

新型コロナウイルス感染症重症化における宿主免疫応答予測

藤田 雄

東京慈恵会医科大学 エクソソーム創薬研究講座

【研究の背景】

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の多くは軽症にて改善するが、一部の患者では急性呼吸窮迫症候群に至るなど重症化するため、重症化機序に基づく早期予測バイオマーカーの必要性が極めて高い。これまで幾つかの先行研究にて重症化予測マーカーが報告されているが、未だ重症例を高い診断率で判別できるマーカーは存在しない。

【目 的】

エクソソームは、細胞が分泌する直径 100nm 程の脂質二重膜で囲まれた小胞で、ウイルス感染における細胞間相互作用に重要な役割を担っている。本研究ではエクソソームの内包分子の中で、申請者らの検討で同定したエクソソーム上に発現するタンパク質 A を標的として、重症化早期予測バイオマーカーキット開発を行い実用化に繋げることを目的とする。

【方 法】

エクソソームタンパク質検出キット開発を行い、実用化に繋げることを目的とする。

- 1>エクソソームタンパク質検出キット作成 (R3 年 12 月～R4 年 3 月末)
- 2>COVID-19 患者血清を用いたキットの診断能評価 (R4 年 4 月～7 月末)
- 3>多施設前向き試験 (R4 年 8 月～11 月末)

【結 果】

- 1>エクソソームタンパク質 ELISA キット製造 (R3 年 12 月～R4 年 3 月末)

これまでは、血液から企業と共同開発したエクソソーム単離カラムを用いてエクソソームタンパク質を回収し、タンパク質 A の発現を Western blotting 法にて定量を実施してきた。実用化を見据え、モノクローナル抗体を作成した。エクソソーム単離カラムを併用したより簡易的な定量 ELISA キット製造を開始し、キット化の確立を行った。

- 2>COVID-19 患者血清を用いたキットの診断能評価 (R4 年 4 月～7 月末)

製造キットの診断能評価目的として、回収済み COVID-19 患者血清を用いた診断能検証を行い、カットオフ値の設定を行った。解析には東京慈恵会医科大学付属病院にて入院した軽症 COVID-19 患者の入院時血清を用いる (それぞれ 150 例、200 例で合計約 350 例の血清と臨床情報を有する)。解析結果から、後ろ向き検体での診断能は優れていると判断した。現在、PMDA 事前面談にて診断薬承認を目標とした準備を進めている。

- 3>多施設前向き試験 (R4 年 8 月～11 月末)

東京慈恵会医科大学付属病院、同柏病院、および同葛飾医療センターの多施設にて、前向き非介入臨床試験を実施し、500 症例を目標としキットによる重症化早期予測の診断能の最終評価を行う予定である。

【考 察】

タンパク質 A のモノクローナル抗体の作成は、計画通りに実施でき、ELISA における感度は良好であった。血清中エクソソームタンパク質 A の発現においても cut off を設定できる水準の検出感度が得られた。現在の COVID-19 はオミクロン株の登場以降重症化が低い傾向であり、今後本キットを COVID-19 患者だけで実施するか、それともインフルエンザ感染などの他のウィルス感染にも応用していくか慎重に検討していく。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

重症化早期予測は、集中治療が必要な患者を早期選別することにより、重症化を予測した医療資源の集中を可能とし、重症化しない患者の早期退院と自宅待機を決定する科学的根拠を示すことができる。これまでの予測マーカーの多くが、CRP、D-dimer、サイトカインなどの一般的血清マーカーで病態特異性に乏しい中で、診断能および病態メカニズムへの関与という観点からエクソソームタンパク質 A は優れた結果が期待できる。さらにエクソソームの重要な点は、血液中を循環し続けて細胞に取り込まれ遺伝子制御を行っている点である。タンパク質 A は、単なるバイオマーカーとしてだけでなく、COVID-19 の重症化メカニズムに関与している可能性が示唆され、タンパク質 A を補充したり、治療標的とすることが新しい COVID-19 治療法の開発につながることを期待される。

【参考・引用文献】

Fujita Y, Hoshina T, Matsuzaki J, Yoshioka Y, Kadota T, Hosaka Y, Fujimoto S, Kawamoto H, Watanabe N, Sawaki K, Sakamoto Y, Miyajima M, Lee K, Nakaharai K, Horino T, Nakagawa R, Araya J, Miyato M, Yoshida M, Kuwano K, Ochiya T. Early prediction of COVID-19 severity using extracellular vesicle COPB2. *J Extracell Vesicles*. 2021 Jun;10(8):e12092.