

新型コロナウイルス感染症が 若者よりも高齢者でより重症化しやすいのはなぜか？

～肺血管内皮細胞の加齢変化が重症化病態の背景の一つだった！～

ポイント

- ・新型コロナウイルス感染症の重症化モデルマウスからの肺血管内皮細胞単離に成功。
- ・若齢に比べ加齢肺血管内皮細胞はウイルス取り込みがより多く血栓形成能が亢進していることを解明。
- ・血管内皮細胞を標的とした新型コロナウイルス感染症の重症化予防法や治療法の開発に期待。

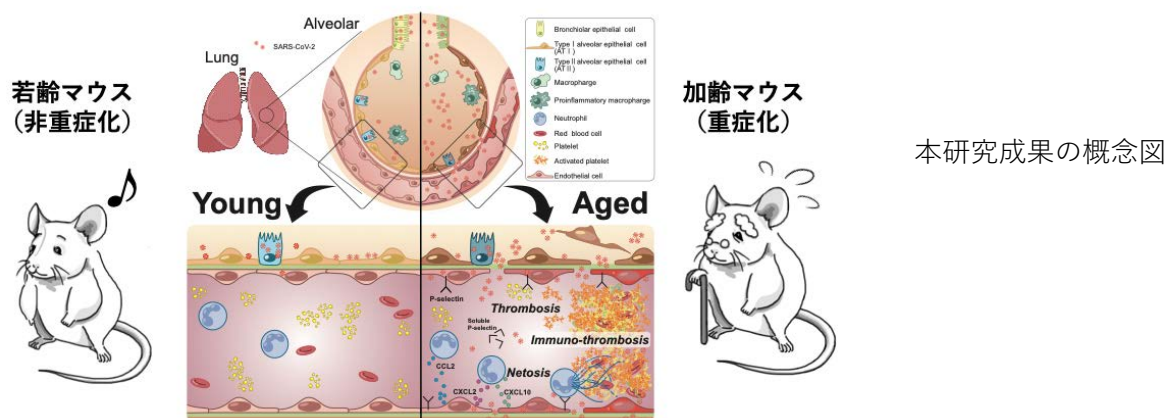
概要

北海道大学大学院歯学研究院の樋田京子教授、間石奈湖助教、同大学院歯学院博士課程（研究当時）の積田卓也氏、武田 遼氏、同大学ワクチン研究開発拠点の澤 洋文教授、同大学人獣共通感染症国際共同研究所の佐々木道仁講師、大場靖子教授、藤田医科大学医学部の樋田泰浩教授らの研究グループは、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染後の肺血管内皮細胞では、若齢個体よりも加齢個体で特に強い炎症反応と血栓形成亢進が認められ、重症化病態形成の要因になることを解明しました。

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は加齢が最大の重症化リスク因子で、致命的病態発現にはサイトカインストームと呼ばれる全身性の強烈な炎症反応や血栓形成の異常亢進の関与が知られています。肺血管内皮細胞は生体内外の物理的バリアを構成し、肺局所と全身循環を連絡する主要な細胞であるため、本感染症の致命的病態形成において重要な役割を担うと考えられています。しかし、実際に若齢者と高齢者の肺血管内皮細胞でSARS-CoV-2感染後に生じる違いは不明のままでした。

研究グループは、マウス馴化 SARS-CoV-2 を若齢マウスと加齢マウスにそれぞれ感染させ、肺の病理組織像を比較解析しました。加齢マウス肺では高度の炎症性変化と多量の血栓が観察され、COVID-19 死亡例の肺所見と類似していることが分かりました。感染肺から血管内皮細胞のみを単離し、その遺伝子発現を若齢・加齢間で比較解析したところ、加齢マウス肺血管内皮細胞では若齢と比べ、ウイルス遺伝子、炎症関連サイトカイン、血栓形成関連遺伝子のレベルが高いことが分かりました。本研究結果により、新型コロナウイルス感染症重症化病態形成機序として、肺血管内皮細胞におけるウイルス取り込み量と細胞応答の違いが加齢によって生じている可能性が示されました。

