

#### 4 ヒト iPSC 由来心臓細胞への SARS-CoV-2 感染により COVID-19 患者の心臓への新しい細胞変性の特徴を予想できる

米国カリフォルニアグラッドストーン研究所の McDevitt, Conklin らのグループ<sup>1)</sup>は、ヒト iPSC 心臓細胞（心筋細胞、心臓線維芽細胞、血管内皮細胞）を樹立し、SARS-CoV-2 感染実験による細胞変性効果と、実際の COVID-19 で死亡した患者の心臓病理所見を比較し共通点を見出した。

最近の研究により、COVID-19 患者が高い頻度で心筋の障害を受けることがわかってきており、これは心臓疾患の既往と関係がない。このように、ウイルス感染そのものが心臓への障害の原因と考えられる。メタアナリシスによれば、心臓障害や心機能障害と関連がある、高感受性トロポニン I ないしは抗利尿ペプチド高値が入院患者の死亡率と関連があり、それは心臓血管疾患や閉塞性肺疾患をしのぐ要因であった。トロポニン I 高値は軽症例の COVID-19 患者でも認められる。また、回復患者でも心機能低下例があり、COVID-19 からの長期にわたる心臓への影響は ICU 症例だけではない。心臓障害は、SARS-CoV-2 の全身的な影響、肺障害に続発する低酸素症の影響かもしれないが、心筋細胞は ACE2 を発現していることから直接の感染の可能性がある。事実、COVID-19 による多系統炎症性症候群(MIS)の小児の症例では心筋細胞中に SARS-CoV-2 粒子が確認されている。また、COVID-19 死亡例の心筋より炎症所見がないにもかかわらずウイルス RNA が確認されている。これらの研究は、ウイルスの心臓への直接の感染を示唆するが、心臓のどの細胞への感染なのかは不明であった。ヒト心臓細胞をもとにした ex vivo 実験は臨床に近い状態で研究が可能である。SARS-CoV-2 感染実験はこれまで肝細胞、小腸上皮細胞、肺オルガノイドなどでおこなわれている。今回、筆者らは三種類の人工多能性幹細胞(iPSC)からの心臓細胞（心筋細胞:CM、心臓線維芽細胞:CF、血管内皮細胞:EC）を樹立し、SARS-CoV-2 の感染実験をおこない、実際の臨床病理所見を検討した。

- 1) 比較的低いウイルス量(MOI=0.006)で CM への感染がみとめられ、CF, EC にはほとんど感染しなかった。また、すべてを混合すると CM と同等の感染が認められた。CF, EC ではウイルスは認められないものの、細胞の開裂や隣接細胞からの離脱などの所見が見られた。CM ではウイルス(dsRNA)が核周囲に認められ、次第に細胞質に広がりその後死

滅し、これは電子顕微鏡でも確認された。脱核現象は EC で最も多いが他の細胞でも認められ、この効果は熱変性で消失したことから、感染そのものというよりなんらかのタンパクの関与が考えられた。

- 2) ウイルスの CM 細胞への侵入経路を解明するために、ACE2 抗体、カテプシン阻害剤 (E64d) を用いたところ、ウイルス感染は阻止された。しかしながら、FURIN, Cathepsin-L,B, TMPRSS2 阻害 (フォイパン、フサン) は抑制効果がなかった。また、自然免疫の効果を見るために IFN- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\lambda$  を用いたところ、INF- $\beta$  のみ抑制効果が見られた。
- 3) ウイルス感染による転写因子の変化を見たところ、CM, CF, EC, Mock で異なったクラスターが見られた。これらの転写は、CM で抑制されているものとして、心筋組織の配列を決めるもの、細胞の呼吸に関連するものなどであり、亢進しているものは自然免疫、細胞死に関するものであった。また、CM では心筋細胞の収縮に関連する遺伝子、プロテオソーム (タンパク分解酵素複合体) サブユニット、ユビキチン化の変調が見られた。特に、アクチン接続に関与する LINC が破綻していた。さらに、筋線維構造タンパク、ミオシン短鎖、プロテオソームリン酸化酵素とシャペロンは抑制されていた。したがって、筋肉収縮機構や構造に関するものが影響を受けていた。
- 4) 筋繊維の断裂は、ウイルスの複製が行われているところではむしろ少なかった。心筋細胞の筋繊維の断裂や、脱核の様子をより詳細に検討するために細いフィラメントのマーカである心筋トロポニン T (cTnT)、Z-disk のマーカである  $\alpha$ -actin2 の同時染色をおこなった。その結果、筋繊維の断裂は M-line で起こっており、太いフィラメントと細いフィラメントの解離が起こっていると考えられ、これは電子顕微鏡でも確認された。また、筋節が収縮している場所に脱核所見が見られた。
- 5) 試験管内で見られた現象が実際の臨床でも認められるかを COVID-19 で死亡した患者の剖検組織を用いて検討した。その結果、組織は浮腫状で隣接する細胞との間に間隙が認められた。また、troponin-T の染色は不均一で、筋節の破綻が考えられた。また、いくつかの心筋細胞の脱核所見が見られ、実験の所見と同様であった。Spike, dsRNA, 2 種類の核カプシドの抗体をもちいてウイルスの同定を試みたが明らか

なウイルスは存在しなかった。

文献

Juan A, et al. SARS-COV-2 infection of human iPSC-derived cardiac cells predicts novel cytopathic features in hearts of COVID-19 patients. BioRxiv (preprint). Aug 25, 2020.

doi: 10.1101/2020.08.25.265561