

# 新型コロナウイルス感染症 最新の研究

Hideo Matsui  
松井英男著

---



はじめに

その後、全世界での新型コロナウイルス感染症の拡大は続き、2020年11月ころから、東京や首都圏を中心として第3波が日本を襲いました。冬季になったことと、人々の移動や会食などにより、家庭内を始め病院や高齢者施設へと感染が波及していったのです。そのため、2021年1月には首都圏や主要都市に緊急事態宣言が再び発出され、感染者数の減少はあるものの宣言解除の見通しが見つからないまま現在に至っています。

しかしながら、この間に新たにわかってきた事実も多くあり、なんとといってもワクチン接種の開始が人々に希望を与えています。

本書は、昨年オンライン出版した「新型コロナウイルス30の研究」の続編にあたり、当院ホームページ上での連載企画、「新型コロナウイルス感染症 最新の研究」で昨年の9月から12月までに紹介した文献を発表順にまとめたものです。この中には、現在にも通じる重要な知見も含まれており、ぜひ参照していただければと思います。

## 目次

はじめに	2
1 SARS-CoV-2 を検出するには唾液か鼻咽頭ぬぐい液か？	5
2 高層ビルにおける糞便エアロゾルによる SARS-CoV-2 の感染の可能性	7
3 市の下水より一時的に検出され系統発生的な遺伝子解析をおこなった SARS-CoV-2	10
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	13
5 COVID-19 の病状の経過には免疫反応の性差が関与する	16
6 社会生活での濃厚接触による COVID-19 感染リスクはどこにあるか？	18
7 SARS-CoV-2 感染後に発症した自己抗体陰性の 1 型糖尿病	20
8 ヒトコロナウイルスの細胞侵入を決める因子の網羅的な解析	22
9 季節性コロナウイルスの防御免疫の期間は短い	28
10 1本のチューブで行う SHERLOCK 法による SARS-CoV-2 の検出	30
11 COVID-19 が確定し入院した妊婦の特徴と母子の経過	32
12 単クローン抗体治療薬について	34
13 可溶性 ACE2 による SARS-CoV-2 の治療	36
14 SARS-CoV-2 のスーパー・スプレッダーについて	37
15 ヒトとマウスの脳における SARS-CoV-2 の神経浸潤	39
16 COVID-19 から回復した競技選手の心臓核磁気共鳴所見	45
17 保育施設に関連する COVID-19 感染爆発の伝播様式	47
18 急性期 COVID-19 における SARS-CoV-2 に対する抗原特異的獲得免疫は年齢と疾患の重症度に関連する	49
19 SARS-CoV-2 感染で入院した小児と成人の免疫応答	54
20 実生活の条件では SARS-CoV-2 の媒介物による感染リスクは低い	58
21 重症 COVID-19 の主たる遺伝的リスク因子はネアンデルタール人から受け継いだ	60
22 SARS-CoV-2 の空気感染について	62
23 SARS-CoV-2 は宿主のスプライシング、翻訳、さらにタンパク質輸送を破壊することで防御を阻害する	65
24 COVID-19 の感染既往のある患者の眼組織から SARS-CoV-2 核カプシド蛋白が検出された	67

2 5	COVID-19 後に突然生じた不可逆的難聴	69
2 6	飛行機の旅は安全か？	72
2 7	アイスホッケー試合による COVID-19 集団感染	84
2 8	抗加齢薬で免疫機能を高める	86
2 9	病初期の COVID-19 患者の呼気中には 1 時間に何百万もの SARS-CoV-2 ウイルスが含まれる	92
3 0	COVID-19 の受刑者に短時間で複数回の暴露をした刑務官の COVID-19 例	95
3 1	COVID-19 患者のリンパ節と脾臓では Bcl-6 発現濾胞ヘルパー T 細胞と胚中心が欠損している	97
3 2	夏季学校での COVID-19 集団発生	99
3 3	冬場に向けて COVID-19 の感染拡大は起こるのか？	101
3 4	学校はなぜ COVID-19 感染の温床ではないのか	104
3 5	ヒト細胞への SARS-CoV-2 感染に必要な宿主側の分子の同定	107
3 6	米国の食料品店従業員における SARS-CoV-2 感染および暴露の危険と精神衛生との関連	109
3 7	免疫抑制状態の白血病患者で無症候性に感染性のある SARS-CoV-2 を長期に排出した例	111
3 8	COVID-19 入院患者由来の血栓形成促進性の自己抗体	113
3 9	COVID-19 に対する mRNA ワクチン	115
4 0	若年成人の集団生活による SARS-CoV-2 の感染拡大	119
4 1	COVID-19 の移動ネットワークモデルにより感染の不公平さと店舗の再開方法がわかる	122
4 2	中国青島市における COVID-19 の突発的発生に対する迅速な対応	126
4 3	無症候性 COVID 感染についてデータは何を語るのか	128
4 4	I 型インターフェロン病が原因の COVID-19 関連筋疾患	131
4 5	TNF $\alpha$ と INF $\gamma$ 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	133
4 6	SARS-CoV-2 感染後に突然発症した ACPA 陽性関節リウマチ	136
	おわりに	139

## 1 SARS-CoV-2 を検出するには唾液か鼻咽頭ぬぐい液か？

SARS-CoV-2 を検出する現在の標準的な方法は、鼻咽頭ぬぐい液を用いた RT-PCR である。最近の報告では唾液検体がそれに代わりうるという報告があるが、その検出感度を比較した研究はない。イエール大学の Grubaugh と Ko らのグループ<sup>1)</sup>は、入院患者 70 名の臨床検体を用いて以下の検討を行った。

- 1) Covid-19 が入院時の鼻咽頭ぬぐい液の PCR 検査で確認されてから、IC を取った後に、さらに臨床検体として唾液を本人に採取してもらい、鼻咽頭ぬぐい液を医療従事者が採取した。米国疾病予防管理センターによるプライマー (N1 sequence) を用いて PCR を行ったところ、唾液検体の方が (mean log copies per milliliter, 5.58; 95% CI, 5.09 to 6.07) 鼻咽頭ぬぐい液 (同, 4.93; 95%CI, 4.53 to 5.33) よりも多くの RNA を検出できた。
- 2) Covid-19 が診断されて 10 日目までの検出率は、唾液検体の方が高かった。診断後 1 日から 5 日までの時点では、唾液 81%(95% CI, 71 to 96)、鼻咽頭ぬぐい液 71%(95% CI, 67 to 94)であった。このことから、少なくとも両検体は同等の検出感度があると考えられた。
- 3) 鼻咽頭ぬぐい液による検査結果は、個人の検体を繰り返し検査することによるばらつきがあるので、時間経過で検体をあわせて検討した。その結果、両方の検査法ともに時間の経過とともにウイルス量は減少した。唾液検体の推定減少カーブの傾きは、-0.11(95%CI, -0.15 to -0.069)であり、鼻咽頭ぬぐい液では、-0.09(95%CI, -0.13 to -0.05)であった。
- 4) 鼻咽頭ぬぐい液では 3 例ではじめ陰性だった結果が次の検査で陽性となったのに対し、唾液では 1 例だけであった。
- 5) 臨床経過中の RNA 量の偏位は、唾液検体(0.98 virus RNA copies per milliliter, 95%CI, 0.08 to 1.98)と鼻咽頭ぬぐい液(同 2.01, 95%CI, 1.29 to 2.70)を比較すると唾液検体の方が少なかった。
- 6) 最近の研究では、SARS-CoV-2 は無症状の人や外来患者で陽性となることがわかっているので、医療従事者 495 名の同意を得て、唾液と鼻咽頭ぬぐい液の両方の検査をした。その結果、無症状の 13 名の唾液からウイルスが検出された。その 9 例では両方の検査をしていたが、7 例で鼻咽頭

ぬぐい液の検体が陰性であった。13 例の健常陽性者はその後、CLIA(Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988)が認証した実験室での検査でも陽性であった。

- 7) 鼻咽頭ぬぐい液による検査のばらつきは偽陰性の説明になるかもしれないので、内因性コントロールを用いた検討を行った。その結果、ヒト RNase P の Ct 値の標準偏差は鼻咽頭ぬぐい液、唾液でそれぞれ、2.89 Ct (95%CI, 26.53 to 27.69), 2.49 Ct (95%CI, 23.35 to 24.35)であった。医療従事者が独自に検体を集めたサンプルでも内因性コントロールの検体では鼻咽頭ぬぐい液のばらつきは唾液にくらべて大きかった。それぞれの標準偏差は 2.26 Ct(95%CI, 28.39 to 28.56), 1.65 Ct(95%CI, 24.24 to 24.26)。

唾液を自身で集めることで、医療従事者と患者の直接の接触を避けることができる。これは、検査の足かせになっているもので、感染拡大の原因でもある。唾液を検体にすることで、ぬぐい棒や PPE の需要も減らすことができる。検査の需要が高まっているので、この研究結果は唾液検査の潜在的な価値を支持するものである。

#### 文献

- 1) Wylie AL, et al. Saliva or nasopharyngeal swab specimens for detection of SARS-CoV-2. N Engl J Med. August 28, 2020. doi: 10.1056/NEJMc2016359

## 2 高層ビルにおける糞便エアロゾルによる SARS-CoV-2 の感染の可能性

中国広州にある 30 階建て 3336 世帯（フラット）、5,800 人が暮らす高層アパートにおける SARS-CoV-2 の集団発生の原因がバスルームからの配管を通じた糞便エアロゾルの可能性を示唆する報告を、広州医科大学第一病院の Zhong らが行った。

