（DDP4）およびアンジオテンシン変換酵素 2（ACE2）に付着する[16, 17]。また、SARS-CoV 感染のような MERS-CoV 感染の臨床症状は、無症候性感染症から、急性呼吸窮迫症候群、敗血症性ショック、および多臓器不全を伴う致死性のある重度の肺炎まで多岐にわたる[15]。臨床的病因は明確に説明されていないが、韓国の 45 人の患者を比較する遡及研究[7]は、末梢リンパ球の数の減少（リンパ球減少症で、リンパ球絶対数が 1,000 細胞/mm³ 未満の場合）と、血小板減少症（血小板数が 150000 細胞/mm³ 未満）および高 CRP レベルは、肺炎の発症および呼吸不全への進行を疾患の初期段階で予測することができることを示唆している。この結果は、Min その他による報告の証拠で裏付けられている[18]。一方で、MERS 感染におけるリンパ球減少症は SARS 患者に比較して有意でないことは注目すべきであり[19]、免疫抑制状態および付随感染を除いて、年齢が唯一の予測因子であることを発見した[20]。

MERS-CoV の T 細胞応答に関しては、症状の発症後 2 週間以内（急性期）に、インターロイキン（IL）-6 および C-X-C モチーフケモカイン（CXCL）-8 のような炎症性サイトカイン/ケモカイン分泌以外に[21, 22]、MERS-CoV に反応性がある CD8+T 細胞の高頻度が重度/中等度の疾患患者で観察され、体液性および CD4+T 細胞応答の検出前に観察されている。回復期には、CD8+T 細胞応答の大きさが大幅には増強されなかった[22]。この結果は、侵入する MERS-CoV を効率的に制御できないことが強い炎症および CTL 応答をもたらすことを示しており、これがウイルスをクリアする上で重要な役割を果たす。また、発症後 24 日目に得られた PBMC は、MERS-CoV S タンパク質に対し強い特定の T 細胞反応を示している[23]。MHV（SARS-CoV および MERS-CoV と同じ β コロナウイルス群の一種）のウイルスクリアランスからの細胞傷害性 T リンパ球（CTL）保護の役割は、動物実験モデルにおいても実証されている[24]。

Zhao その他[25]は、回復期に、試験管内で測定された中和（PRNT50）抗体力細胞が感染したマウスの血清保護能を予測し、CD8+ T 細胞ではなく CD4+ T 細胞応答と相関していることを発見した。そして、その実験では、CD4+ T 細胞はフェノタイプエフェクターメモリ（CD45RA-CCR7⁻）細胞であり、一方ウイルス特異的な CD8+ T 細胞集団は、半分はエフェクター（CD45RA-CCR7⁻）細胞、もう半分は CD45RA+CCR7⁻細胞であった。MERS 患者の症状発症後のリンパ球応答の持続的かつ緩やかな増加は、MERS-CoV に対する効果的な免疫応答に必要である可能性があるが、CTL がターンオーバーするかどうか

か、及び、これらの細胞が提供する効果については依然としてさらなる研究を必要とする。

インフルエンザの免疫変化 (2009)

MERS および SARS の消失とは異なり、2009 年のインフルエンザ大流行 (H1N1) は季節性株に組み込まれている。しかし、インフルエンザパンデミック(H1N1)は、通常は季節性株とされるインフルエンザ A ウイルス (IAV) およびインフルエンザ B ウイルス (IBV) と比較して[27]より高い死亡率を有する[26]。インフルエンザゲノムは 8 つのセグメントを含み、抗原ドリフトとシフトの両方が可能であり、それぞれ小さなヌクレオチド突然変異とゲノムセグメントの交換を行う。これらの特徴により、ヒト集団には季節的な流行を可能にする新しい抗原が存在しなかった。

