

<特集「COVID-19 パンデミック発生期の教訓と次世代への提言②」>

## COVID-19 における循環血中サイトカイン濃度測定と サイトカインストーム発症機序モデル

高島 康郎<sup>†1</sup>, 稲葉 亨<sup>†2</sup>, 松山 匡<sup>†3</sup>, 吉井 健悟<sup>4</sup>,  
田中 雅深<sup>1</sup>, 松本 和道<sup>5</sup>, 須藤 和樹<sup>6</sup>, 徳田 雄市<sup>1</sup>,  
大見奈津江<sup>1</sup>, 中野 正和<sup>1</sup>, 中屋 隆明<sup>7</sup>, 藤田 直久<sup>8</sup>,  
外園 千恵<sup>9</sup>, 佐和 貞治<sup>\*6,10</sup>, 田代 啓<sup>\*1</sup>, 太田 凡<sup>\*3</sup>

<sup>1</sup> 京都府立医科大学大学院医学研究科ゲノム医科学

<sup>2</sup> 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

<sup>3</sup> 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

<sup>4</sup> 京都府立医科大学大学院医学研究科生命基礎数理学

<sup>5</sup> 京都府立医科大学附属病院臨床検査部

<sup>6</sup> 京都府立医科大学大学院医学研究科麻酔科学

<sup>7</sup> 京都府立医科大学大学院医学研究科感染病態学

<sup>8</sup> 京都府保健環境研究所

<sup>9</sup> 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

<sup>10</sup> 京都府立医科大学附属病院

### A Proposal for the Cytokine Storm Mechanism Leading to Hyperinflammation with T Cell Differentiation in COVID-19

Yasuo Takashima<sup>1</sup>, Tohru Inaba<sup>2</sup>, Tasuku Matsuyama<sup>3</sup>, Kengo Yoshii<sup>4</sup>,  
Masami Tanaka<sup>1</sup>, Kazumichi Matsumoto<sup>5</sup>, Kazuki Sudo<sup>6</sup>, Yuichi Tokuda<sup>1</sup>,  
Natsue Omi<sup>1</sup>, Masakazu Nakano<sup>1</sup>, Takaaki Nakaya<sup>7</sup>, Naohisa Fujita<sup>2,8</sup>,  
Chie Sotozono<sup>9</sup>, Teiji Sawa<sup>6,10</sup>, Kei Tashiro<sup>1</sup> and Bon Ohta<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Genomic Medical Sciences,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

<sup>2</sup>Department of Infection Control and Laboratory Medicine,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

<sup>3</sup>Department of Emergency Medicine,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

<sup>4</sup>Department of Mathematics and Statistics in Medical Sciences,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

<sup>5</sup>Faculty of Clinical Laboratory, University Hospital Kyoto Prefectural University of Medicine

<sup>6</sup>Department of Anesthesiology,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

令和7年1月15日受付 令和7年1月22日受理

\*連絡先 佐和貞治 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路ル梶井町465番地

anesth@koto.kpu-m.ac.jp

田代 啓 tashiro@koto.kpu-m.ac.jp

太田 凡 b-ohta@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.134.01.31

<sup>7</sup>*Department of Infectious Diseases,  
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

<sup>8</sup>*Kyoto Prefectural Institute of Public Health and Environment*

<sup>9</sup>*Department of Ophthalmology,  
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

<sup>10</sup>*University Hospital Kyoto Prefectural University of Medicine*

## 抄 録

新型コロナウイルス感染症 COVID-19 における循環血中サイトカイン濃度と変動範囲を正確に記載すること、及び、サイトカインストームの発症機序解明のため、症例 23 例と健常人 13 名の 109 種類の血中サイトカイン濃度を経時的に測定した。約 7 割のサイトカインで、重症度、臨床転帰、在院期間、病状の進行および回復の比較においてボンフェローニ補正された有意差が検出された。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構成要素であることがわかった。血中サイトカイン濃度に加えて入院期間における総変化量（変動係数）を調べた結果、SDF-1, SCYB16, sCD30, IL-11, IL-18, IL-8, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , sTNF-R2, M-CSF, I-309 が感染、死亡、病気の進行回復、長期入院において変動があり、サイトカインストーム発症機序として、造血幹細胞から Th1 ヘルパー T 細胞刺激による急性炎症に至る経路が浮上した。

**キーワード**：新型コロナウイルス感染症（COVID-19）、サイトカインストーム（サイトカイン放出症候群）、ヘルパー T 細胞、インターロイキン 11（IL-11）、ストロマ細胞由来因子 1（SDF-1）。

## Abstract

In the study, we analyzed a relatively large-scale subset of cytokines, such as 109 kinds of blood circulating cytokines in COVID-19 and precisely described cytokine storm in the expression level and the range of fluctuations during hospitalization. Of the cytokines analyzed in COVID-19, approximately 70% were detected with Bonferroni-corrected significant differences in comparison with disease severity, clinical outcome, long-term hospitalization, and disease progression and recovery. Of these, IP-10, sTNF-R1, sTNF-R2, sCD30, sCD163, HGF, SCYB16, IL-16, MIG, SDF-1, and Fractalkine were found to be major components of the COVID-19 cytokine storm. Specifically, SDF-1, TECK, and sTNF-R2 were constituted of central hub modules in the dense co-expression correlation network. Detailed investigations for changed amounts of cytokines (coefficient of variation, CV) and the blood cytokine concentration (blood amounts of cytokines) during the hospitalization period suggested that 11 cytokines including SDF-1, SCYB16, sCD30, IL-11, IL-18, IL-8, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , sTNF-R2, M-CSF, and I-309 would be associated with the infection, mortality, disease progression and recovery, and long-term hospitalization. Increments of these cytokines could be explained in T cell development and stimulation models from hematopoietic stem cell differentiation to Th1-driven hyperinflammation in COVID-19.