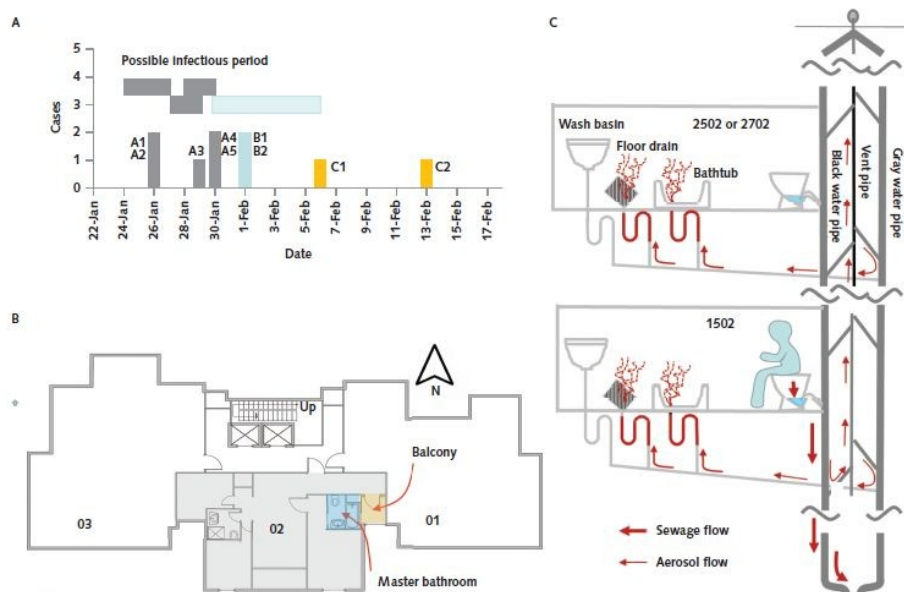
多くの専門家は、SARS-CoV-2 の感染は、主として濃厚接触や媒介物を通じて起こると述べている。ウイルス RNA が糞便中より確認されてから、糞口感染の疑いが持たれてきた。Zhang らは、感染後期に肛門スワブからウイルスが検出され、口のサンプルよりもより頻度が高いと述べている。Ong らは、バスルームの床からウイルスを検出した。Fangcang 病院では、移動式トレの近くのエアロゾルからウイルスが検出された。McDermott らは、糞便エアロゾルが SARS-CoV-2 の院内感染の経路かどうか検討している。

対象と方法: 2020 年 1 月 26 日から 2 月 13 日までの広州高層ビルの 3 つの垂直の居住区（ブロック X）における感染者の疫学的調査を行った（図 1 B）。COVID-19 の診断は咽頭ぬぐい液の核酸検査を行った。発症日は発熱や咳嗽などの症状が最初に現れた日とした。住人の情報以外に気象情報を近くの气象台より入手し、エレベーターの利用状況は監視カメラの画像を解析した。qRT-PCR は、感染者 9 名、他 193 名の住人、ビル管理人の 24 名、および 237 箇所の環境表面（83 フラットのうち 11）、共用スペース、ビルの排水設備で行なった。また、居住区 1502 の排水管システムにエタン（3.0L/min）を流し、空気の流れと分散状況を調査した。また、バスルームの空気圧のコンピューター模擬実験をおこなった。いくつかの階の U 字排水管における水封が乾燥している可能性があった。

結果: 3 家族 9 人の感染者が確認された。最初の家族 A (-02 居住区 1502 室) は COVID-19 のエピセンターとなった武漢への旅行歴があった。残りの 2 家族 (B:2502 室, C:2702 室)には旅行歴がなく、感染は A (感染者 5 名) >B (2 名) >C (2 名) の順に発生した (図 1 A)。他の 217 名のウイルス検査は陰性であった。1502 室の 5 箇所 (4 箇所がバスルーム、1 箇所がベッドルーム) と 1602 室の一箇所 (バスルーム) からウイルスが検出された。エレベーターを含め共用スペースではウイルスは発見されなかった。この 3 家族は、3 つの垂直に並ぶ

世帯（フラット）の住人であり、互いに交流はないが、マスターバスルーム（トイレ、洗面、バスタブ）の排水管で繋がっていた（図1C）。エタンガスはいずれの居住区でも検出されたがばらつきがあった。この3家族の感染状況と環境サンプルの陽性所見からウイルスを含んだエアロゾルが排水管や通気口経由で広まったと考えられた。

Figure 1. The block X outbreak and suggested transmission route.



A. Epidemiologic curve with patients from the same family shown in the same color. The possible infectious period for each group of patients with the same symptom onset date is estimated to be from 2 days before onset to their hospitalization dates. B. Floor plan for the second through 28th floors of block X, showing locations of bathrooms in -02 flats. C. Suggested transmission route from toilet flushing to the escape of gas in the drainage system containing bioaerosols into the master bathrooms of the -02 flats on the second to 29th floors. The dried-out water seals are shown with U-traps in red; escaped gas flow in the drainage system into a bathroom is shown by a red plume. Drawing is not to scale.

図1 ブロック X における感染拡大と感染経路

Yu らは、2003 年の Amoy Garden における 300 人規模の SARS の蔓延が、同様の機序で高層アパートで起きたことを報告している。COVID-19 患者は 2.0%~49.5% で下痢を認め、その中には感染力のあるウイルスが証明されている。トイレの排水の中にウイルスが存在し、糞便エアロゾルが排水管を通じて階の異なる住宅に及ぶことは十分に考えられる。この仕組みとしては、排水管と通気口による煙突効果や排水が下に落ちる力が作用していると考えられ、エタンガスが 1502 室より下の居住区からも検出されているのでニュートラルレベルは 1502 室より下であると考えられる。したがって、これより上層階では煙突効果によって排水管の圧が高まり、室内にエアロゾルの侵入が起こる可能性がある。しかし、エアロゾルが室内に入る条件としては、U 字管の水封が乾燥して



いるのが条件になる。また、煙突効果だけでなく、バスルーム内の陰圧状態が部屋へのエアロゾル侵入には重要であり、換気扇や北風の影響も考えられる。2502 室と 2702 室の居住者はめったに窓を開けず換気扇をつけっぱなしであったとのことなので、室内が陰圧となり、感染リスクが増したのかもしれない。コンピューター模擬実験によれば、居住区内の陰圧は 16.8Pa に達するので多くの上層階では煙突効果がなくても感染リスクが高まったと思われる。無人の 1602 室のバスルームからウイルスが検出されたのは、風による陰圧が生じたためと考えられた。このようにして室内にはいったエアロゾルは物体に付着し、ヒトの接触により他の表面に広がり糞口感染につながる。糞便エアロゾルは 2 月 19 日に洗面器の U 字管の内側から検出されたことから、水封が乾いてしまった、他の床換気口や便器に侵入したかもしれない。バイオエアロゾルはこのような便器を流したときに発生し、排水管や通気口に希釈されることなく拡散する。これは、開放空間におけるジェット（くしゃみなどの噴射）やパフ（ぷっと一吹き）が、感染源から遠ざかるにつれウイルスを含んだ飛沫の濃度が急速に減少するのと異なる。このため、バスルームに入ったヒトが直接吸い込む可能性や、部屋の物体に付着し、のちに誰かがそれに触れる可能性がある。このような感染形式は、Amoy Garden 以外にもあと 2 つ（Heng Tai House at Fu Heng Estate, Luk Chuen House at Lek Yuen Estate）報告されているが、排水管や通気口からはウイルスは直接検出されていない。

ブロック X における COVID-19 の爆発的感染は、環境検査の証拠から、糞便エアロゾルによる可能性が高い。これを防ぐには、排水システムが逆流して室内に入るのを阻止する必要がある。これには、U 字管の水封が乾くのを防ぐ必要がある。われわれの研究から、トイレを流すときには糞便エアロゾルが発生するので、バスルームの換気や衛生の重要性が間接的に示唆されたが、さらなる研究が必要である。

#### 文献

- 1) Min Kang, et al. Probable evidence of fecal aerosol transmission of SARS-CoV-2 in a high-rise building. Ann Intern Med. 2020. doi: 10.7326/M20-0928

### 3 市の下水より一時的に検出され系統発生的な遺伝子解析をおこなった SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 はエアロゾルで広がるのみならず糞便でも感染することがわかっている。米国モンタナ州立大学の Wiedenheft ら<sup>1)</sup>は、下水は感染が拡大しているのか減少しているのかを地域レベルでモニターするのに利用できると考え、以下の検討を行った。

モンタナ州ボーズマンの下水処理場よりサンプルを収集した。それは、17 のことになった日時に 74 日間にわたり、24 時間の流量に相当するものを自動採取した。これは、前日の下水の状況を反映することがわかっている。下水は、限外ろかおよびスピン濃縮をおこない、RNA サンプルとした。ワンステップ RT-qPCR (プライマーは核カプシド蛋白である N1, N2) を行い、ウイルスを同定した。その結果、3 月下旬から 4 月上旬のサンプルより SARS-CoV-2 が同定され、次第に減少して行った。また、5 月下旬から陽性となり、これは地域での感染を反映していた (図 1A)。

最初の感染爆発である 3 月中旬では、SARS-CoV-2 の RNA は、症状発現から 8 日遅れて出現した (相関係数,  $r=0.989$ )。また、各個人の検査結果より 2 日早かった (相関係数,  $r=0.969$ ) (図 1B)。5 月の再増加では、症状発現から 5 日遅れており ( $r=0.92$ )、検査結果より 4 日早かった ( $r=0.953$ ) (図 1C)。症状発現時期は、検査陽性からさかのぼって質問することで得られる情報のため、感染暴露から 10 日後でないとはわからない。すなわち、われわれの下水の検査が最も早 SARS-CoV-2 の感染状況を捉えることができる (図 1D)。

