

COVID-19 由来の脳損傷に対する ACE2 慢性投与の有用性

後藤孔郎

大分大学医学部 内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座

【研究の背景】

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)のヒト感染(COVID-19)には、アンジオテンシン変換酵素(ACE)2が不可欠な受容体であることが明らかになっている。SARS-CoV-2には、ウイルス粒子表面に王冠様突起(Spike)タンパク質(Sタンパク)が存在し、このSタンパクが受容体に結合してウイルスのRNAゲノムが細胞内に侵入することで細胞内に感染する。このようなACE2のSタンパクに対する親和性はSARS-Cov-2では極めて高いことが報告されている。ACE2が欠損した動物にSARS-CoVを感染させても肺障害や臓器内への感染が軽減されることが示されている¹⁾。申請者のpreliminaryな実験では、食事誘導性肥満動物と非肥満動物で小腸内ACE2発現を検討したところ、肥満モデル動物でACE2発現が増加していた。また、食事誘導性肥満モデルマウスにS proteinを全身投与すると、非肥満マウスよりも肺でのS proteinの侵入が亢進しており、さらにACE2を全身投与するとそのような侵入が軽減されることを認めている。最近の研究で、脳だけにACE2を発現させたマウスを新型コロナウイルスにさらすと、脳に感染したマウスは急激に体重が減少して6日以内に死ぬことが報告されている²⁾。

【目的】

SARS-CoV-2の感染には、臓器内に存在するACE2が受容体として必要である。COVID-19で死亡した患者を調査したところ、脳組織でも損傷がみられるという報告が散見される。COVID-19の症状が軽症であっても、せん妄や認知症のような神経学的に大きな問題が起きる事例も報告されている。またCOVID-19重症化の危険因子に肥満があげられている。今回、①食事誘導性肥満モデル動物では非肥満動物と比較して脳内ACE2発現が高まり、SARS-CoV-2のSpike protein(S protein)を投与するとS protein脳組織への侵入が亢進するか、②ACE2投与によってS protein脳組織への侵入が軽減されるか、を検討する。

【方法】

[1]モデル動物の作製:

雄野性マウスに通常餌(脂肪成分20%)または高脂肪餌(脂肪成分60%)を摂取させ、通常餌群と高脂肪餌群に分ける。また各群をACE2投与群【通常食および高脂肪食にACE2(800 μg)を腹腔内投与】、とコントロール群に分ける。したがって、通常食+コントロール群、通常食+ACE2投与群、高脂肪食+コントロール群、高脂肪食+ACE2投与群の4群を作成する。その後、以下の評価項目について検討する。

[2]脳における評価:

- 1) 脳におけるACE2発現を評価する。
- 2) ACE2自体には抗炎症性作用があるため、脳における炎症性サイトカインであるTNF-α発現を測定する。

[3]SARS-CoV-2のリコンビナントS1-RBD protein(Rp)の脳への分布に関する評価:

前述のように、通常食+コントロール群、通常食+ACE2投与群、高脂肪食+コントロール群、高脂肪食+ACE2慢性投与群の4群に対して、Rp(40 μg)を全身投与し、投与6時間後に脳を採取する。

- 1) 脳におけるRpの分布について、免疫組織学的に評価する。

- 2) 脳におけるRpの含有量を定量する。

【結 果】

- 1) 肥満によって、肺内のみならず脳内での ACE2 発現が増加した。
- 2) 肥満では脳内での TNF- α 発現が増加したが、ACE2 の投与によって TNF- α 発現は変化しなかった。
- 3) 肥満によって SARS-CoV-2 のリコンビナント S1-RBD protein (Rp) の脳内への侵入が促進され、そのような変化は ACE2 の投与によって軽減された。免疫組織学的検討でも同様の結果であった。脳内での TNF- α 発現には有意な変化がみられなかった。

【考 察】

COVID-19 が重症化する要因として肥満があげられている³⁾。肥満は腸内細菌叢を悪化させ、いわゆる“悪玉菌”から炎症惹起物質である lipopolysaccharide (LPS) が合成される。また、肥満に伴う小腸内での炎症性変化によって腸管バリアが破綻し、上記の LPS が腸管腔から門脈へと放出され、体循環を介して全身に炎症性病変もたらすと考えられている⁴⁾。実際、LPS は血液脳関門を通じて脳内のミクログリアを活性化させ、脳内での炎症性変化をもたらすことが報告されている⁵⁾。ACE2 自体は抗炎症性作用を有していることを考慮すると、肥満による脳内 ACE2 発現増加には ACE2 の代償性変化が関与していることが推測される。このように脳内 ACE2 発現が増加すると、SARS-CoV-2 も脳内で増加する可能性は十分にあり、コロナ後遺症に関与していることが示唆される。また、本研究では S タンパクのうち、ACE2 の結合部位である S1-receptor-binding protein (RBD) protein を用いて、脳内に S1-RBD protein が多く存在することは SARS-CoV-2 に易感染性であるとみなして遂行した。ACE2 投与によって S1-RBD protein の脳組織内への侵入が軽減されたことは、S1-RBD protein が脳細胞に存在する ACE2 に結合する前に、投与された ACE2 に結合したことで S1-RBD protein の脳内への侵入が軽減されたと推測される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

これまで COVID-19 に対するワクチン開発が発展しているが、SARS-CoV-2 の変異が問題になっており、今後、変異ウイルスに対するワクチンの有効性が低下する可能性がある。しかしながら、SARS-CoV-2 が変異しても ACE2 を受容体として細胞内に感染・増殖する仕組みには変化ないと考えられる。本研究では、肥満は脳内の ACE2 発現を増加させ、ACE2 投与は SARS-CoV-2 の脳への侵入を軽減させる可能性のあることが明らかになった。今後、ワクチンと並行して ACE2 の慢性投与が、COVID-19 に伴う脳組織の損傷を最小限にとどめ、COVID-19 に由来する脳関連疾患の発症予防に有効であると考えている。

【参考・引用文献】

- 1) Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med.* 11(8):875-9. (2005)
- 2) Song E, Zhang C, Israelow B, et al. Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain. *bioRxiv.* 2020.06.25.169946. (2020)
- 3) Emilsson V, Gudmundsson EF, Aspelund T, et al. Serum levels of ACE2 are higher in patients with obesity and diabetes. *Obes Sci Pract.* 7(2):239-243. (2020)
- 4) Hersoug LG, Møller P, Loft S. Role of microbiota-derived lipopolysaccharide in adipose tissue inflammation, adipocyte size and pyroptosis during obesity. *Nutr Res Rev.* 31(2):153-163. (2018)
- 5) Wu Z, Ni J, Liu Y, et al. Cathepsin B plays a critical role in inducing Alzheimer's disease-like phenotypes following chronic systemic exposure to lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* in mice. *Brain Behav Immun.* 65:350-361 (2017).