**Key Words**: COVID-19, Cytokine storm, Helper T cells, IL-11, SDF-1.

† These authors contributed equally to this work.

## はじめに

2020年4月に本稿の著者の一人である田代に師匠の京都大学特別教授・本庶佑先生から電

話があった。本庶教授はがん免疫治療のチェックポイント阻害薬の発明でノーベル賞を受賞されている免疫学者である。当時の厚労大臣からの「なぜ新型コロナウイルスで人が死ぬのか解明

してほしい」との依頼を引き受けられ、多機関研究チームの編成をするので、京都府立医科大学と共同研究をしたいとのご意向であった。新型コロナウイルス感染症 COVID-19 が日本でも猛威を振り始めた時期で、重症化や死亡のリスクの高さが認識される一方で、病態のウイルス学、感染症学、免疫学、ゲノム医学、呼吸器病学、救急医学的、集中医療学的な解明は着手すらできていない状況で、附属病院では各科が力を合わせて必死に治療対応していた。当時は京都大学医学部附属病院は新型コロナ患者を受け入れておらず、京都で受け入れている大学附属病院は京都府立医科大学附属病院のみであったので、研究材料確保のためにそれは不可欠であった。田代は、本庶先生にサンプル確保だけではなく、両大学が共同研究をやるという基本姿勢ならきつとうまくいくとの観測を伝えた。本庶教授が当時の夜久附属病院長に共同研究を申し入れられ、京都府立医科大学は竹中学長や夜久附属病院長が会議をして、本稿の著者である太田、佐和、藤田、中屋と田代が研究分担者として多機関大型共同研究に参画することになった。多機関大型共同研究はAMEDの枠組みを利用して実現して、急ピッチで予算申請書の作成やヒアリングを含む受審を終えて8月に研究が開始された。それに呼応して関西経済連合会の外郭団体からの助成金も受けて、COVID-19に関する研究を実施した。高リスクな感染症対策と重度の低酸素症患者の救命を担う重い負荷がかかる中で懸命にサンプルを収集し、稲葉による検査残余検体の丹念な確保や、検査技師・松本の研究への参画など多職種連携が実現して行なわれた研究のうち、感染者体内でどのような免疫学的、分子生物学的な防御機構が働いているのかを反映する多種類サイトカイン血中濃度経時的測定研究成果を本稿に記載する。

## 背景

新型コロナウイルス感染症 COVID-19 は2019年の確認以降、全世界に拡散して我が国においても数多くの感染者を出し、今なお継続してい

る。COVID-19 は低酸素症が問題となり、重症化すると気管挿管や集中治療が要求される<sup>1)</sup>。さらにサイトカインストーム（サイトカイン放出症候群）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場合がある<sup>1)</sup>。これまでの研究では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医療に有用なバイオマーカー同定はまだ不十分である<sup>2-6)</sup>。また、重症 COVID-19 は免疫抑制、骨髓機能不全、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誘導、T細胞の活性化と枯渇、免疫老化などを引き起こす<sup>7-11)</sup>。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細胞からのサイトカイン産生により、結果としてサイトカインストームによって肺炎、血管内皮の損傷、血栓などを併発する<sup>12)13)</sup>。本研究では2020年11月から2021年6月(国内第3~4波)にかけて本学附属病院に入院して治療を受けた23例のCOVID-19患者から経時的に採取した血清中の109種類のサイトカインをマルチプレックス蛍光抗体マイクロビーズ法により定量し、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解析して、各サイトカインが重症度などのバイオマーカーとなる可能性を検討するとともに、サイトカインストームの機序を考察した。109種類は、現在測定可能なサイトカインのほぼすべてであり、これより多数のサイトカインを同時測定した研究例はほとんど無いと認識している。サイトカインストームの既存の研究は、各サイトカインの濃度の高低を基準に考察されているが、本研究は同一症例を時系列的に測定しているので変動の大きさを変動係数(CV)として算出することができ、それを考察していることに新規性がある。

## 実験方法

### 1. 臨床検体

2020年11月から2021年6月(国内第3~4波)にかけて京都府立医科大学附属病院で治療に当たった23名のCOVID-19患者(20~91歳)から時系列的に採取した血液延べ134検体、お

よび 13 名の健常人ボランティアから時系列的に採取した血液延べ 26 検体を測定した。すべての患者およびボランティアからインフォームドコンセントを得た (ERB-G-109, ERB-C-1810)。「厚生労働省新型コロナウイルス感染症 COVID-19 診療の手引き 第 5 版」に基づいて重症度を分類し、重症：4 例，中等症 II：16 例，中等症 I：0 例，軽症：3 例であった (図 1)。

2. サイトカイン濃度の測定

血液から血清が抽出され、使用するまで -80°C で保存された。Bio-Plex® Assay Kits, Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Screening Panel,

48-Plex, Bio-Plex Pro™ Human Chemokine 40-Plex Panel, Bio-Plex Pro™ Human Inflammation 37-Plex Panel, Bio-Plex Pro™ Human Th17 Cytokine 15-Plex Panel, Bio-Plex Pro™ TGF-β 3-plex Assay, Bio-Plex マルチプレックスシステム (バイオ・ラッドラボラトリーズ) を用いて蛍光抗体マイクロビーズ法により血清中の 109 種類のサイトカイン濃度をデュプリケート測定した。数値を Bio-Plex® Manager v6.2 および Bio-Plex® Data Pro™ Software v1.3 (バイオ・ラッドラボラトリーズ) に取込み、それぞれ検量線を作成して定量した (図 2)。