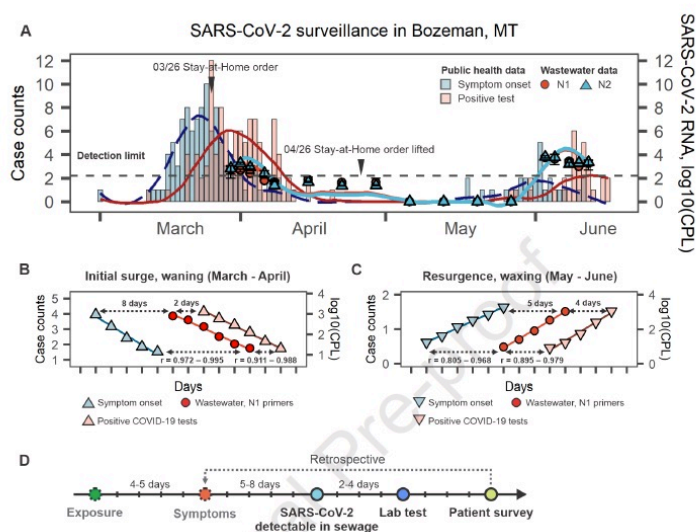


図1 ボーズマン市の下水における SARS-CoV-2 の調査

RT-qPCR の結果がウイルスそのものを捉えているのかを検討するために、10種類のプライマーの組を用いて PCR をおこなった。これにより、ウイルスの先祖や出所を見るのに用いる多形領域に接している、保存された領域を標的とすることができる。3月27日のサンプルを用いて PCR を行い、遺伝子配列はサンガー法を用いて MUSCLE により参照配列と並べられた。これらの結果には配列の多様性はなかった。同じ RNA 資料は、ほぼ完全長(98.5%)の SARS-CoV-2 遺伝子解析に用いられた。2020年8月13日現在で、GISAID には91カ国から~82,000種類のウイルスゲノムが登録されており、これによってウイルスの起源や進化が理解できる。系統発生的な解析により、ウイルス拡散の分子的な追跡ができる。3月27日現在、モンタナ州ボーズマンで蔓延しているウイルス株の先祖を決定するために、OxfordNanopore により遺伝子配列を決定した。アンプリコンライブラリーを構築するために2,000コピーのウイルス RNA が用いられた。これによって、配列決定の平均的な深度は6,875倍であり、98.5%の SARS-CoV-2 ゲノムをカバーした。全体で、11箇所の単一核酸変異(SNVs)がみつかった。これらが純粋な変異かどうかを Mendeley にて検討する段階で、A23122T はトリミングアーチファクトだということがわかった。他の10種類にはそういったことがなかった。この結果を74カ国より報告された14,970種類の SARS-CoV-2 ゲノムと比較をした。この結果、ボーズマンから単離されたウイルスゲノムに最も近かったのは米国カリフォルニアの株と、オーストラリアビクトリア株であった。 Wuhan WA1 系列の3つの変異(C8782T, C18060T, T28144C) はボーズマン WW ゲノムでは認められなかった。この結果を系統発生地図にした。その結果、A28851T 変異がもっとも最近に起こったものであり、それはカリフォルニア株由来であることがわかった。 下水からのサンプルによる一時的な遺伝子配列決定により、特定の地域で循環しているウイルス株を同定できる可能性がある。

今回の検討により、下水中のウイルスをモニタリングすることで、地域におけるリアルタイムのウイルス拡散状況がわかる。すなわち、遺伝子検査で感染が確認される2-4日前に下水中の結果が出ることになる。検査による診断確定だとウイルス拡散から遅れが生じ、現在のパンデミックを過小評価する可能性がある。米国で医療機関を受診する SARS-CoV-2 感染者は全体の32%でしか

い。このような現状であっても、下水のウイルス検査をすることで地域における個人全員のデータを総合して捉え、糞便中のウイルス量の中央値、ウイルスの崩壊速度、治療施設へ行くまでの時間、州あたりの水使用量などのデータをもとにしたモデルを解析すれば、より正確な感染状況を推定できる可能性がある。このように下水におけるウイルスモニタリングは、感染爆発を追跡し、それに対する政策にも反映させることができる。この研究は、下水調査、COVID-19の疫学、SARS-CoV-2の感染拡大様式の追尾と遺伝子配列決定を結びつけることにより、急速に出現する一連の仕事を補うものである。

#### 文献

- 1) Artem Nemudryi, et al. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. Cell Reports Medicine. 2020.  
doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100098

#### 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

## 5 COVID-19 の病状の経過には免疫反応の性差が関与する

COVID-19 の重症化や死亡に関連するリスクとしては性別（男性）があり、これには感染に対する免疫応答の相違があると考えられている。イエール大学の岩崎明子教授らのグループ<sup>1)</sup>は、SARS-CoV-2 の感染に対する性差を解明するためにウイルス量、SARS-CoV-2 抗体量、血漿中のサイトカイン/ケモカイン、血液細胞の形質などを比較検討した。

### 方 法：

2020年3月18日から5月9日までにイエール大学ニューヘイブン病院にCOVID-19で入院した患者は、PCRで感染が確定されており、IMPACT biorepository studyに登録された。98名の登録者は入院に際し、血液、鼻咽頭ぬぐい液、唾液、尿、便を採取され、3日から7日にかけて連続して検体が集められ、全血からは血漿と末梢血単核細胞が分離された。血漿を用いてSARS-CoV-2のS1タンパクに特異的なIgG、IgM抗体の測定、サイトカイン/ケモカインの測定を行い、末梢単核細胞は染色後フローサイトメトリーで分析した。男女の免疫形質の差を検討するために、ベースライン、経時的な変化を同時に検討した。対照は、COVID-19の感染がない同じ病院の医療従事者(HCW)とした。ベースラインの検討は以下の項目を満たすものとした。1) ICU入室者ではない、2) Tocilizumabの投与をうけていない、3) 高用量コルチコステロイドの投与を受けていない(プレドニゾン換算で>40mg) この条件をみたすCohort Aは39名(男性17名、女性22名)であった。このコホートでは年齢、BMI、発症からの日数はマッチさせた。しかしながら、HCWと患者との間には年齢とBMIの差があった。したがって、年齢とBMIをマッチさせた差分の差分法を並行して行った。経時的な検討は、全患者の男女間で全経過を通じて比較をした(Cohort B)。Cohort BにはCohort Aに加えて59名が追加された。この中には重症患者、臨床スコアの高いものが含まれた。

### 結 果：

1) Cohort A, Bともに鼻咽頭ぬぐい液、唾液中のウイルス量に男女差はなかった。SARS-Cov-2のS1タンパクに対するIgM、IgGの値も両群で性差は認められなかった。次に71種類のサイトカイン/ケモカインの濃度を比較した。



COVID-19 患者の血漿中には様々なサイトカイン/ケモカイン、増殖因子の増加が認められる (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF, CCL2, CXCL10, G-CSF など)。これまでの報告のように、コントロールに比較して患者ではこれら血中濃度は全般的に高値であった。多くの自然免疫関連の炎症性サイトカインやケモカインは男女間で比較できるものであったが、男性で顕著に高かったのは、ベースラインでは IL-8, IL-18 であり、経過中では CCL5 であった。

2) 単核球の男女差をフローサイトメトリーで検討した。T 細胞数はコントロールに比較して男女ともに低値であったが B 細胞に変化はなかった。男性では、非古典的な単核球の増加が認められたのに対し、女性ではより急峻な T 細胞の活性化(とくに CD8+T)が認められ、これは高齢でも持続した。男性では、T 細胞の活性化と年齢とは負の相関を示し、予後も悪かったがこの傾向は女性では見られなかった。逆に、自然免疫に関するサイトカインが高値であると予後が悪いことは女性で見られたが、男性ではみられなかった。

これらの結果により COVID-19 での性差を説明することが可能であり、性差に基づいた COVID-19 の治療や療養の展開に対して重要な基礎を与えると考えられた。

#### 文献

- 1) Takahashi T, et al. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. Nature. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2700-3

## 6 社会生活での濃厚接触による COVID-19 感染リスクはどこにあるか？

全米 11 箇所の外来施設からのデータに基づき、社会生活における COVID-19 感染リスクを分析した米国疾病予防管理センター(CDC)の Fisher らの報告<sup>1)</sup>を紹介します。

社会生活での濃厚接触が COVID-19 のパンデミックの原因となっており、CDC や公衆衛生当局は、原因ウイルスである SARS-CoV-2 の伝播を防ぐために「社会生活における緩和策」(community mitigation strategies)を推奨している。とくに無症候感染者などから感染が広まってしまうと、社会生活における濃厚接触の追跡は困難になる。COVID-19 感染確定者との濃厚接触は感染暴露の可能性が高く、これまで疫学調査がなされていたが、対照群として COVID-19 でない参加者を置いていなかった。

今回、筆者らは、全米 11 箇所の外来ヘルスケア施設 (IVY Network sites) で SARS-CoV-2 の核酸検査(RT-PCR)をおこなった症例患者 154 例 (年齢 18 歳以上で症状があり、外来受診をして検査で感染が確認された群) と対照参加者 160 例 (症状がある外来受診者で、検査が陰性だった群) について COVID-19 感染者との濃厚接触 (6 feet 以内 15 分以上) や マスクの装着の有無 (程度も)、発症 14 日以内に以下の社会活動をしたか (家で 10 人以上・以下の集会、買い物、レストランでの食事、事務所訪問、サロン・ジムの利用、バー・コーヒーショップの利用、教会や宗教行事への参加、公共交通の利用) の質問をし、記述的・統計的分析をした。

その結果、症例患者では 71%が、対照参加者の 74%が常に外でのマスクを装着していた。COVID-19 感染確定者との濃厚接触は、症例患者が 42%に対し、対照参加者は 14%であり ( $p<0.01$ )、その半数(51%)は家族であった。症例患者はよりレストラン (レストランとして区画されたあらゆる場所で、室内、パティオ、外席を問わない) で食事をしていた (調整オッズ比 [aOR]=2.4; 95% confidence interval [CI]=1.5-3.8)。参加者の解析を COVID-19 感染確定者との濃厚接触なしとした場合では、症例患者はよりレストランを利用しており (aOR=2.8, 95%CI=1.9-4.3)、バー・コーヒーショップも利用していた (aOR=3.9, 95%CI=1.5-10.1)。このことより、マスクの使用や社会的距離を取

りづらい場所である、食事や飲み物を提供する場所は COVID-19 の感染リスクがある可能性が高いが、これには、空調の問題も関与している。社会生活を再開するにあたって利用者、従業員、共同体を守るためにもこのような場所での感染暴露を減少する努力が必要である。

社会活動における感染リスクを評価した興味深い報告です。やはり、マスクをつける、社会的な距離を取るといったことが難しいレストラン、バー・コーヒョップがリスクになるようですが、買い物、公共交通機関（詳細不明）、家での 10 人以下の集会などは大丈夫そうだという結果です。

日本でのクラスターの解析(2020年1月15日～4月4日)では、東北大学の押谷教授らのグループ<sup>2)</sup>が 61 例の解析(家族内を除く)を行っており、その結果、医療機関、高齢者施設、音楽イベント、職場、冠婚葬祭、レストラン・バー、ジム、交通機関などでの発生があったことがわかっています。また、最初のウイルスの持ち込みは院内感染をのぞくと 20-30 代が半数を占め、市中感染が広がったのちに医療機関や高齢者施設での感染が広がったことが報告されています。