なお、本研究結果は2023年12月14日（木）、*Ageing Cell*誌にオンライン公開されました。



【背景】

COVID-19 は 2019 年末に初めて報告されてから約 4 年が経過し、現代社会に未曾有の被害をもたらしました。その原因ウイルスである SARS-CoV-2 の感染により引き起こされる病態には個人差がありますが、特に高齢者で重篤化しやすいことが知られており、「加齢」が最大の重症化リスク因子と考えられています。また血栓症が死因の一つであり、これは他の呼吸器感染症に比べて特徴的です。

ウイルス感染の入り口に当たる肺の構造に着目すると、肺は肺胞壁と呼ばれる非常に薄い構造を境に生体の内側と外側が区別されています。肺血管内皮細胞は肺胞上皮細胞を裏打ちし、生体内外の物理的バリアである肺胞壁を構成しています。ゆえに、肺局所でのウイルス感染に起因する致命的病態機序において肺血管内皮細胞は非常に重要な役割を担うと考えられ、サイトカインストームと呼ばれる全身性の強烈な炎症反応や血栓形成の異常亢進といった、重篤な病態形成への強い関与が想定されていました。

しかしながら、これまでの研究ではヒト重症化病態を再現するマウスモデルが確立されていなかったことに加え、培養血管内皮細胞はウイルスに低感受性であることや、感染動物からの肺血管内皮細胞の調整には設備的・技術的なハードルがあることから、若齢と高齢宿主の肺血管内皮細胞における SARS-CoV-2 感染後の細胞応答がどのように異なるのか不明のままでした。

【研究手法】

研究グループは先行研究でマウスへの感染性を獲得した SARS-CoV-2 変異株を樹立しており、高齢マウスで重症化することを報告しています。そこで、今回の研究では同ウイルスを若齢マウスと高齢マウスに感染させ、肺組織を病理組織学的に解析しました。また、採取した肺からフローサイトメトリー法^{*1}により単離した血管内皮細胞を用いた RNA-seq^{*2}を行い、バイオインフォマティクス解析^{*3}により若齢・高齢群の肺血管内皮細胞における遺伝子発現を比較し、重症化病態における血管内皮細胞の分子病理学的変化について検討しました（図 1）。

※SARS-CoV-2 ウイルスを用いた実験はすべて北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 BSL-3 施設で実施。

【研究成果】

SARS-CoV-2 感染で特に症状を呈さない「若齢マウス」と致命的な症状を呈する「高齢マウス」の肺組織像の比較解析によって、高齢マウス肺では好中球浸潤亢進を伴う広範囲な炎症病変が観察され、CD41 陽性の血小板を主成分とする血栓を内腔に含む血管が多く見られました（図 2）。

また、肺から血管内皮細胞のみを単離し、血管内皮細胞に含まれる SARS-CoV-2 ウイルス遺伝子を定量したところ、高齢マウスの血管内皮細胞でより多くのウイルス遺伝子が検出され、血管内皮細胞に SARS-CoV-2 が取り込まれていることが確認されました（図 3）。続いて、単離した血管内皮細胞の遺伝子発現情報を RNA-seq により取得し、パスウェイ解析^{*4}や Gene Set Enrichment Analysis^{*5}を実施したところ、炎症反応や血栓形成関連反応の亢進を示唆する遺伝子発現変動が認められ（図 4）、病理組織像を支持する遺伝子発現変化が血管内皮細胞にも生じていることが確認されました。具体的には、高齢マウス肺血管内皮細胞では若齢マウスのものと比べて、好中球の遊走に関わるケモカインである CXCL2 等の発現亢進が認められ、白血球の血管内皮細胞への接着に関与する VCAM-1 等の接着因子の発現も有意に亢進していました。また、血液凝固・血栓形成に関連する遺伝子発現としては F3 や PLAT、PAI-1 や SELP (P-selectin) が高齢マウス肺血管内皮細胞で高発現していました。P-selectin は活性化した血小板や血管内皮細胞で発現が亢進する分子として知られており、血栓形成性疾患や早期炎症性病態を

