

2 光子生体イメージングで解明する COVID-19 肺炎の病態メカニズム

植木 紘史

東京大学医科学研究所 ウイルス感染部門

【研究の背景】

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の症例の多くは軽い呼吸器症状で収まるが、高齢者や基礎疾患を有する者などは重度のウイルス性肺炎や急性呼吸促拍症候群 (ARDS) を併発して重症化し、死に至ることも少なくない。COVID-19 の重症化患者に対して最適な治療法と治療薬を選択し、さらに治療薬の効果を正確に評価するためには、COVID-19 患者の重症化や病態悪化に関与するメカニズムを明らかにすることが不可欠である。COVID-19 重症例の肺では大量の免疫細胞の浸潤が認められ¹⁾、病態の増悪に寄与することが示唆されているが詳細は不明である。新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の感染部位における炎症進展ならびに組織障害のメカニズムは、感染から重症化に至るまでの感染個体の体内で起きている様々な生理学的事象を可視化して解析することにより解明に繋がると考えられる。

【目 的】

我々はこれまでに、2光子励起顕微鏡を用いた生体イメージングシステムを開発したことで感染動物の肺を高解像度で観察し定量化解析が可能な実験系を確立してきた^{2,3)}。本研究課題では、SARS-CoV-2 感染肺における免疫細胞の役割について、生体肺イメージングシステムを用いて解析し、COVID-19 肺炎の病態を解明することを目指した。

【方 法】

SARS-CoV-2 に高い感受性を示すマウス系統に蛍光レポーター SARS-CoV-2 を感染させ生体イメージング解析に供した。蛍光レポーター SARS-CoV-2 は感染細胞において蛍光タンパク質 Venus を発現するため感染細胞を蛍光標識することが可能である。蛍光標識試薬を経静脈的に投与して肺の血流と免疫細胞を可視化した。感染マウスは麻酔下で管理し人工呼吸器で補助しながら開胸し、露出させた肺を肺吸引保定器で保持した。感染肺の病態生理学的な変化を顕微鏡を用いてタイムラプス像として撮影し、画像解析ソフトを用いて定量化解析を行った。

【結 果】

SARS-CoV-2 を感染させた野生型マウスでは、体重減少ならびに呼吸・肺機能の低下が認められた。また、感染肺の病理組織学的解析ならびに (Computed Tomography) CT 画像解析を実施したところ、COVID-19 症例と類似した炎症像が見られた。疾患モデルとして確立されている様々なマウス系統に SARS-CoV-2 を感染させた。その結果、特定のマウス系統において、ウイルス感染後、顕著な体重減少と重度の肺組織炎症が認められ、SARS-CoV-2 感染に対して致命的な病態を示すことがわかった。COVID-19 肺炎の病態ならびに SARS-CoV-2 感染肺における免疫細胞応答を調べるために、2光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング解析を行った。感染細胞において蛍光蛋白質 Venus を発現する蛍光レポーター SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-Venus) を SARS-CoV-2 に脆弱性を示すマウス系統に経鼻接種した後、感染肺を2光子励起顕微鏡で観察した。その結果、Venus 陽性の肺胞上皮細胞が観察され、感染後の時間経過とともに、肺毛細血管内の免疫細胞数が増加することがわかった。さらに、肺の血流速度の低下ならびに免疫細胞と血小板との複合体からなる微小血栓様構造が

認められた。

【考 察】

本研究では生体イメージング法を用いて SARS-CoV-2 感染肺における血流や遊走する免疫細胞の挙動を捉えることに成功した。タイムラプス像で撮影した SARS-CoV-2 感染肺では肺毛細血管中の免疫細胞の数が増加し、その移動速度が低下することが明らかとなった。SARS-CoV-2 感染肺における免疫細胞の運動性の変化は、細胞膜表面に発現する接着因子の発現変化に起因すると考えられる⁴⁻⁶⁾。生体イメージング法を用いて感染微小環境を高解像度で観察することで従来の組織学的な解析では見出すことのできなかつた SARS-CoV-2 感染肺における免疫細胞応答の一端を明らかにした。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

COVID-19 肺炎における肺毛細血管中の免疫細胞数の増加や、血小板との複合体形成による微小血栓形成が肺塞栓の原因となり COVID-19 病態の増悪に寄与している可能性が明らかとなった。

【参考・引用文献】

1. Liao, M., et al., *Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19*. Nature Medicine, 2020. **26**(6): p. 842-844.
2. Ueki, H., et al., *In vivo imaging of the pathophysiological changes and neutrophil dynamics in influenza virus-infected mouse lungs*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018.
3. Ueki, H., et al., *Multicolor two-photon imaging of in vivo cellular pathophysiology upon influenza virus infection using the two-photon IMPRESS*. Nature Protocols, 2020.
4. Phillipson, M., et al., *Intraluminal crawling of neutrophils to emigration sites: a molecularly distinct process from adhesion in the recruitment cascade*. J Exp Med, 2006. **203**(12): p. 2569-75.
5. Yipp, B.G., et al., *The Lung is a Host Defense Niche for Immediate Neutrophil-Mediated Vascular Protection*. Sci Immunol, 2017. **2**(10).
6. Ley, K., et al., *Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated*. Nat Rev Immunol, 2007. **7**(9): p. 678-89.