#### 文献

- 1) Fisher KA, et al. Community and close contact exposures associated with COVID-19 symptomatic adults  $\geq 18$  years in 11 outpatient health care facilities-United States, July 2020. MMWR 69(36), 1258-1264, 2020
- 2) Furuse Y, et al. Clusters of coronavirus disease in communities Japan, January-April. Emerg Infect Dis. 2020 doi: 10.3201/eid2609.202272

## 7 SARS-CoV-2 感染後に発症した自己抗体陰性の 1 型糖尿病

SARS-CoV-2 のウイルスは、ヒトの細胞に侵入する際に ACE2 を利用する。膵臓の  $\beta$  細胞には ACE2 が発現しているので  $\beta$  細胞の機能に影響を与える可能性がある。また、最近の研究でも COVID-19 と糖尿病との関連が報告されている。ドイツ Kiel 大学の Laudes らのグループ<sup>1)</sup>は、SARS-CoV-2 感染後に糖尿病性ケトアシドーシス(DKA)を発症した 1 型糖尿病の症例を報告した。

患者は 19 歳の白人男性で、4 週間前頃から続く異常な疲労感や脱力感、体重減少（数週間で 12kg）、多飲症（ $\sim 6$  l/day）、夜尿症（2-3 回）、食後の左側腹部痛を主訴に 5 月 5 日に救急外来を受診した。発熱や胸部痛は認めなかった。検査所見としては、DKA が疑われた（血液 pH7.1, 血糖値 552mg/dl, C-peptide 値  $0.62 \mu\text{g/l}$ , HbA1c 16.8%, 尿中糖・ケトン体陽性）。また、1 型糖尿病(T1DM)が疑われた。HLA 検査では、1 型糖尿病のハイリスクではなかった（DR1-DR3-DQ2 で 1.7 倍程度のリスク）。ところが、自己抗体は陰性だった（ラ氏島, IC-Ab; グルタミン酸脱炭酸酵素, GAD65-Ab; チロシンリン酸化酵素, IA-2-Ab; インシュリン, I-Ab; 亜鉛トランスポーター8, ZnT8-Ab)。このことから、1 型糖尿病のサブタイプ(type 1B)と考えられた。患者は、5-7 週間前に家族とともにオーストリアに旅行から帰った頃から SARS-CoV-2 の無症候性感染があったといい、4 月 29 日に抗体検査を受けたところ、IgG+, IgM-であったことから、その 4 週以上前に感染を起こしていたと考えられた。急性膵炎は否定的であった。入院後患者は DKA のため集中治療を要し、インシュリン静注治療が開始された。その後は状態が改善し、インシュリン皮下注射に切り替え、糖尿病の教育後に退院となった(入院 10 日後)。

コロナ様ウイルスはヒト細胞に侵入する際に、膜に存在するタンパク分解酵素を利用する。例えば、中東呼吸器症候群(MERS)ウイルスはインクレチンを制御する dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4)を利用し、SARS-CoV-2 は ACE2 を利用する。ACE2 は細胞膜上に広く存在し、膵臓では  $\beta$  細胞に発現しており、 $\beta$  細胞の恒常性維持に必須とされている。T1DM の病態は、 $\beta$  細胞の破壊であり、これは自己免疫によって引き起こされる。その環境因子としては微生物叢の減少による免疫系の活性化、小児期の早期からのフルーツや牛乳摂取、グルテン、毒素、そしてとくにウイルス感染が考えられている。興味深いことに、自己免疫が誘導されなくても、エンテロウイルスにより直接膵臓  $\beta$  細胞が障害される

ことがわかっている。この患者では、自己抗体の発現がなく、古典的な経路とはことなる SARS-CoV-2 による膵臓β細胞の直接の破壊により T1DM が発症したと考えられる。これは、膵臓 iPSC を用いた実験でも証明されている。また、SARS-CoV-2 感染により様々なケモカインが産生され、その中には細胞死に関与するものもある。さらに、SARS-CoV-1 ではラ氏島細胞の障害と糖尿病の発症が報告されている。

今回の症例報告には限界もある。まず、SARS-CoV-2 感染が T1DM の原因となったかの証明がなされていないので、さらなる研究が必要である。次に、HbA1c の値が高値であったが、これは一般的には数週間来の高血糖を反映するとされる。しかし、DKA に伴って HbA1c が高値になることはよく知られた事実である。また、赤血球の寿命にはばらつきがあるので、これが HbA1c のばらつきにもつながる可能性がある。

ここ何世紀かで生物学的な研究は進んだが、T1DM の免疫病理学的な解明はいまだ十分ではない。β細胞の機能不全と T1DM の発症の研究は、この疾患の治療を開発する上でも重要である。その意味で、SARS-CoV-2 感染の研究は T1DM の新しい知見を与えるであろう。このために世界中の症例を集め解析するプロジェクトが始まっている。

#### 文献

- 1) Hollstein T, et al. Autoantibody-negative insulin-dependent diabetes mellitus after SARS-CoV-2 infection: a case report. *Nat Metab.* 2020.  
doi: 10.1038/s42255-020-00281-8

## 8 ヒトコロナウイルスの細胞侵入を決める因子の網羅的な解析

SARS-CoV-2 がどの臓器に侵入できるかを検討するために、コーネル大学の Feshotte ら<sup>1)</sup>は、scRNA-seq 法を用いた網羅的な解析をおこなった。

COVID-19 患者における SARS-CoV-2 ウイルスは気管支肺胞洗浄液(BAL)、喀痰、鼻ぬぐい液から検出されるが、頻度が低くなるが気管支擦過細胞診、咽頭ぬぐい液、糞便からも検出され、さらに頻度は低くなるものの、血液や尿からも検出される。病理学的な検討では、死因として肺の損傷が最も考えられているが、SARS-CoV-2 ウイルスは、この他に心臓、腎臓にも障害を及ぼす。重症 COVID-19 患者ではしばしば肝臓障害が起こり、胃腸への感染も確認されている。最近では、男性患者の生殖機能にも障害をきたすことが報告されている。興味深いことに、SARS-CoV-2 は脳や脳脊髄液中でも確認されており、神経障害の原因にもなり得る。このように SARS-CoV-2 感染患者の幅広い臨床的な病態がなぜ起こるのかはわかっていない。このような病態が、ウイルスの直接感染によるものなのか、全身的な炎症反応、あるいは併存疾患による間接的なものなのかははっきりしないのである。これを解明するためには、ウイルスの指向性、すなわちどの組織、あるいは細胞種に SARS-CoV-2 感染が起こりやすいのかということを理解する必要がある。SARS-CoV-2 は新規のウイルスなので、細胞侵入の制御に関する知識は、SARS-CoV, MERS-CoV さらにはヒトコロナウイルス(hCoV)からのものである。これらのウイルスの一般的な細胞への侵入方法は、2段階になっていて、まず S タンパクが膜の受容体に直接結合し、第2段階として細胞のタンパク分解酵素により開裂をおこして膜との癒合をする。したがって、ウイルスの細胞指向性は、受容体だけでなく、その近傍にある都合の良いタンパク分解酵素の存在が必要である。SARS-CoV と SARS-CoV-2 ではこれらは、ACE2 と膜貫通型セリンタンパク分解酵素 2 (TMPRSS2)である。そのため、これら2つのタンパクの存在を検証する免疫組織科学的な検討などがなされてきた。最近では、単一細胞の遺伝子発現解析(single-cell RNA-sequencing)の技術により、あらゆる組織の細胞レベルでの解析がなされてきた。しかしそれらの限界は、単一の臓器(ないしは臓器システム)しか扱っていないこと(多くは肺)、それに ACE2 と TMPRSS2 だけに焦点をあて、他の因子を無視していることである。実際、幾つかの細胞(例えば肺がん A549

細胞) では ACE2 なしでも感染がおこる。また、肺、気管支、鼻咽頭、食道、肝臓、胃など臨床的に感染が起きる臓器での実際の ACE2 の発現は健常人では認められない。また、II 型肺胞上皮細胞は、肺における最初の感染や障害の起こる細胞とされるが、ACE2 発現では結果がまちまちである。これらのことから、SARS-CoV-2 が感染を起こす際に、ACE2 発現の個人差があるのか、病状によって発現量が異なるのか、さらには ACE2 とは異なる侵入形式を持っているのかという可能性がある。たとえば、Basigin (BSG, CD147)は S タンパクとの相互作用があり、Vero, 293T 細胞では SARS-CoV および SARS-CoV-2 細胞の侵入を促進する。実際、SARS-CoV や hCoV はさまざまな細胞表面タンパクを侵入の際に利用し、それらは、ANPEP, CD209, CLEC4G, CLEC4M などがあり、さらに hCoV は膜表面のタンパク分解酵素である TMPRSS2 にかわって、他の TMPRSS2 ファミリーである TMPRSS4, さらに Cathepsins (CTSL/M), Furin などを利用する。また、これまでの研究では、宿主側の因子の発現を考慮していなかったが、それらは、LY6E, IFITM であり、hCoV や SARS-CoV-2 の侵入を拮抗阻害することが知られている。したがって、現状でのわれわれの SARS-CoV-2 の指向性に関する情報は非常に限定的であると言わざるをえない。

そこで、これらのギャップを修正するために、まず SCARFs (SARS-CoV-2 and Coronavirus-Associated-Receptors and Factors) とよばれる 28 のヒト遺伝子群を収集し、広範囲の正常組織における基礎的 RNA 発現量を網羅的に検索した。とくに、一般公開されているヒト着床前の受精卵、Maternal-Fetus interface (MFI)、男性と女性の性腺、14 の他の組織、鼻腔擦過細胞診 (健康な若年と高齢者) における scRNA-seq データを consistent normalization procedure を用いて SCARF 発現を検討した。また、ヒト、チンパンジー、マカクの臓器 (肺、腎臓、肝臓、心臓) を用いて、SCARF 発現が種の間で保存されているかどうかも検討した。