検出できるとされる分子です。実際に血中の可溶性 P-selectin 濃度を ELISA 法^{*6}で測定すると、感染加齢マウスで有意に高値を示していることが確認されました。

本研究結果により、新型コロナウイルス感染症重症化病態形成の分子的背景として、肺血管内皮細胞におけるウイルス取り込みと細胞応答には若齢個体と加齢個体で相違が存在することが示されました。

【今後への期待】

重症化マウスでは SARS-CoV-2 感染後に肺血管内皮細胞において、より強い炎症反応と血液凝固促進応答が生じていたことから、血管内皮細胞を標的とした重症化予防法や治療法開発が期待されます。また、重症化病態では可溶性 P-selectin に代表されるような血管内皮細胞由来の液性因子が血中でも検出できることから、本研究に基づく重症化予測マーカーの開発も期待されます。

一方で、本研究は死亡直前のマウス肺を用いて行われたものであり、重症化病態の原因となる因子については明らかにできていません。この課題にアプローチするために、今後の研究では重症化する前の段階での解析を実施し、血管内皮細胞と免疫細胞や肺胞上皮細胞など、他の細胞との相互作用が経時的にどのように変化するかなど詳細な解析が求められます。加えて、ヒト検体を用いたトランスレーショナル研究^{*7}の推進により、本研究結果のヒト病態への外挿性が検証されることが期待されます。

【謝辞】

本研究は、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（20fk0108537h0001）、ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点群 北海道シナジーキャンパス（JP223fa627005）の支援のもと実施されました。

論文情報

論文名 Viral uptake and pathophysiology of the lung endothelial cells in age-associated severe SARS-CoV-2 infection models (SARS-CoV-2 感染症の老化関連重症化モデルにおける肺血管内皮細胞へのウイルス取り込みと病態変化)

著者名 積田卓也¹ (研究当時) †、武田 遼¹ (研究当時) †、間石奈湖¹、樋田泰浩²、佐々木道仁³、大場靖子³、佐藤彰彦^{3,4}、鳥羽晋輔^{3,4}、伊藤 航¹、手代木孝仁¹、桜井優弥¹、射場智大⁵、内藤尚道⁵、安藤 仁⁵、渡辺陽久¹、水野天音¹、中西俊希¹、松田 彩¹、任 子驍¹、李 智媛¹、飯村忠浩¹、澤 洋文^{6,7*}、樋田京子^{1*} (北海道大学大学院歯学研究院、²藤田医科大学医学部、³北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所、⁴塩野義製薬株式会社、⁵金沢大学大学院医薬保健学総合研究科、⁶北海道大学One Healthリサーチセンター、⁷北海道大学ワクチン研究開発拠点) (†共同筆頭著者、*共同責任著者)

雑誌名 Aging Cell (老化研究・加齢医学の専門誌)

DOI 10.1111/accel.14050

公表日 2023年12月14日(木) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院歯学研究院 教授 樋田京子 (ひだきょうこ)

T E L 011-706-4236 F A X 011-706-4239 メール khida@den.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.den.hokudai.ac.jp/vascular-biol-pathol/>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

SARS-CoV-2 感染 感染肺の摘出 血管内皮細胞の単離 RNA シーケンス (遺伝子発現解析)