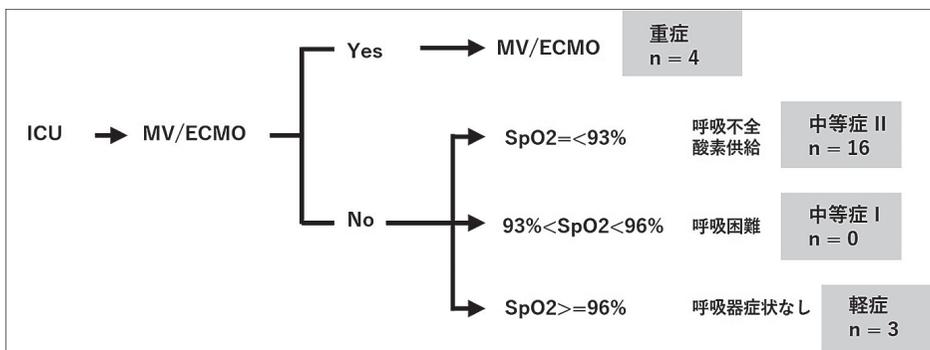


図 1 京都府立医科大学附属病院で治療に当たった 23 例の COVID-19 患者の重症度の分類 「厚生労働省新型コロナウイルス感染症 COVID-19 診療の手引き 第 5 版」に基づいて分類された。

6Ckine	GCP-2	IL-13	IL-25	IL-6Ra	MIG	sCD-40L	TRAIL
APRIL	G-CSF	IL-15	IL-26	IL-7	MIP-1a	SCF	TSLP
BAFF	GM-CSF	IL-16	IL-27(p28)	IL-8	MIP-1b	SCGF-b	TWEAK
BCA-1	gp130	IL-17A	IL-28A	IL-9	MIP-1d	SCYB16	VEGF
b-NGF	Gro-a	IL-17F	IL-29	IP-10	MIP-3a	SDF-1a	
CD163	Gro-b	IL-18	IL-2Ra	I-TAC	MIP-3b	SDF1a+b	
CD30	HGF	IL-19	IL-3	LIF	MMP-1	TARC	
Chitinase3-like1	I-309	IL-1a	IL-31	LIGHT	MMP-2	TECK	
CTACK	IFN-a2	IL-1b	IL-32	MCP-1	MMP-3	TGF-b1	
ENA-78	IFN-b	IL-1ra	IL-33	MCP-2	MPIF-1	TGF-b2	
Eotaxin	IFN-g	IL-2	IL-34	MCP-3	Osteocalcin	TGF-b3	
Eotaxin-2	IL-10	IL-20	IL-35	MCP-4	Osteopontin	TNF-a	
Eotaxin-3	IL-11	IL-21	IL-4	M-CSF	PDGF-bb	TNF-b	
FGF basic	IL-12(p40)	IL-22	IL-5	MDC	Pentraxin-3	TNF-R1	
Fractalkine	IL-12(p70)	IL-23	IL-6	MIF	RANTES	TNF-R2	

図 2 マルチプレックス蛍光マイクロビーズ抗体法によって調べられたサイトカインパネル 143 種類の蛍光マイクロビーズ抗体により、109 種類のサイトカインが定量された。

### 3. 統計解析

本研究ではサイトカイン濃度だけでなく変動係数 (coefficient variation: CV) も調べた。ベースライン (入院日または治療開始日: 1 日目) から観察終了時 (患者転帰または最終治療日) までのサイトカイン濃度を多重比較するため、Steel-Dwass 検定によって分析した。ふたつ以上の独立したグループ間のサイトカイン濃度と CV を比較するときは一般化線形混合モデルを使用した。固定効果には患者の年齢、性別、重症度 (重症、中等症、軽症、感染なし)、臨床転帰 (死亡、転院、退院、感染なし)、ランダム効果として患者を含めた。一般化線形混合モデルには R パッケージ lme4 および lmerTest を使用した。p < 0.05 (ボンフェローニ補正 p = 0.00035) は統計的に有意であるとした。計算には統計ソフトウェア R v4.0.3 を使用した。

### 4. グラフィカルラッソ回帰分析による共発現ネットワーク解析

血液サイトカインの共発現ネットワークは、ラッソ (Lasso) 正則化を使用したグラフィカルラッソ (Graphical Lasso) で構成され、ネットワーク内のノード数とエッジの重みが計算された。グラフィカルラッソは R パッケージ glasso で推定され、qgraph で視覚化された。ネットワークモジュールは対象となる代表的な 30 種類のサイトカインで構成され、添え字は

ノードの数を示す。太い線と細い線はそれぞれ強い正の相関と弱い正の相関を表す。4 以上のノードで構成されるモジュールハブが強調表示された。

## 結 果

### 1. COVID-19 感染による血中サイトカイン濃度の変化

本研究では同一患者の時系列検体を扱うため一般化線形混合モデルを使用した。COVID-19 患者 (23 例) と非感染者 (13 例) の血清において 109 種類のサイトカイン濃度を測定した。そのうち約 70% のサイトカインが疾患の重症度、臨床転帰、長期入院、疾患の進行、回復における比較において血中濃度が変化していた。とくに COVID-19 患者と非感染者を比較したところ 66 種類のサイトカイン濃度が増加しており (p < 0.05)、中でも 12 種類のサイトカイン、IL-26, Pentraxin-3, IP-10, CD30, MMP-2, MMP-3, I-TAC, I-309, Chitinase-3-like, SDF-1a, SDF1a + b, および SCYB16 はボンフェローニ補正された有意差で増加していた (p < 0.00035) (図 3)。このように COVID-19 患者と非感染者との間で多くのサイトカイン濃度上昇が認められ、逆に、COVID-19 患者で濃度低下しているサイトカイン、TGF-b2, MDC, IL-31 も同定された (p < 0.05) (図 3)。