## 結 果

### 1) SCARF の収集

多くの因子の中で、まず SARS-CoV-2 が細胞に侵入するところに関与する分子に注目したが、それらは ACE2 と TMPRSS2 である。また、BSG も SARS-CoV や SARS-CoV-2 での関与が実験的に証明されている。さらに、SARS-CoV-2/hCoV-229E では、ANPEP, CD209, CLEC4G/M, MERS-CoV で

は DPP4 も候補である。次に、タンパク分解酵素としては、TMPRSS2 に加えて TMPRSS4, TMPRSS11A/B, Furin, Cathepsins (CTSL/B) などがある。また、いくつかの抑制因子(RFs)として SARS-CoV-2 では LY6E、SARS-CoV では IFITM1-3 がある。さらに、侵入後の複製早期の因子として、TOP3B, MADP1 (ZCRB1) を考慮した。最後に、RNA ウイルスの構築と輸送に関与し、SARS-CoV-2 の構造タンパクと関連するものとして、Rho-GTPase complex (RHOA, RAB10, RAB14, RAB1A)、AP2 complex (AP2A2, AP2M1)、CHMP2A を考慮した。このようにして、総計 28 の SCARFs が SARS-CoV-2 のヒト細胞への侵入と複製に影響を与える物質の候補となった。

## 2) 着床前受精卵の発育における SCARFs の発現

ACE2 は発生の初期段階 (ZGA, 8-cell stage) において最も豊富に発現していたことから、母親からの RNA の蓄積が考えられた。ACE2 は ZGA 以後 trophoctoderm 形成期にいたるまで発現が見られなかった。それに対し、TMPRSS ファミリーは ZGA 以前に有意な転写量を示した。多能性幹細胞(PSC) は IFITM1-3 の高発現が見られたが、ACE2 はみられなかった。さらに、他の PSC から派生した~60,000 種の細胞での scRNA-seq データでは、分化して 20 日目までは ACE2 の発現が見られなかった。これらのことから、PSC や分化の初期細胞では、SARS-CoV-2 の侵入による感染は起こりにくいと考えられた。

## 3) 胎盤胎児の境界における SCARFs の発現

trophoctoderm における TMPRSS2, ACE2 や他のコロナウイルスの受容体、たとえば ANPEP の高発現は、IFITMs の低発現とともに発達中の胎盤では SARS-CoV-2 の感染に脆弱である可能性が考えられた。これを確認するために、妊娠 1/3 期の MFI 由来の組織での~70,000 種類の細胞の転写を検討した。これには、胎児由来細胞と、母親由来の血液および脱落膜が含まれる。これらのクラスターの細胞は、主たる栄養膜細胞、脱落細胞、免疫細胞などで、ACE2 と DPP4 の発現は、cytotrophoblast (CTB) と syncytiotrophoblast (STB) で見られた。 ANPEP は胎児由来の細胞全てで豊富に発現が見られ、BSG は母由来ないしは胎児由来の細胞で見られたが、胎児が多かった。CLEC4M は脱落膜の血管周囲細胞で発現が強かった。興味深いことに、絨毛外栄養膜細胞(EVT)では ACE2, TMPRSS2 の発現は少なかったが、RFs である IFITM1-3, LY6E の発現



は中等度から高度であり、これは脱落膜細胞や免疫細胞でも見られた。TMPRSS2 を発現している細胞はその受容体を発現している細胞より少なかった。このように、母体胎盤境界部における SCARFs の発現は複雑であった。異なった胎盤細胞における SARS-CoV-2 の侵入をさらに細かく評価するために、受容体とタンパク分解酵素ないしは RFs との組み合わせの発現を調べた。CTB はもっともこの組み合わせが高発現であり、それらは、ACE2+TMPRSS2+(0.05%), ACE2+FURIN+(~3%), BSG+TMPRSS2+(0.8%), BSG+FURIN+(10%), DPP4+TMPRSS2+(0.6%), DPP4+FURIN+(~10%)であった。血管周囲細胞もやはり BSG+TMPRSS2+, DPP4+TMPRSS2+であったが、CTB にくらべると低頻度であった(0.5%)。興味深いことに、DPP4+細胞の一部(~20-80%)は、IFITM1-3 と LY6E を常に発現していたが、ACE2+と BSG+細胞が RFs を同時発現することは稀であった。ACE2+細胞は、TMPRSS2 や FURIN を同時に発現することが多かったが、これは CTB 細胞の一部に限られた。これらの結果より、妊娠 1/3 期では CTB が最も感染しやすいと考えられた。

#### 4) 生殖器における SCARFs の発現

精巣ではこれまでの報告のようなクラスターを要約できる。すなわち、spermatogonia (SPG), spermatogonial stem cell (SSCs), spermatids (ST), マクロファージ, 血管内皮細胞, 免疫細胞などである。SCARFs 解析では、SPG と SSCs において ACE2, TMPRSS2, SPP4, ANPEP が高発現し、IFITM, LY6E などの RF は低かったことから、精子形成過程の初期での SARS-CoV-2 感染が示唆されたが、卵巣におけるクラスター細胞(顆粒膜, 免疫, 血管内皮, 血管周囲, 間質)では卵巣ないしは卵母細胞の感染の可能性は低いと考えられた。

#### 5) 成人組織細胞での網羅的解析

14 の臓器の 33 種類の細胞種類について解析した。まず ACE2 と TMPRSS2 の発現を見たところ、全細胞の >0.1% の発現を見たのは、大腸、小腸(空腸、十二指腸、回腸)、胆嚢、腎臓細胞であり、それ以外[肺での 1 型(AT1)、2 型(AT2)細胞を含め]での発現はほとんど見られなかった。発現は認められたものの、両方同時に発現するものはさらに少なく、たとえば腎臓では、ACE2 と TMPRSS2 の同時発現は 0.01% の細胞でしか見られなかった。0.5-5% の発現が見られたものは、腸管細胞、近位尿細管細胞、杯細胞であった。肺での AT2 細胞は、DPP4,

BSG, ANPEP, TMPRSS2 and/or FURIN を発現しており、ACE2 よりはこれらが侵入経路と考えられた。コロナウイルスの侵入に関する分子の発現は成人臓器で広範囲に認められたが、それらの細胞は、周皮細胞、アストロサイト、小脳ミクログリア、前立腺内分泌細胞、小腸腸管細胞、杯細胞、近位尿細管細胞に限られた。

#### 6) 鼻粘膜上皮での発現

鼻粘膜上皮の細胞としては、繊毛細胞、分泌細胞、基底上細胞、NK 細胞などがある。NK 細胞の多くは DPP4 を発現しているが、その他の 3 つの上皮細胞は、あっても低～中程度の ACE2, ANPEP, NSG と TMPRSS2 を発現していた。ACE2 は繊毛細胞で高かったが、ANPEP は分泌細胞で発現していた。逆に、BSG はすべての鼻上皮細胞で発現していたが、基底上細胞でとくに強かった。TMPRSS2 は 3 つすべてで発現しており、分泌細胞が多かった (41%)。消化管と異なり、ANPEP, DPP4, ACE2 の同時発現は少なく、これらのうち一つの発現が見られた。これに対して、RFs である、IFITM3, LY6E はすべての上皮で見られ、最も高かったのは分泌ならびに基底上細胞であった。ACE2+TMPRSS2+ の繊毛細胞は、LY6E(85%), IFITM3(65%)と同時発現していた。まとめると、鼻粘膜上皮細胞は、SARS-CoV-2 の侵入を助ける受容体の組み合わせの発現が見られたが、同時に抑制因子の発現も見られた。

#### 7) 鼻粘膜における SCARFs 発現の年齢の関与

若年層(24-30 歳)と高齢者(50-59 歳)との間で SCARFs の発現を検討した。その結果、ACE2, TMPRSS2, TMPRSS4 は繊毛細胞でいずれの年齢層でも発現が見られたが、ACE2+TNPRSS2+, ACE2+TMPRSS4+両方陽性の頻度は、高齢者で高かった。また、ANPEP+TMPRSS2+/4+の陽性頻度は、逆の傾向であった。TMPRSS2 の若年層の繊毛細胞での発現は増強していたが、高齢者では不変であった。これらの結果から、TMPRSS2 の発現頻度の変化が、若年から高齢者になるにしたがって生じると考えられた。

#### 8) 種を超えた SCARFs の発現保存

ACE2 と DPP4 は組織や種族間で発現が異なっていた。例えば、チンパンジーの肝臓や肺の組織は、ヒトやマルクと比べて DPP4 が高かったが、ACE2 は低

かった。ヒトやチンパンジーの肝臓や肺の組織では ACE2 の発現はなかったがマルクの肝臓では ACE2, DPP4, ANEP, TMPRSS2 の発現が見られた。ACE2, DPP4, ANEP, TMPRSS2 の発現は3種の腎臓で共通に見られた。このことから、種を通じて、腎臓がもっとも感染しやすい臓器と考えられた。また、ヒトとマルクの早期の胚では感染性に差があると考えられた。

## 考 察

今回の検討で、今まで以上に多岐にわたる SARS-CoV-2 の侵入に関与する分子（促進と抑制）の scRNA-seq による網羅的な解析が可能であった。これにより、ウイルスの指向性の一端が明らかになり、発生初期での感染性は低いことや、妊娠初期での感染の可能性、精巣での感染の可能性が示唆された。成人臓器での発現では、消化管、腎臓さらに脳組織での感受性がみられたが、肺や心臓では ACE2 の関与は低いと考えられた。また、動物種によって結果に普遍性があったことから、これらを用いた動物実験は病態やワクチン開発には適切であると考えられた。しかしながら、今回の検討は、健常人の定常状態における転写の検討であるので、蛋白の発現状態や遺伝的・環境的な要因、例えば SARS-CoV-2 の感染によって、とくに ACE2 の発現状態に変化が生じる可能性はある。

## 文献

- 1) Singh M, Bansal V, and Feshotte C. A single-cell RNA expression map of human coronavirus entry factors. Cell Rep. 2020  
doi: 10.1016/j.celrep.2020.108175