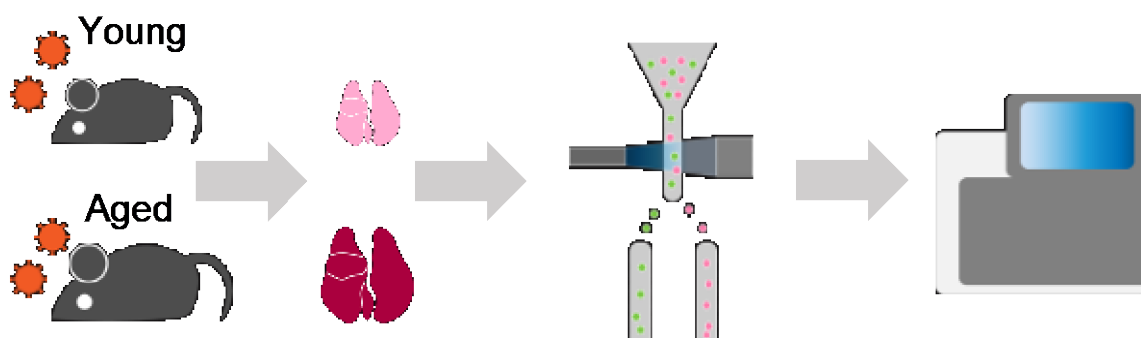


図1. ウイルス感染マウス肺から血管内皮細胞を単離し遺伝子発現解析を実施するまでの流れ。

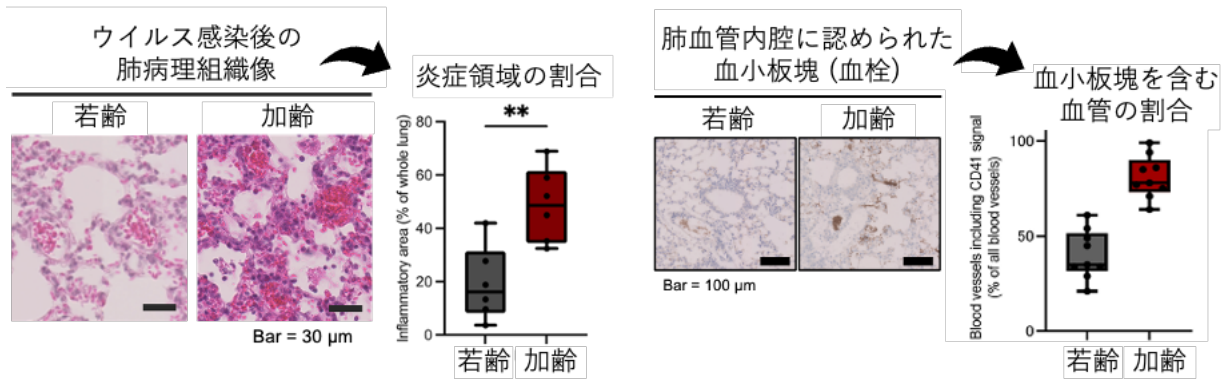


図 2. SARS-CoV-2 感染肺の炎症病変と血管内腔に観察された血小板血栓の病理像と定量結果

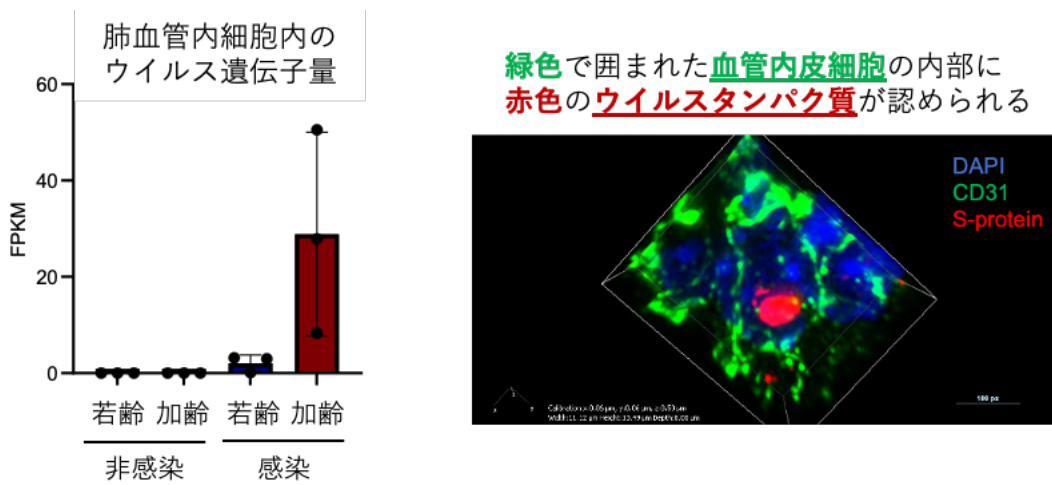


図 3. マウス肺血管内皮細胞における SARS-CoV-2 ウイルス遺伝子の定量結果 (左) とウイルスタンパク質の検出 (右)

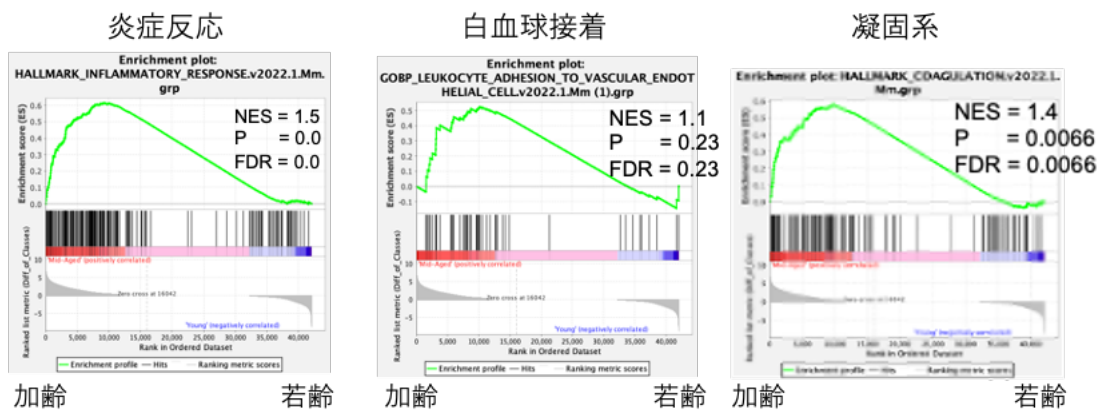


図 4. 加齢マウス由来肺血管内皮細胞で炎症応答や白血球接着、凝固関連遺伝子群の亢進が認められる。

【用語解説】

- *1 フローサイトメトリー法 … サンプル中に存在する細胞の特性を、光や蛍光色素などを利用して1個ずつ迅速かつ高感度に測定し、分取する手法。
- *2 RNA-seq (RNA-sequencing) … 次世代シーケンスを用いて取得したリードの情報（生データ）をデータ解析することで、遺伝子の発現量が解析できる手法。
- *3 バイオインフォマティクス解析 … 生命情報科学。生物のゲノム（遺伝子）情報など生命が持つ様々な「情報」をIT（情報技術）で解析すること。
- *4 パスウェイ解析 … 遺伝子発現プロファイルから、活性化されているパスウェイや上流の分子を予測する手法。
- *5 Gene Set Enrichment Analysis … 大規模な遺伝子のセット内で過剰に存在し、様々な表現型と関連する可能性がある遺伝子を特定する方法。
- *6 ELISA 法 (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) … 試料溶液中に含まれる目的の抗原あるいは抗体を、特異抗体あるいは抗原で捕捉するとともに、酵素反応を利用して検出・定量する方法。
- *7 トランスレーショナル研究（橋渡し研究） … 主に医学や生物学における基礎研究の成果から有望な知見を選び出し、実際の医療機関等で使える新しい医療技術・医薬品として実用化することを目的に行う、非臨床から臨床開発までの幅広い研究。