H1N1 感染の症状は、潜在性の症状から、発熱、筋痛、鼻の痛みを伴い、急性低酸素血症および急性呼吸窮迫に進行する重大な倦怠感まで多岐に及んだ。胃腸、神経機能および心臓機能障害などの肺外提示も報告された[26]。パンデミック 2009 H1N1 ウイルス感染および宿主免疫パターンの特徴付けは不完全だが、初期の応答期間において、IL-15、IL-8、特に IL-6 の血漿レベルの上昇は重篤な疾患のマーカーである可能性がある[28]。別の研究[28]では、感染前および感染中のインフルエンザに対する 41 の健康なボランティア T 細胞応答をマッピングし、インフルエンザ特異的 CD4+T 細胞がヒトのインフルエンザ攻撃に対する疾患保護と相関することを実証している。しかし、Kristin G.I.、Mohn その他[8]は、中等度および重度の疾患を有する急性および回復期の患者における免疫応答は急性および回復期にある患者において PBMC を刺激し、急性期の患者では CD4+IFN- γ T 細胞と比較してインフルエンザ特異的 CD8+の頻度が有意に低く、一方で回復期の患者においては、保存されたコア抗原に向けた CD4+および CD8+T 細胞のレベルが高いことを示唆している。十分なサンプルサイズと研究デザインの欠如を考えると、感染の異なる期間における T リンパ球サブグループの優位性の不一致があるかどうかはさらに探求されるべきであるが、CD4+ T リンパ球数は疾患重篤度に関連付けて考えられている[28, 29]。

季節性インフルエンザ感染では、末梢リンパ球数とリンパ球サブセットが重篤な病気の後と有意な相関関係を示していることは注目に値する。IAV または IBV 患者と健康な被験者を比較した研究では、血清 IL-6、IL-8 レベルを上昇させ、患者感染に関連する CD3+CD4+、CD3+CD8+、NK カウントを減少させた[30, 31]。

この文献でレビューされているように、SARS-CoV、MERS-CoV およびインフルエンザウイルスのような呼吸器感染症のウイルスはすべて定期的な流行および死を引き起こした。

組織病理学的検査は、びまん肺の損傷、浮腫性肺病変および肺炎という共通した特徴を示す[32-34]。また、MERS-CoVに感染したアカゲザルにおいてのみ、接種後の最初の2日間で一過性リンパ球減少を検出することができたが[33]、ウイルス感染の検査は、上気道および下気道におけるウイルス複製の能力が軽度または中等度の臨床徴候および病理学的変化に関連していることを示している[33-35]。Jiang Gu その他[36]は、マークされたTリンパ球（CD3+、CD4+およびCD8+細胞）の低下が免疫系を弱め、気道のSARS感染を悪化させたと仮定した。要約すると、ウイルス複製、分布および関連する免疫応答が感染症の進行に寄与した。末梢リンパ球の変化とリンパ球サブ群の転移は、SARS-CoV-2感染の病因に新たな考えをもたらす可能性がある。