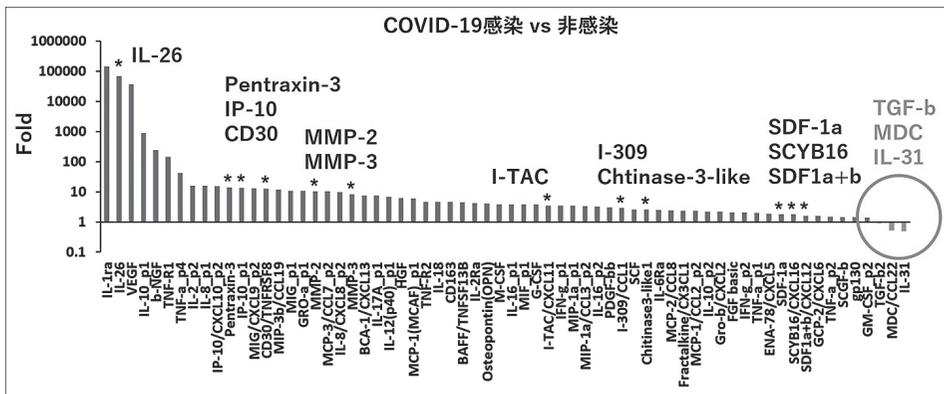


図 3 COVID-19 患者と非感染者を比較したときの血中サイトカイン濃度の倍率変化  
 図に示しているサイトカインはすべて有意差 p < 0.05 で発現差があり、とくに「\*」はボンフェローニ補正された有意差 p < 0.00035 で発現差があった。

## 2. COVID-19 症状の進行回復前後における血中サイトカイン濃度の変化

COVID-19 症状進行の前後における血中サイトカイン濃度の変化を調べたところ、ENA-78, IL2Ra, MCP-4 が増加し、MMP-2 と CTACK が減少していた (図 4a, b). また、症状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た (図 4c). IL-2Ra は COVID-19 症状進行に伴って増加し、症状回復に伴って減少していることから、COVID-19 の予後を示唆する重要なバイオマーカーである可能性が考えられた.

## 3. 全観察期間における COVID-19 血中サイトカインの変動係数の解析

入院時において、中等症と比較して重症患者では、IFN-b, IL-8, IL-2Ra, TNF-R1, CD163, MIP-1d, IL-18, TECK の変動係数 (coefficient variation: CV) が増加し、IL-2 の CV が減少していた ( $p < 0.05$ ) (図 5a). 同様に、入院後期 (退院時) において、中等症と比較して重症患者では、IL-18, SCF, Eotaxin-3, M-CSF, IL-1b, HGF, BCA-1, LIF, MIG の CV が増加していた ( $p < 0.05$ ) (図 5b). また、入院後期 (退院時) において、軽症と比較して重症患者では、IL-8,

IL-11, IL-2, IL-5, MIP-3a, IL-17A, Gro-a, MIP-1b, MCP-1, IFN-g, BCA-1, CTACK, TECK, IL-9, CD163, TNF-b の CV が増加していた ( $p < 0.05$ ) (図 5c). 臨床転帰に着目すると、転院退院患者と比較して死亡した患者では IL-8, MIP-1a, TWEAK, TNF-a, TGF-b3, IFN-g の CV が増加し、IL-10 の CV が減少していた ( $p < 0.05$ ) (図 5d, e). 同様に、短期入院患者 (5 週未満) と比較して長期入院患者 (5 週以上) では、IL-3, IL-8, IL-2, IFN-a2, IL-18, IL-5, SCF, TNF-R2, M-CSF, BCA-1, MIP-1d, CD163, Eotaxin-3, TECK, IL-2Ra, IL-1b, IFN-g, MIG, PDGF-bb, CD30, LIF の CV が増加していた ( $p < 0.05$ ) (図 5f). これらの所見は、とくに IFN-g, IL-8, IL-2Ra, IL-18, SCF, IL-11, IL-2, IL-5, IL-3 の CV が大きく変動することを示唆しており、中でも IL-8 は様々な局面において調節不全となっていることが示唆された.