## 9 季節性コロナウイルスの防御免疫の期間は短い

長期間の季節性コロナウイルス感染を追跡した、オランダアムステルダム大学の Hoek ら<sup>1)</sup>の報告を紹介します。

通常の季節性コロナウイルスの再感染が起こることはわかっているが、SARS-CoV-2 の再感染に関する事実は限定的である。COVID-19 の将来的な感染の波に備えるためにも、再感染までの防御期間がどのくらいかを解明するのに季節性のコロナウイルスの情報は役立つであろう。季節性のコロナウイルスには、HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-HKU1 の四種類が知られており、いずれも気道感染をおこすが遺伝学的にも生物学的にも異なっている。これらの季節性コロナウイルスが共有する特徴、たとえば防御免疫の持続期間は SARS-CoV-2 を含めて代表的なものであろう。本研究では、季節性コロナウイルスの再感染にたいする防御期間を解明することを目的とした。季節性コロナウイルス感染では症状がないことやウイルスの拡散期間が限定的なこともあり、ウイルスを検出すること（たとえば RT-PCR など）で長期の疫学的な調査を行うためには呼吸器検体を継続的に採取する必要がある。別の方法として、血清抗体価を測定することもできるが、これは感染から 1 年くらいまで上昇するとされる。

このため、アムステルダムコホート研究（男性同性愛者の HIV-1 フォローの研究）のうち 10 名の健康成人が選ばれ、1980 年代から現在に至るまで（1997 年から 2003 年までは中断があるが）1989 年以前は 3 ヶ月ごと、それ以降は 6 ヶ月ごとの採血が行われた。10 名の延べ経過観察期間は 2,473 ヶ月以上であった（平均 20.56 年）。再感染を確認するために、それぞれのコロナウイルスの C 末端領域の抗体（抗原性のあるヌクレオカプシド蛋白の抗体）量の変化（ELISA で  $\geq 1.40$  倍の OD 変化を感染と判断）を測定した。その結果、101 回の事象（3-17 回/個人）がコロナウイルス感染と分類された。再感染までの期間は 6 から 105 ヶ月であり、ウイルス間で差がなかった。HCOV-HKU1 は ELISA の感度が低く過小評価となった。

幾つかの症例で再感染が 6 ヶ月、9 ヶ月で発生したが、最も多かったのは 12 ヶ月であった。6 ヶ月以前では再感染がなく、それ以上では中間的な時期で再感染がみられたこと、さらに 6 ヶ月以前では抗体価の減少（ $\leq 1.0$  倍）しか見られ

なかったことから最も早い再感染は6ヶ月と考えられた。

コロナウイルス感染で誘導される抗体は、コロナウイルスを広く認識する抗体のはずである。これを確認するために、追加で SARS-CoV-2 の N 末端ヌクレオカプシド蛋白を認識する抗体による ELISA をおこなった。その結果、2名の被検者がこの抗体に反応し、それは長期に亘ったにもかかわらず、通常のコロナウイルス(NL63, 229E, OC43)の感染をきたした。今回の研究は、被検者の症状に依存していない点に特徴がある（抗体価の変動とインフルエンザ様症状との相関は確認されている）。このため、6月~9月ではすべてのコロナウイルスの季節性の減少が認められ、冬場に感染が広がる傾向であった。このため SARS-CoV-2 でも爆発的な感染増加のあとには季節性の変動があると思われる。

今回の検討では、それぞれのウイルス株による違いを区別できない。この違いは再感染にたいする感受性につながるとされる。また、NL63, OC43, HKU1では遺伝子の異なった株がクラスターとなって同時に広まる。また、229Eは持続的な遺伝子変異をとともうが、同じ株による再感染や異なった株での再感染が報告されている。SARS-CoV-2 では遺伝子変異は少ないので、異なった株による再感染の可能性は少ない。

長期間の免疫、すなわちワクチンによる獲得免疫や集団免疫にたよる政策には注意が必要である。症状が軽度の SARS-CoV-2 感染後の免疫は2ヶ月ほどで減弱するとの報告があり、われわれもヌクレオカプシド抗体による検討で同様の結果を得ている。しかしながら、抗体は免疫のひとつの指標にすぎず、B細胞やT細胞による免疫も関与している。われわれの検討では、防御免疫が不十分な時に再感染が起こることを示した。季節性のコロナウイルスによる再感染は自然に起こりうることであり、これは SARS-CoV-2 を含めコロナウイルス全般の特徴であろう。再感染の時期は12ヶ月後に多いことから、防御免疫の期間は短いと考えられた。

#### 文献

- 1) Edridge AWD, et al. Seasonal coronaviruss protective immunity is short-lasting. Nature Med. 2020 doi:10.1038/s41591-020-1083-1

## 10 1本のチューブで行う SHERLOCK 法による SARS-CoV-2 の検出

MIT and Harvard 大学の Zhang ら<sup>1)</sup>が考案した CRISPR を応用した新しい SARS-CoV-2 診断方法について紹介します。

CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)を基礎とした診断検査は、ウイルスや病原菌の検出に用いられている。とくに SHERLOCK (specific high-sensitivity enzymatic reporter unlocking)法は SARS-CoV-2 の検出に用いられてきたが、その方法は、標的遺伝子の増幅と CRISPR による核酸の検出という 2 段階からなる。しかしながらこの方法は、臨床現場即時検査法としては複雑であり、RNA の抽出や多くの試薬を扱う手順があり、検体の交差汚染の原因ともなる。

今回、これを改良した方法を報告する。この方法の感度は、従来の RT-qPCR と同等であった。STOP (SHERLOCK testing in one pot)とは、RNA 抽出作業を簡略化し、等温遺伝子増幅と CRISPR による検出を行うものである。この方法だと、温度設定は1つですみ、最小限の機器を用いて検査時間も 1 時間以内である。

等温増幅と CRISPR による検出を行うために、共通の最適な緩衝液を用いる必要があり、逆転写に続いて LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法を用いた。また、温度で一定な Cas 酵素として AapCas12b を用いた。われわれはこの方法を STOPCovid, version 1 (STOPCovid.v1)と名付けた。本法により、lateral-flow (試験紙による方法) および fluorescent readout (蛍光強度測定) が可能であった。

RNA 抽出を簡略化し、感度を上げるために、磁気ビーズ法を取り入れた。これにより、検体からの SARS-CoV-2 RNA が濃縮される。この方法は、STOPCovid, version 2 (STOPCovid.v2)と名付けた (図 1)。この方法を、CDC による RT-qPCR と比較したところ、RNA の濃度は 600 倍になり、CDC の方法の 1/30 のウイルスも検出できた (100 copies per sample, or 33 copies per milliliter)。検出限界は、RT-qPCR と同様で Ct 値で 40.3 であった。

202 例の SARS-CoV-2 陽性検体と 200 例の陰性検体 (鼻咽頭ぬぐい液) をもちいて検討を行った。その結果、STOPCovid.v2 の感度は 93.1%で、特異度は

98.5%であった。この方法による偽陰性例は Ct 値が 37 であった。陽性例は、15 分から 45 分で検出できた。最後に、新鮮で乾燥している鼻スワブ検体をもちいて STOPCovid.v2 を検証したところ、5 例の陽性例と 10 例の陰性例を同定できた。このように簡略化された STOPCovid.v2 は、複雑な操作をしない臨床検査室での使用に適している。

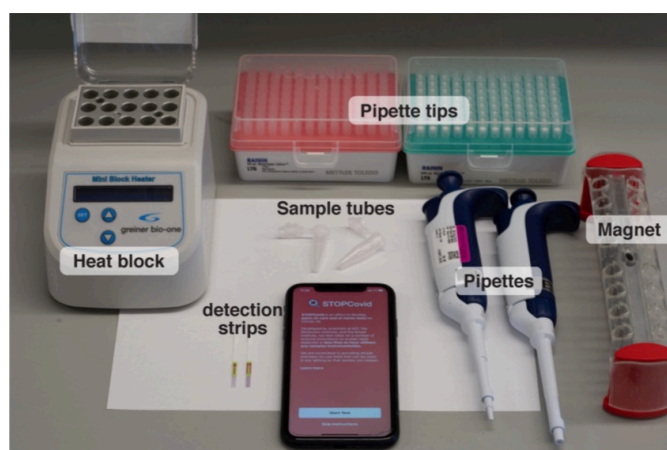
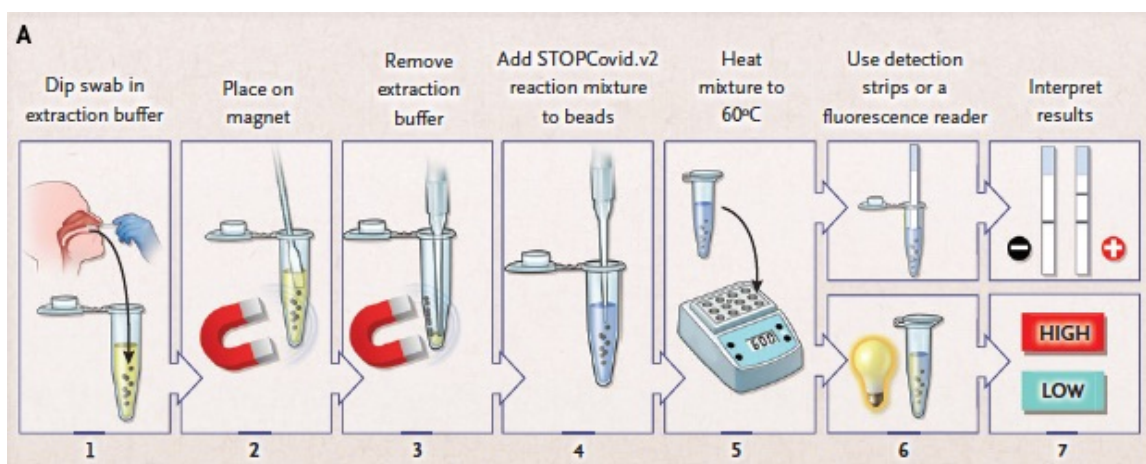


図 1 STOPCovid.v2 の手順（上）と必要機材（下）

文献

- 1) Joung J, et al. Detection of SARS-Cov-2 with SHERLOCK one-pot testing. N. Engl. J. Med. 2020 doi: 10.1056/NEJMc2026172