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の仮説の病因

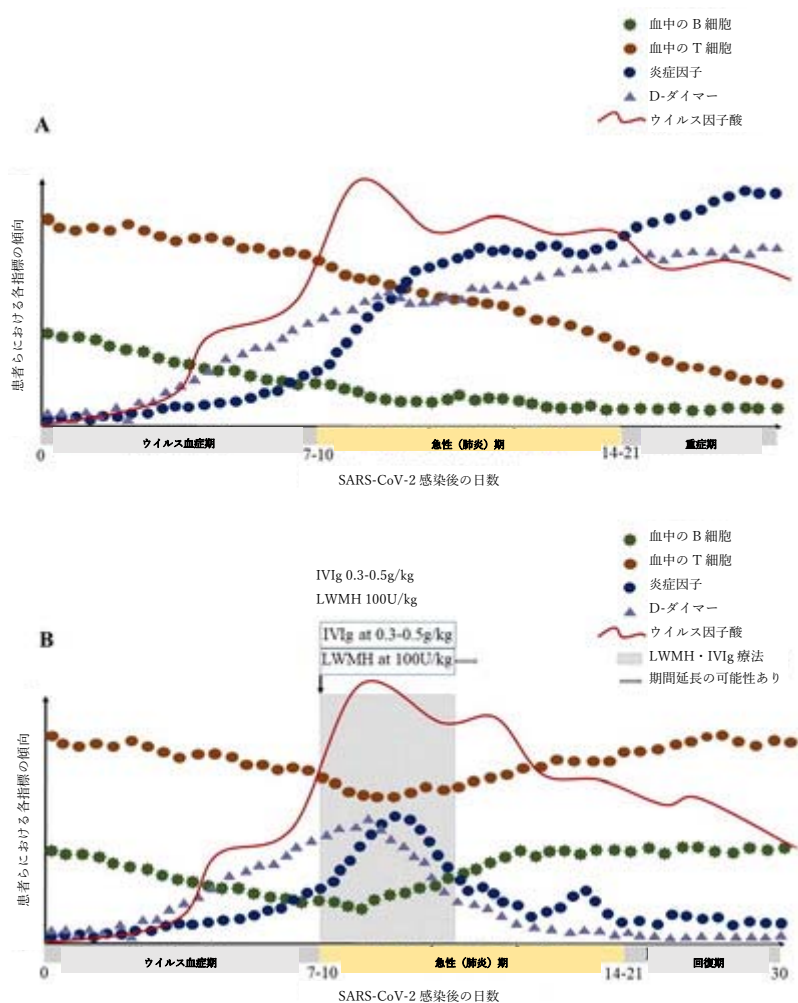
COVID-19患者の文献および臨床観察に基づき、ヒトにおけるSARS-CoV-2感染の病因に関する合理的な仮説を提案する。ウイルスは粘膜、特に鼻腔および喉頭粘膜を通過し、気道を通して肺に入る可能性がある。感染の初期の最も一般的な症状は発熱と咳である[37]。ウイルスは肺から末梢血に入り、ウイルス血症を引き起こす可能性がある。その後、ウイルスは、肺、心臓、腎臓、胃腸管などのACE2を発現する標的器官を攻撃する[38, 39]。便サンプル中で検出されたSARS-CoV-2は[37]、新型ウイルスが肺から血液に入り、血液から腸に移動した可能性が高く、私たちの仮説を裏付けている。Dawei Wang その他は、症状の発症からARDSまでの中央値の時間が約8日であることを突き止めた[40]。このようにして、ウイルスは2回目の攻撃を開始し、発症後7~14日で患者の状態が悪化すると推測される。感染過程において、疾患初期段階における末梢血中の白血球数は正常であるか、またはわずかに低く[37, 40]、患者にリンパ球減少症が観察される[40]。我々は、Bリンパ球減少が疾患の早期に起こり得ることがあり、患者の抗体産生に影響を及ぼす可能性があるとして推測する。重症型患者では、リンパ球が有意に減少した[40]。COVID-19患者のリンパ球は、病気が進行するにつれて徐々に減少する可能性があるとして我々は推測している。しかし、重度のタイプの患者における著しいリンパ球減少のメカニズムは不明のままである。また、主にIL-6を含む疾患に関連する炎症因子[41]は大幅に増加し、発症後7~14日頃の病気の悪化にも寄与した。非生存者は、生存者よりも好中球、D-ダイマー、血中尿素窒素およびクレアチニンのレベルが高かった[40]。

上記の仮定に基づいて、臨床相は、ウイルス血症期、急性期（肺炎期）および回復期の3つに分けられる。急性期（肺炎期）の患者の免疫機能が有効で、それ以上の基本的な疾患が無い場合、ウイルスを効果的に抑制し、回復期に入ることができる。患者が高齢の場合、または免疫障害状態にある場合、高血圧および糖尿病などの他の基本的な疾患と組み合わせると、免疫系は急性期（肺炎期）においてウイルスを効果的に制御することができず

