

4 5 TNF α と INF γ は共同して新型コロナウイルス感染およびサイトカインショック症候群における炎症性細胞死、組織障害、そして患者死亡をもたらす

重症 COVID-19 患者では、これまでに様々な血中サイトカインの上昇（サイトカインストーム）がみられることがわかっているが、この臨床像である全身の炎症(SIRS)、呼吸不全（ARDS）、高フェリチン血症、循環不全、多臓器不全とのつながりは明らかではなく、個々のサイトカインを抑制する治療薬、例えば抗 IL-6 受容体抗体（トシリズマブ、商品名アクテムラ）は期待ほどの効果を上げていない。今回、米国テネシー州メンフィスにあるセントジュード小児病院の Kanneganti らのグループは、サイトカインの中でも TNF α と INF γ に注目し、この2つが共同して、炎症性細胞死（Pyroptosis, Apoptosis, Necroptosis : 3つあわせて PANoptosis）を引き起こし、その経路として JAK/STAT1/IRF1 さらに iNOS から NO 産生が関与していることを突き止めた。これにより、いろいろな段階での治療の可能性が示唆された。以下結果をまとめると、

- 1) COVID-19 患者ではさまざまなサイトカインが上昇しており、TNF α と INF γ の両方により細胞死が誘発される
- ① 公開された中等症から重症患者の血中サイトカインのデータを検討し、10種類のサイトカイン（IL-6, IL-18, INF- γ , IL-15, TNF- α , IL-1 α , TNF- β , IL-1 β , IL-33, IL-2）がもっとも上昇していることに着目した。
- ② ヒト末梢血単核細胞に SARS-CoV-2 を感染させるとそれぞれのサイトカインが上昇した。
- ③ 細胞死を検討するためにマウス骨髄由来マクロファージを用いてそれぞれのサイトカインの影響を見ると、個々の投与では細胞死は誘発されず、全部の組み合わせ（カクテル）で 80%近い細胞死が誘発され、その中で TNF α と INF γ の組み合わせがカクテルと同等の細胞死を誘発した。さらに、この2つをカクテルから抜くと効果は見られなかった。臨床例のデータベースを確認すると、重症例では必ず両方のサイトカインが上昇していた。
- 2) マウスサイトカインショックモデルは COVID-19 の症状を再現
マウスに TNF α , INF γ を注射する実験で、両方を注射するとマウスはショック死し、大腸組織には多くの細胞の細胞死が誘導され、血小板・リンパ球の減少や好中球の上昇などが実際のヒト臨床所見と一致した。

- 3) **TNF α とINF γ の両方により PANoptosis が誘発される**
Pyroptosis (GSDMD, GSDME, CASP1, CASP11)、Apoptosis (CASP3, CASP7-9)、Necroptosis (pMLKL, tMLKL)が誘発されることを免疫ノブロットで確認した。
- 4) **IRF1とNOS2が炎症性細胞死を誘発する**
IrF1^{-/-}, *Nos2*^{-/-}の骨髄細胞（ノックアウト）では、iNOSの発現や細胞死が起こらない。また、TNF α とINF γ による刺激細胞と臨床例（重症および重篤）両方で上昇しているサイトカインとして **JAK2, IRF1, IRF5, IRF7, PML**がある。さらに、**NOS2は重症および重篤患者の血中で上昇していた。**
- 5) **Caspase-8がTNF α とINF γ によるPANoptosisを誘導する**
さらに下流の分子を同定するために、ノックアウト実験を行った結果、***Ripk3*^{-/-}, *Apaf1*^{-/-}それぞれ単独では変化がなかったが、*Ripk3*^{-/-}*Casp8*^{-/-}のダブルノックアウトで細胞死が起こらなかった。**
- 5) **PANoptosisを抑制することで、TNF α とINF γ によるマウスのショック死が回避される**
***Stat1*^{-/-}および *Ripk3*^{-/-}*Casp8*^{-/-}マウスではTNF α とINF γ 同時投与によるショック死は有意に減少した。さらに、血液所見も改善がみられた。**
- 6) **TNF α とINF γ の中和抗体によるサイトカインストームの治療実験はマウスの死亡率を低下させた**
TNF α とINF γ 同時投与モデル、SARS-CoV-2感染モデル、Poly I:C priming followed by LPS (血球貪食性リンパ組織球症モデル)、敗血症モデル(LPS)いずれにおいても **TNF α とINF γ の中和抗体同時投与はマウスの生存率を延長した。**

以上より、既存の治療薬である抗TNF α +抗INF γ の組み合わせ、JAK阻害剤、PAN-caspase阻害剤などが治療候補としてあげられ、臨床試験が望まれる。

文献

- 1) Karki R, et al. Synergism of TNF- α and IFN- γ triggers inflammatory cell death, tissue damage, and mortality in SARS-CoV-2 infection and cytokine shock syndromes. Cell 2020 doi: 10.1016/j.cell.2020.11.025