## 4. ラッソ回帰モデルによる COVID-19 血中サイトカイン濃度の共発現ネットワーク解析

COVID-19 患者における比較的大規模な血中サイトカイン濃度の定量データが得られたことから、それらの共発現ネットワーク解析を試み

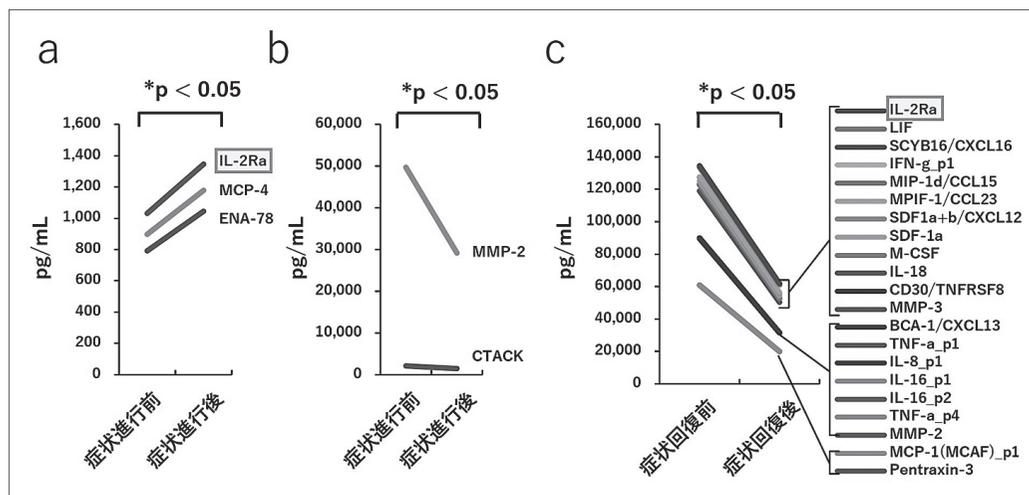


図 4 COVID-19 症状の進行と回復の前後における血中サイトカイン濃度の変化

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.



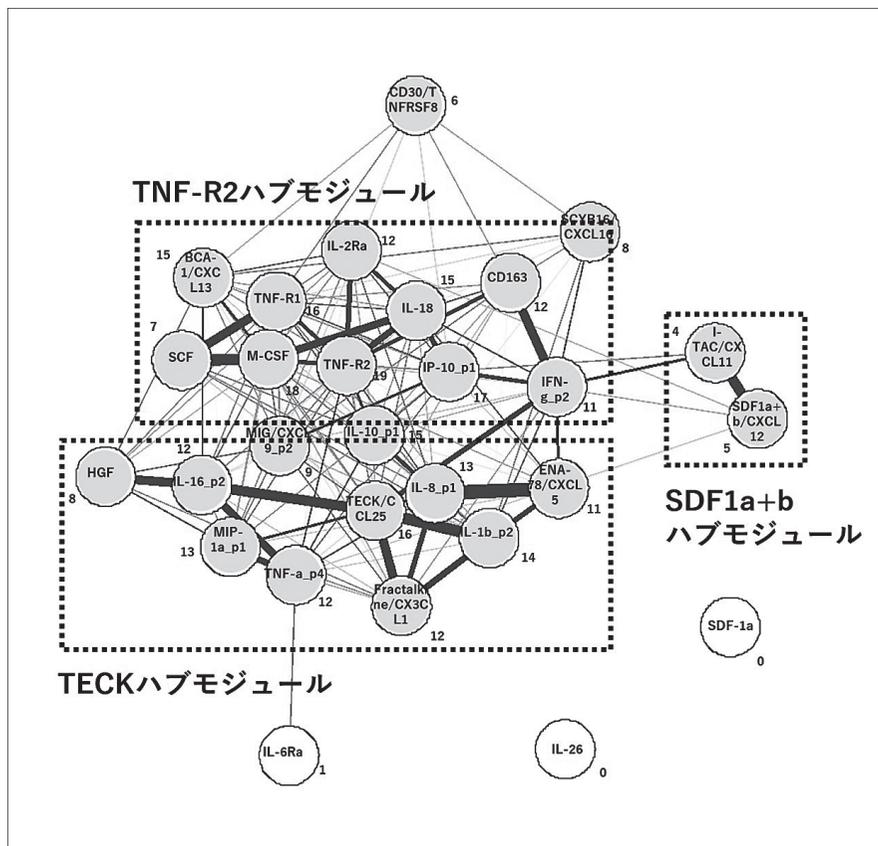


図6 COVID-19患者における血中サイトカイン濃度の相関ネットワークの解析  
 COVID-19患者と非感染者との間でグラフィカルラッソ回帰分析に基づいてサイトカイン共発現ネットワークが構築された。ラッソ回帰により相関が抽出され、ネットワークモデルが図示された。線の太さは相関強度を表し、円に隣接する添え字は結合数を表す。

活性化することも、COVID-19の治療戦略として有効かもしれない。また、T-reg細胞を活性化すると知られているIL-2RaがCOVID-19の症状進行回復に伴って増減したことから、IL-2RaはCOVID-19の予後を示唆する重要なバイオマーカーである可能性とともに、T-reg細胞を介したTh1抑制によるサイトカインストーム調節の可能性が考えられる。

また、本研究の結果から、潜在的COVID-19血中サイトカインマーカーサブセットによるひとつの仮説モデルを提案したい。すなわち、COVID-19患者と非感染者との比較、重症度、臨床転帰、入院期間、症状の進行回復、変動係

数などの比較データから繰り返し抽出された代表的なサイトカインであるSDF-1、SCYB16、sCD30、IL-11、IL-18、IL-8、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、sTNF-R2、M-CSF、I-309は、主に造血幹細胞からTh1ヘルパーT細胞への分化経路上のT細胞が発現するサイトカインであり、Th1/Th2バランスとT-reg細胞によって、サイトカインストームの原因となるTh1急性炎症反応による過剰なサイトカインリリースの制御・調節にそれらサイトカインが関連する、という仮説モデルである(図7)。以下に説明する。