、患者は重度または重篤なタイプになる。我々の仮説で述べたように、重症型患者においてはT細胞とB細胞はさらに減少し、一方炎症性サイトカインおよびD-ダイマーは増加を続けた（図1A）。患者の免疫機能を高め、炎症因子嵐の形成を阻害するために、以下の2つの治療手段を提案した。

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染の潜在的病因の仮説-ウイルス性肺炎患者における免疫変化の検討

図1. COVID-19 の仮説的な病因。X軸はSARS-CoV-2感染後の日数であり、上記の予想に従って3つの段階に分けられる。Y軸は、T細胞、B細胞、炎症因子、D-ダイマーおよび患者におけるウイルス負荷の傾向である。(A) 重症型のCOVID-19患者における各指標の傾向；(B) LWMH およびIVIg療法後の重症型のCOVID-19患者における各指標の傾向。シェーディングされた領域は、LWMH およびIVIg治療に推奨される介入時間を表す。



COVID-19には現在、特定の抗ウイルス薬治療がないため、この疾患の治療は主に症候性治療と酸素療法が中心である。炎症性因子およびリンパ球サブセットは、疾患の間に監視することが推奨される。T細胞、B細胞、炎症性サイトカインおよびD-ダイマーに関して、末梢血中のTリンパ球およびBリンパ球が以前より有意に低い、IL-6などの炎症性サイトカインが有意に増加する、D-ダイマーなどの凝固パラメータが異常に増加する、胸部CTが肺病変の拡大を示すといった傾向を示す場合、我々は、IVIgおよび低分子量ヘパリン（LMWH）抗凝固療法を可能な限り早期に与えることを推奨する。我々の勧告では、1日当たり0.3~0.5g/kgの高用量IVIgを5日間投与することが可能であり、これにより早期段階で炎症性因子の激発を防ぎ、免疫機能を高めることができる。重度のSARS-CoV-2感染患者においてIVIgの無作為化対照臨床試験が開始された（NCT 04261426）。IVIgはインフルエンザ[42]とSARS[43]の患者の治療に有効性を示しているが、証拠としてCOVID-19患者のより多くの臨床データが必要である。

LMWH抗凝固療法は、特に疾患の初期段階で推奨される。感染は、播種された血管内凝固の共通する原因の一つである。炎症、感染および他の要因は、凝固の過剰な活性化につながる可能性がある。我々は、重症タイプのCOVID-19患者が播種性血管内凝固（DIC）を発症する可能性があることを臨床で観察した（未発表データ）。重度のタイプのCOVID-19患者では、指やつま先に虚血性変化が起こり得る（図2）。抗凝固療法は、抗凝固禁忌の患者を除いて、D-Dimer値が通常の上限よりも4倍高い場合、COVID-19患者に推奨される。LMWHの推奨用量は、皮下注射で12時間あたり100U/kgで少なくとも3~5日間である。臨床医は、患者の検査の指標を注意深く監視し、抗凝固剤治療後の副作用に注意する必要がある。

図2. ある重度のタイプのCOVID-19患者におけるつま先の虚血性変化



図2. ある重度のタイプの COVID-19 患者におけるつま先の虚血性変化

結論として、重度のタイプおよび重篤なタイプの COVID-19 患者の現在の治療が、死亡者数の増加を制御するための鍵である。我々は、重度および重篤なタイプの患者の予後を改善するのに有効である IVIg および LMWH 抗凝固療法の早期開始を推奨する。図 1B は、IVIg および LMWH 抗凝固療法を開始するのに最適な時間、ならびに療法後の T 細胞、B 細胞、炎症性サイトカイン、D-ダイマーの考えられる傾向を示す。病因を理解し、病気の治療を導き、予後を改善するためには、より多くの免疫関連の研究が必要だ。