## 1 1 COVID-19 が確定し入院した妊婦の特徴と母子の経過

全米 13 州で COVID-19 に罹患し入院した妊婦に関する米国疾病予防管理センター(CDC)からの報告<sup>1)</sup>を紹介します。

妊婦は重症 COVID-19 の危険が増す可能性がある。COVID-19-Associated Hospitalization Surveillance Network (COVID-NET)は、2020 年 3 月 1 日から 4 月 22 日までに全米 13 州で SARS-CoV-2 感染が確定し入院した妊婦（年齢は 15-49 歳,中央値は 29 歳）598 例（妊娠女性の 26.5%）のデータを解析した。人種がわかっている 577 例（96.5%）では、42.5%がヒスパニックないしはラテン系であり、26.5%は黒人であった。596 例の妊娠時期がわかっているなかでは、1 期、2 期、3 期はそれぞれ 14 例(2.3%)、61 例(10.2%)、521 例(87.4%)であった。324 例で入院理由がわかっており、242 例(74.7%)は産科的理由（分娩など）であり、61 例(18.8%)は COVID-19 関連疾患で、21 例(6.5%)は他の理由であった。妊娠 1 期と 2 期での入院理由は COVID-19 関連が 56.8%であり（有症状は 84%）、3 期では産科的理由が 81.9%であった（COVID-19 関連では 39.9%が有症状）。入院した妊婦の 20.6%で最低 1 つの疾患を有しており、それらは、喘息(8.2%)、高血圧(4.3%)が多かった。半数以上の 54.5%が入院時に無症状であり、272 例(45.5%)の有症状妊婦（発熱 59.6%、咳嗽 59.2%）のうち、16.2%は ICU に入室し、8.5%は侵襲的人工呼吸を要した。また、死亡は 2 例（0.7%）であった。COVID-19 に関連する入院期間のうち、458 例中 448 例（97.8%）が妊娠を全うし無事出産したが 10 例（2.2%）が流産した。

このように、COVID-19 と診断されて入院治療を受けた妊婦の半数以上は無症状であり、その中では重症例や死亡例はなかった。2.2%で流産をきたしたが、それは症状とは関係なかった。妊娠女性の 26.5%が COVID-19 関連の入院を要したということは、妊娠女性では COVID-19 で入院する率が高いことを示している。妊婦での COVID-19 はより重篤ではあるためという以外に、他の要因も考えられる。それは、入院させる側の問題や、妊婦は COVID-19 検査を受ける割合が多いことも考えられる。また、入院する人種としては、ヒスパニックや黒人が多かったことは、職業や、住環境、身体的距離の取り方などがリスク要因としてあるのかもしれない。多くの SARS-CoV-2 陽性の妊婦は無症状であった。このことから、症状がある患者だけを検査すると SARS-CoV-2 感染者を見



逃すことになり、医療従事者が防御をとれなくなる。ICU 入室は 7.4%の妊婦でみられたが、これはヨーロッパでの頻度と同様であった。しかし、症状のある妊婦でみると 16.2%が ICU へ入室しており、妊婦で症状のある場合は、結果が重篤になることを示している。早産が 12.6%で見られたことは、全米平均の 10.0%(2018)に比べると高い。今回の検討では、有症状での早産は無症状の場合の 3 倍であった。早産の新生児は感染リスクが高まり、防御策が必要である。

今回の検討の限界としては、1) 妊婦の 29.4%しかデータが完全ではなく検討できなかったのがバイアスがある、2) 今回の妊婦が特定のエリアでのすべての妊婦の代表ではない、3) 検査の状況で COVID-19 が見逃された可能性がある、4) 45.8%で入院理由がわからなかった、5) 肥満状況が検討されなかった、6) 母子の正確な死亡率は退院以降のデータがないと出せない、などである。

入院治療を要した妊婦では、重症な COVID-19 や出産時の合併症が生じるので、COVID-19 の予防や診断が重要となる。妊婦は感染確定者や疑いのある人との濃厚接触は避けるべきであり、マスクをつけることや手指衛生をすることが重要である。CDC は COVID-19 の母親から生まれた新生児の検査や、母親や新生児の隔離、さらには介護者の防御を推奨している。母子の健康を守るためにも継続的な調査が必要である。

#### 文献

- 1) Delahoy MJ, et al. Characteristics and maternal and birth outcomes of hospitalized pregnant women with laboratory-confirmed COVID-19-COVID-NET, 13 States, March 1-August 22, 2020. MMWR 69, September 16, 2020.

## 1 2 単クローン抗体治療薬について

SARS-CoV-2 ウイルスが細胞に侵入する際にはスパイクタンパク(S タンパク)を細胞表面の受容体(例えば ACE2)と結合させますが、この段階を阻害する治療薬として S タンパクに対する単クローン抗体(mAb)があります。実際、COVID-19 にかかった人の回復期血清には抗体が含まれており、これを産生するリンパ球(B細胞)を集めてくればその遺伝子情報からいくつかの mAb を作ることができます。あるいは、マウスを S タンパク抗原で免疫し、ハイブリドーマを作製し、得られた抗体をヒト化する従来の方法や、mRNA ライブラリーをスクリーニングして人工抗体を得る方法などがあります。

米国国立衛生研究所(NIH・NLM)の臨床試験サイト(ClinicalTrials.gov)によれば<sup>1)</sup>、mAb の臨床試験は 41 種類行われており(9月18日現在)、S タンパク以外にも特定の分子を標的としたもの(XIIa 因子, CD14, GM-CSF, IL-6 など)があります。S プロテインに対する mAb の臨床試験のフェーズ 3(無作為、偽薬コントロール、二重盲検試験)をおこなっている抗体治療薬は 2 つあります(9月18日現在)。

- 1) 米国国立アレルギー感染症研究所(NIAID)とリジェネロン社(NY, USA) とが共同して開発している 2 つの mAb カクテル療法(REGN-COV-2)で、S タンパクの 2 つの異なった部位に対する mAb を用いるものです<sup>2)</sup>。この臨床試験では、2,000 人の無症状成人(感染が確認された同居家族との濃厚接触をしたもの)が対象で、その投与 1 ヶ月の時点での予防効果と、感染患者の症状予防効果を見ます。また、安全性は 7 ヶ月間経過観察されます。
- 2) イーライ・リリー社(IN, USA)が NIAID と共同開発している LY-CoV555 は、回復期血清から単離された mAb を用いた臨床試験<sup>3)</sup>で、高度看護あるいは介護施設の居住者といった感染ハイリスク者(～2,400 名)に対して投与されます。施設での感染が確認されてから一週間以内に投与者の登録がおこなわれ、8 週にわたる予防効果と、感染患者の症状予防も検討します。

2020 年 9 月 16 日に、イーライ・リリー社から LY-CoV555 のフェーズ 2 の中

間報告<sup>4)</sup>が発表されました(BLAZE-1 study)。これは、軽症から中等症の COVID-19 患者を対象に、4 群（プラセーボ、LY-CoV555 を 700mg, 2,800mg, 7,000mg を静脈注射）の比較を行うもので、11 日目のウイルス量は、2,800mg 投与群で基準値より減少した（ただし、ほとんどの患者で 11 日目にはウイルスは消失している）。また、ER 受診と入院率の減少が見られた[投与群 1.7%(5/302), プラセーボ群 6%(9/150)で 72%のリスク減少]。また、いずれの投与量でも耐用性があり、重篤な合併症は生じなかった、とのことです。

人工抗体ライブラリーを用いた S タンパクに対する人工抗体の単離も世界中で研究が進んでいますが、従来のファージディスプレイ法ではレパートリーに限界があり（ $\sim 10^{11}$ , 千億個）、有効な抗体が単離できないという欠点がありました。最近では mRNA ディスプレイ法を用いて（ $\sim 10^{13}$ , 10 兆個）の抗体を有する人工的な抗体集団から短時間で抗体を単離することが可能になっています。名古屋大学の村上教授らのグループ<sup>5)</sup>は、この方法を用いてわずか 4 日間で S タンパクに対して阻害活性のある ( $IC_{50}=0.5nM$ )人工抗体(antibody-like protein)を単離しました。

抗体治療は、長くても半年程度の効果を見込む治療薬であり、耐性の問題や費用も年間使用だと 10 万ドル（1,000 万円以上）はかかるとされます。ワクチンやその他の治療薬の開発が進んでいますが、最も臨床的に早期に使用できるようになるのは、エボラの時もそうでしたが、抗体治療薬になるでしょう。

#### 文献

- 1) ClinicalTrials.gov <https://clinicaltrials.gov>
- 2) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04452318>
- 3) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04497987>
- 4) <http://www.prnewswire.com/news-release/lilly-announces-proof-of-concept-data-for-neutralizing-antibody-ly-cov555-in-the-covid-19-outpatient-setting-301131785.html>
- 5) Kondo T, et al. Antibody-like proteins that capture and neutralize SARS-CoV-2. Sci. Adv. 2020 doi: 10.1126/sciadv.abd3916(2020)

### 1 3 可溶性 ACE2 による SARS-CoV-2 の治療

SARS-CoV-2 の S タンパク質の構造解析が進み、その単クローン抗体(mAb)による治療の可能性について前回述べましたが、ACE2 は宿主細胞の細胞膜に埋まるようにして存在するタンパクなので、その膜外の部分（可溶性 ACE2, sACE2）も SARS-CoV-2 の S タンパクに結合することで本来の受容体を経由した侵入を防ぐ可能性があります（いわゆる囮、Decoy による治療）。しかし、ACE2 の場合はそれ自身がアンギオテンシン II を変換する作用があるので、血圧を下げてしまう可能性があり、sACE2 を利用した治療はこれまで開発されていませんでした。

イリノイ大学の Procko らのグループ<sup>1)</sup>は、タンパク質のアミノ酸配列を系統的に変化させてその機能の変化を調べる deep mutagenesis という方法を用いて、sACE2 を S タンパクへの親和性を高めるように変換する実験を行った。その結果、変異していない sACE2 よりも高い親和性を持つ変異体（アスパラギン 90 の糖化モチーフと埋没部位）を得ることができた。解離係数で比較すると、従来の sACE2 が 22nM であったのに対し、変異体 ACE2.v2.4 は 0.6nM であった。すなわち、より少ない濃度で細胞上の ACE2 と SARS-CoV-2 の S タンパク質との結合を阻害することができた。これをさらに改変して(T27Y, L79T, N330Y)、安定して 2 量体をつくる変異 ACE2<sub>2</sub>.v2.4 を用いて VeroE6 細胞を用いて中和活性を検討した所、回復期血清の中和抗体と比べても S タンパクとの結合を高い親和性で競合することから、mAb と比較しても良い結果が得られる可能性があると考えられた。加えて、SARS-CoV に対しても同様の親和性を有していた。問題になるアンギオテンシン II の分解活性であるが、通常の ACE2 と比べてかなり低下していることが明らかになった。