CD34+造血幹前駆細胞はM-CSFおよびIL-11シグナル伝達により実験的なCD3刺激T細胞

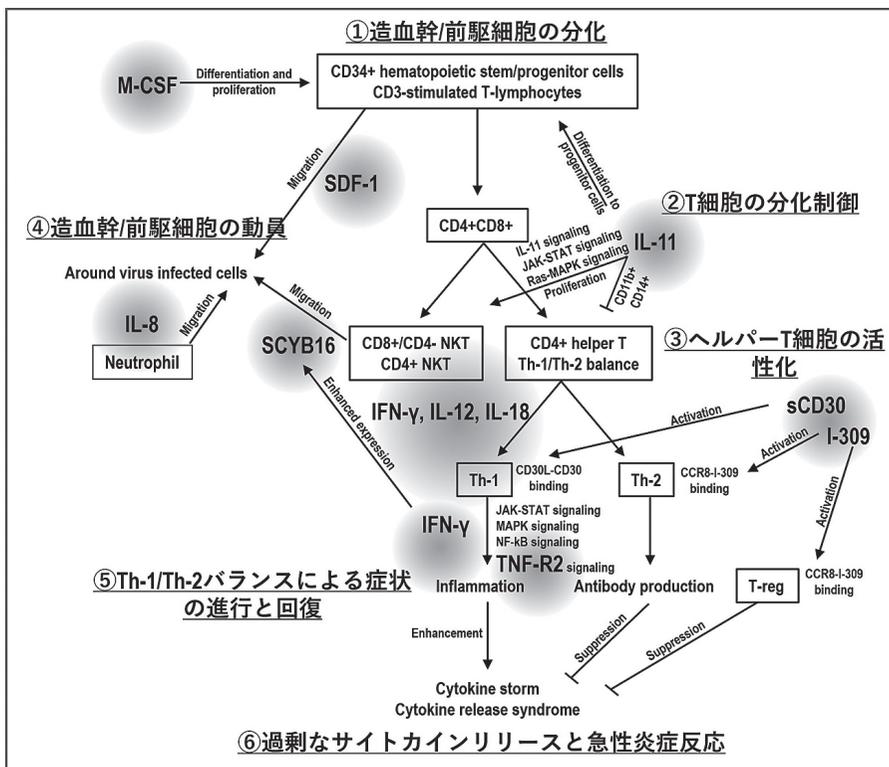


図7 潜在的 COVID-19 血中サイトカインマーカーサブセットによる仮説モデル

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、症状の進行回復、変動係数などの比較データから繰り返し抽出された代表的なサイトカインである (SDF-1, SCYB16, sCD30, IL-11, IL-18, IL-8, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , sTNF-R2, M-CSF, I-309)。これらのサイトカインは造血幹細胞から Th1 ヘルパー T 細胞への分化経路上の T 細胞が発現するサイトカインであり、Th1/Th2 バランスと T-reg 細胞によって、過剰なサイトカインリリースの制御と Th1 ヘルパー T 細胞誘導急性炎症反応を制御・調節している可能性がある。

に似た状態の T 細胞に分化し、続いて CD4+CD8+ ダブルポジティブ T 細胞に分化する<sup>14)15)</sup>。そして、IL-11 シグナル伝達、それに続く JAK-STAT および Ras-MAPK シグナル伝達によって CD8+NKT 細胞および CD4+ヘルパー T 細胞が安定化する<sup>14)</sup>。また、CD11b+細胞および CD14+細胞のリクルートによって CD4+CD8+ T 細胞が抑制される<sup>16)17)</sup>。IL-11 と M-CSF によっても造血幹細胞から CD34+前駆細胞へと分化が促進される<sup>18)</sup>。一方で、M-CSF および SDF-1 によって CD34+造血幹細胞および実験的な CD3 刺激 T 細胞に似た状態の T 細胞がウイルス感染部位に動員され、

同様に SCYB16 によって NKT 細胞が動員される。CD4+ヘルパー T 細胞は、IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$  によって Th1 ヘルパー T 細胞に分化が傾斜する。さらに IFN- $\gamma$  は Th1 細胞の JAK-STAT, MAPK, NF- $\kappa$ B, TNF-R2 シグナル伝達を活性化することでサイトカインの過剰放出とそれに伴う過炎症を引き起こすが、Th1 および Th2 ヘルパー T 細胞表面上での CD30L-sCD30 結合および CCR8-I-309 結合はそれぞれのヘルパー T 細胞を活性化する。この Th1/Th2 バランスは新型コロナウイルス感染症の症状の進行回復に大きく関与すると考えられる。また、Th2 細胞および T-reg 細胞表面上での CCR8-

I-309 結合によるこれらの細胞の活性化も Th1 ヘルパー T 細胞に拮抗することで、I 型インターフェロン炎症性サイトカイン誘導による過炎症反応を抑制する調節機構となりうる。

上述の T 細胞分化過程に関わるサイトカインを COVID-19 の治療に応用できる可能性について言及したい。ひとつの可能性であるが、SDF-1 受容体拮抗薬（プレリキサフォルなど）により造血前駆細胞を動員し、組換え IL-11 タンパク（オプレレベキンなど）によってこれを活性化し、血小板生成を促進することで、COVID-19 における血小板減少症を緩和できるかもしれない。これまでに世界中で COVID-19 に関する研究が数多く行われているが、血中サイトカインを単なるバイオマーカーとして認識するだけでなく、さらに踏み込んで生物学的・学術的意義を洞察し、治療への応用に発展させてゆく研究が今後はより一層重要となるだろう。

## お わ り に

教科書的な理論では、呼吸器系細胞への SARS-CoV-2 ウイルス感染症の免疫は、まず自然免疫を担う TLR+細胞がウイルス核酸やウイルスの構成分子を認識して防御を開始してインターフェロン、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ などのサイトカインが働く。同時に NK 細胞がウイルス感染細胞を直接殺傷する。同時にウイルス感染細胞の MHC クラス I がウイルスタンパク質の断片を提示してそれを CD8+細胞障害性 T 細胞が認識して感染細胞を攻撃、破壊する。これらの初期防御でウイルスタンパク質がばら撒かれるのでそれを抗原提示細胞が貪食して MHC クラス II 分子が抗原提示して、抗体産生による抗体価上昇や Th1、Th2、Th17 等のヘルパー T 細胞による所謂獲得免疫が開始され、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-12、IL-17、IFN、TNF、TGF などのサイトカインが活躍することになっている。

医学は他の近代科学と同様に、我々は無知であるという認識から出発して、観察と実験の結果をお互いに再現可能性の検証をしながら説明

可能な領域を拡大してきた。COVID-19 での免疫反応についても医学界全体が無知であるところから出発して、観察と実験の結果を獲得しながらそれを既存の上記の理論に合わせる考察を開始したところである。

COVID-19 で実際には、どのサイトカイン濃度が高くなっているのかを把握することで、その免疫反応を割り出してそれを調節する治療標的分子を同定する路線の研究を実施した。免疫反応は主として呼吸器系の臓器内で起こっているが、そこで産生されるサイトカインは血中濃度に反映される。現在現実的に測定可能なサイトカインのほぼすべてである 109 種類のサイトカイン同時測定という高難度なタンパク質定量実験をやり抜くことができた。IL-11 を本研究で新規に COVID-19 のサイトカインマーカー候補として同定した。現実の各症例では免疫応答の数々が同時に進行していることから混沌としているので、主流の免疫応答を把握するためにグラフィカルラッソ回帰モデルによるサイトカイン発現ネットワーク解析を実施して、サイトカインの増減から遡って免疫細胞の活躍を考察することができた。造血幹細胞まで遡る動態が観察されたことは、COVID-19 の多彩な症状や後遺症の原因の一端を捉えたと考えている。また、サイトカインストームを濃度の値のみでなく、その経時的变化の急激さの度合いである CV 値で捉えることに成功したことはこの分野で学術的に新規な成果である。教科書的な理論に比べると現実の結果を記載した本稿は粗くて尖っている。報告する尖った結果の数々は感染免疫学的に意義深いものである。

## 謝 辞

山田 裕美氏と John Bush 氏（京都府立医科大学視覚機能再生外科学）の研究協力に感謝する。本研究の一部は AMED (JP20fk0108270) および NPO 法人関西健康・医療学術連絡会の研究助成金によって行われた。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

## 文 献

- 1) Li J, Lai S, Gao GF, Shi W. The emergence, genomic diversity and global spread of SARS-CoV-2. *Nature*, 600: 408-418, 2021.
- 2) Wynants L, Van Calster B, Collins GS, Riley RD, Heinze G, Schuit E, et al. Prediction models for diagnosis and prognosis of covid-19: systematic review and critical appraisal. *BMJ*, 369: m1328, 2020.
- 3) Moore JB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*, 368: 473-474, 2020.
- 4) Gordon AC, Angus DC, Derde LPG. Interleukin-6 Receptor Antagonists in Critically Ill Patients with Covid-19. Reply. *N Engl J Med*, 385: 1147-1149, 2021.
- 5) RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med*, 384: 693-704, 2021.
- 6) Kalil AC, Patterson TF, Mehta AK, Tomashek KM, Wolfe CR, Ghazaryan V, et al. Baricitinib plus Remdesivir for Hospitalized Adults with Covid-19. *N Engl J Med*, 384: 795-807, 2021.
- 7) Bost P, De Sanctis F, Canè S, Ugel S, Donadello K, Castellucci M, et al. Deciphering the state of immune silence in fatal COVID-19 patients. *Nat Commun*, 12: 1428, 2021.
- 8) Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*, 20: 529-536, 2020.
- 9) Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, Corneau A, Boussier J, Smith N, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*, 369: 718-724, 2020.
- 10) Mann ER, Menon M, Knight SB, Konkel JE, Jagger C, Shaw TN, et al. Longitudinal immune profiling reveals key myeloid signatures associated with COVID-19. *Sci Immunol*, 5: eabd6197, 2020.
- 11) Schulte-Schrepping J, Reusch N, Paclik D, Baßler K, Schlickeiser S, Zhang B, et al. Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. *Cell*, 182: 1419-1440.e23, 2020.
- 12) Kida M, Nakamura T, Kobayashi K, Shimosawa T, Murata T. Urinary lipid profile of patients with coronavirus diseases 2019. *Front Med (Lausanne)*, 9: 941563, 2022.
- 13) Grant RA, Morales-Nebreda L, Markov NS, Swaminathan S, Querrey M, Guzman ER, et al. Circuits between infected macrophages and T cells in SARS-CoV-2 pneumonia. *Nature*, 590: 635-641, 2021.
- 14) Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, Zinkernagel R, Bluethmann H, Köhler G. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature*, 368: 339-342, 1994.
- 15) AbuSamra DB, Aleisa FA, Al-Amoodi AS, Jalal Ahmed HM, Chin CJ, Abuelela AF, Bergam P, Sougrat R, Merzaban JS. Not just a marker: CD34 on human hematopoietic stem/progenitor cells dominates vascular selectin binding along with CD44. *Blood Adv*, 26; 1: 2799-2816, 2017.
- 16) Sumida K, Ohno Y, Ohtake J, Kaneumi S, Kishikawa T, Takahashi N, Taketomi A, Kitamura H. IL-11 induces differentiation of myeloid-derived suppressor cells through activation of STAT3 signalling pathway. *Sci Rep*, 5: 13650, 2015.
- 17) Christensen JE, Andreasen SO, Christensen JP, Thomsen AR. CD11b expression as a marker to distinguish between recently activated effector CD8(+) T cells and memory cells. *Int Immunol*, 13: 593-600, 2001.
- 18) Kamps AW, Hendriks D, Smit JW, Vellenga E. Role of macrophage colony-stimulating factor in the differentiation and expansion of monocytes and dendritic cells from CD34+ progenitor cells. *Med Oncol*, 16: 46-52, 1999.

## 著者プロフィール



## 高島 康郎 Yasuo Takashima

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科ゲノム医科学・プロジェクト研究員  
 略歴：2007年4月 岡山大学大学院自然科学研究科分子生物学研究室 博士研究員  
 2007年6月 福岡大学医学部細胞生物学教室 ポストドクター  
 2009年1月 福岡大学先端分子医学研究センター ポストドクター  
 2011年4月 九州大学生体防御医学研究所器管発生再生学分野 非常勤研究員（講師）  
 2013年4月 九州大学生体防御医学研究所器管発生再生学分野 学術研究員  
 2015年4月 九州大学生体防御医学研究所器管発生再生学分野 学術研究員（特任助教）  
 2017年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科腫瘍分子標的治療学 助教  
 2020年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科ゲノム医科学 特任准教授  
 2022年4月 現職

専門分野：分子生物学，細胞生物学，腫瘍生物学

- 主な業績：1. Takashima Y, Inaba T, Matsuyama T, Yoshii K, Tanaka M, Matsumoto K, Sudo K, Tokuda Y, Omi N, Nakano M, Nakaya T, Fujita N, Sotozono C, Sawa T, Tashiro K, Ohta B. Potential marker subset of blood-circulating cytokines on hematopoietic progenitor-to-Th1 pathway in COVID-19. *Front Med (Lausanne)*, **11**: 1319980, 2024.
2. Takashima Y, Hamano M, Yoshii K, Hayano A, Fukai J, Iwadate Y, Kajiwara K, Hondoh H, Yamanaka R. Reciprocal expression of the immune response genes CXCR3 and IFI44L as module hubs are associated with patient survivals in primary central nervous system lymphoma. *Int J Clin Oncol*, **28**: 468-481, 2023.
3. Takashima Y, Kawaguchi A, Fukai J, Iwadate Y, Kajiwara K, Hondoh H, Yamanaka R. Survival prediction based on the gene expression associated with cancer morphology and microenvironment in primary central nervous system lymphoma. *PLoS One*, **16**: e0251272, 2021.
4. Takashima Y, Hamano M, Fukai J, Iwadate Y, Kajiwara K, Kobayashi T, Hondoh H, Yamanaka R. GSEA-assisted gene signatures valid for combinations of prognostic markers in PCNSL. *Sci Rep*, **10**: 8435, 2020.
5. Takashima Y, Hayano A, Yamanaka R. Metabolome analysis reveals excessive glycolysis via PI3K/AKT/mTOR and RAS/MAPK signaling in methotrexate-resistant primary CNS lymphoma-derived cells. *Clin Cancer Res*, **26**: 2754-2766, 2020.
6. Takashima Y, Kawaguchi A, Iwadate Y, Hondoh H, Fukai J, Kajiwara K, Hayano A, Yamanaka R. miR-101, miR-548b, miR-554, and miR-1202 are reliable prognosis predictors of the miRNAs associated with cancer immunity in primary central nervous system lymphoma. *PLoS One*, **15**: e0229577, 2020.
7. Takashima Y, Yoshimura T, Kano Y, Hayano A, Hondoh H, Ikenaka K, Yamanaka R. Differential expression of N-linked oligosaccharides in methotrexate-resistant primary central nervous system lymphoma cells. *BMC Cancer*, **19**: 910, 2019.
8. Takashima Y, Kawaguchi A, Sato R, Yoshida K, Hayano A, Homma J, Fukai J, Iwadate Y, Kajiwara K, Ishizawa S, Hondoh H, Nakano M, Ogawa S, Tashiro K, Yamanaka R. Differential expression of individual transcript variants of PD-1 and PD-L2 genes on Th-1/Th-2 status is guaranteed for prognosis prediction in PCNSL. *Sci Rep*, **9**: 10004, 2019.
9. Takashima Y, Kawaguchi A, Hayano A, Yamanaka R. CD276 and the gene signature composed of GATA3 and LGALS3 enable prognosis prediction of glioblastoma multiforme. *PLoS One*, **14**: e0216825, 2019.
10. Takashima Y, Kawaguchi A, Iwadate Y, Hondoh H, Fukai J, Kajiwara K, Hayano A, Yamanaka R. MicroRNA signature constituted of miR-30d, miR-93, and miR-181b is a promising prognostic marker in primary central nervous system lymphoma. *PLoS One*, **14**: e0210400, 2019.
11. Takashima Y, Horisawa K, Udono M, Ohkawa Y, Suzuki A. Prolonged inhibition of hepatocellular carcinoma cell proliferation by combinatorial expression of defined transcription factors. *Cancer Sci*, **109**: 3543-3553, 2018.
12. Takashima Y, Terada M, Udono M, Miura S, Yamamoto J, Suzuki A. Suppression of lethal-7b and miR-125a/b Maturation by Lin28b Enables Maintenance of Stem Cell Properties in Hepatoblasts. *Hepatology*, **64**: 245-260, 2016.
13. Takashima Y, Terada M, Kawabata M, Suzuki A. Dynamic three-dimensional morphogenesis of intrahepatic bile ducts in mouse liver development. *Hepatology*, **61**: 1003-1011, 2015.