#### 文献

- 1) Chan KK, et al. Engineering human ACE2 to optimize binding to the spike protein of SARS coronavirus 2. Science 369, 1261-1265, 2020 doi: 10.1126/science.abc0870

## 1 4 SARS-CoV-2 のスーパー・スプレッダーについて

スーパー・スプレッダー(superspreader, SS)とは、通常考えられている以上に二次感染を起こす者の総称であり、SARS-CoV-2 の場合はいくつかの事例が報告され、クラスターとともにその存在が示唆されている。例えば、

- 1) 米国ワシントン州の合唱団における 1 名から 52 名への感染<sup>1)</sup>
- 2) 韓国デグ市の教会における 1 名から 37 名への感染<sup>2)</sup>
- 3) 米国ジョージア州で行われたサマーキャンプで 344 名中 260 名が感染<sup>3)</sup>
- 4) 米国メイン州で行われた結婚式で感染がおり、地域の 170 名が感染<sup>4)</sup>

SS の存在は、パレートの法則 (80:20 の法則) に従うとされる。これは、すべての結果の 80% は、考えられる原因の 20% によるものであるという法則であるが、COVID-19 の場合は、新規感染者の 80% はウイルスの保有者 20% の人が原因になっているということである。これは、後述する香港大学の報告<sup>5)</sup>でも示唆されているが、中国<sup>6)</sup>やイスラエル<sup>7)</sup>からの報告では 10% が 80% を感染させているという結果も出ている。スーパー・スプレディングの事象(SSEs)がある場合、接触者追跡をしても二次感染は少ないことが多い。原因は、その集団の免疫力の低下、院内など特殊な環境、ウイルスの感染価や量、他の病原菌などの重感染(HIV で指摘されている)、通常よりも多くのウイルスを発する条件(大声、飛沫を起こしやすい発音など)などが挙げられるがはっきりとした原因は不明である。

SS の存在は、SARS の時にも報告<sup>8)</sup>され、シンガポールの感染者 1 名が SS と考えられ、172 例の感染を引き起こした(この場合は、10 人以上への感染をおこしたものを SS とした)。また、81% で二次感染が見られなかった。SS の事例は、古くは 1902 年から 1909 年にかけて 51 人に腸チフスを感染させたニューヨークの料理人「メアリー・マローン」の不顕性感染の事例がある。

香港大学の Cowling と Leung らの報告<sup>5)</sup>によれば、2020 年 1 月 23 日から 4 月 28 日までに香港での 1,038 例の SARS-CoV-2 感染者の接触者追跡により、地域のクラスター全てを同定し明らかにした。その結果、51.3% (533/1,038) の SARS-CoV-2 感染例は少なくとも 137 例のクラスターのうちの 1 つと関連があった。クラスターの大きさの中央値は 2 であり、最も多いものは 106 例であった。最も大きなものはバーで発生した 106 例で、ついで結婚式の 22 例、寺院での 19 例であった。発症間隔の中央値は 4 日であり、推定再生産数  $R=0.58$

(95%CI, 0.45-0.72)であり、k 値は 0.43 (95%CI, 0.29-0.67)であった。われわれは、4-7 の SSEs を 51 のクラスター(症例数は 309 例)から同定し、19% (95%CI, 15-24%)の感染者が 80%の地域の感染伝播をしていたと推測した。また、69%で二次感染はなかった。年齢を調整すると、感染伝播は家庭内より社会でのほうがより二次感染を生じていた (P=0.002)。症状発現から感染確定までの遅延が減少することは、二次感染の減少に寄与していなかった (P=0.98)。しかし、感染者個人が隔離されることによる感染の阻止効果は 14.4 (95% CI, 1.9-107.2)であった。公衆衛生の当局は、迅速な接触者の追跡と隔離をさせることや、SSEs のリスクを下げ、SARS-CoV-2 の伝播を阻止するよう、社会的な状況に対する制限をおこなうことが重要である。

#### 文献

- 1) Leibrand H, et al. High SARS-CoV-2 attack rate following exposure at a choir practice-Skagit County, Washington, March 2020. MMWR 69(19):606-10, 2020
- 2) <https://www.livescience.com/coronavirus-superspreader-south-korea-church.html>
- 3) Stewart RJ, et al. SARS-CoV-2 transmission and infection among attendees of an overnight camp-Georgia, June 2020. MMWR 69(31):1023-25, 2020
- 4) <https://www.afpbb.com/articles/-/3305386>
- 5) Cowling BJ, et al. Clustering and superspreading potential of SARS-CoV-2 infections in Hong Kong. Nat. Med. 2020. doi: 10.1038/s41591-020-1092-0
- 6) Xu XK, et al. Reconstruction of transmission pairs for novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) in mainland of China: estimation of super-spreading events, serial interval and hazard of infection. Clin. Infect. Dis. 2020 doi:10.1093/cid/ciaa790
- 7) Miller D, et al. Full genome viral sequences inform patterns of SARS-CoV-2 spread into and within Israel. MedRxiv (pre-print) doi:10.1101/2020.05.21.20104521
- 8) CDC. Severe acute respiratory syndrome-Shingapore, 2003  
MMWR 52(18):405-11, 2003

## 1 5 ヒトとマウスの脳における SARS-CoV-2 の神経浸潤

イエール大学の岩崎明子教授らのグループ<sup>1)</sup>は、SARS-CoV-2 の神経浸潤について実験的な検討を行った。

COVID-19 患者では、意識障害や頭痛といった中枢神経障害があることが知られており、剖検例では脳組織から RNA 転写産物が、嗅球の血管内皮細胞ではウイルスタンパクが確認されている。しかし、SARS-CoV-2 が中枢神経系(CNS)で神経細胞に感染するかはわかっていない。ウイルスの侵入経路を可及的に理解することは、長期予後を解明し、その中枢神経への影響を予見しているわれわれにとって重要な意味を持つ。感染者の一部にしか中枢神経への浸潤がないこと、CNS 組織を直接検査する手立てがないこと、脳内でのウイルスの直接浸潤とウイルス血症とを区別することが困難なことなどにより、COVID-19 の神経疾患を系統立てて研究するのは難しい。そのため、中枢神経病理の問いに答えるような信頼できるモデルシステムが必要になる。そこで、ジカウイルス研究でのヒト脳のオルガノイドモデルを用いることで、CNS における SARS-CoV-2 の感染能力を確かめた。また、scRNA-seq 法によりウイルスに感染した細胞の転写の変化を明らかにした。SARS-CoV-2 の神経浸潤には ACE2 が主たる浸潤経路なのかは明らかになっていない。また、ACE2 とともに必要な TMPRSS2, Neuropilin-1 などが神経細胞にも必要なのかも不明である。そこで、転写プロファイリングと阻止抗体を用いて ACE2 と SARS-CoV-2 の S タンパクの神経感染への必要性を検討した。これらの所見が、生体でも認められるかを検討するために、神経浸潤能のある SARS-CoV-2 を用いたマウスモデルを用いて、感染領域の血管の再構築（血管そのものへの感染はない）を観察した。最後に、剖検例の脳組織を用いて SARS-CoV-2 の感染を証明し、ウイルス感染と虚血性梗塞が限局した領域で起こることを示した。

### 結 果

- 1) ヒト脳オルガノイドを用いた SARS-CoV-2 の神経浸潤と細胞死の再現  
健康ヒトより樹立した人工多能性幹細胞(hiPSC)の Y1 と Y6 を用いて、前脳特異的神経幹細胞(hNPCs)を樹立した。さらに細胞死をみるために TUNEL 染色をおこない、hiPSC 由来の脳オルガノイドを作製した。感

染実験では、SARS-CoV-2 は MAP2 陽性の成熟神経細胞に認められた。また、同時に神経細胞の周辺で二極性の構造をとる SOX2 陽性細胞である神経幹細胞での感染も認めた。感染細胞は、オルガノイドの周辺部分に多く、ウイルスは電子顕微鏡でも確認され、ER 様の構造体から発芽する様子も捉えられた。これらの結果から、ウイルスは神経細胞で複製が行えることがわかった。オルガノイドへの浸潤は、広範囲の細胞死につながったが、TUNEL 陽性細胞は SARS-CoV-2 陰性が大半であった。細胞死が多いほど、SARS-CoV-2 陽性率が高くなったが、感染細胞はあきらかに死滅していなかった。これらのことより、神経細胞にウイルスは感染でき、その周囲で細胞死を誘発しているものと考えられた。

## 2) ヒト脳オルガノイドにおける単一細胞遺伝子発現プロファイリング

脳オルガノイドに多様な細胞があり、あるものは SARS-CoV-2 に感受性があり、その他は細胞死になることから神経浸潤の指向性とその結果を解明する理想的なモデルと考えられた。scRNA-seq を行うために、背側皮質マーカーである CTIP2, PAX6, TBR1 の染色を追加した。その結果、感染細胞は、CTIP2 陽性で PAX6 陰性細胞か、CTIP2/TBR1 同時陽性、PAX6 陰性であることがわかった。これは、神経細胞でも深層(layer 5/6)に分化する細胞である。感染前後でのプロファイリングの変化を検討したところ、SARS-CoV-2 の転写産物は広範囲の細胞クラスターで確認され、SARS-CoV-2 は神経細胞、放射状グリア、神経原細胞などに感染できると考えられた。クラスターごとの解析結果は、TUNEL の結果 (SARS-CoV-2 感染細胞と細胞死の細胞とは別) と一致した。次に、ジカウイルスとの比較を行ったところ、発現様式が重なるものはほとんどなく、SARS-CoV-2 では細胞分裂、オルガネラ開裂、代謝過程に関するものが亢進しているのに対し、ジカウイルスでは、I型インターフェロンに関する経路が亢進していた。次に、オルガノイド感染における細胞レベルでの検討を行った。SARS-CoV-2 感染細胞では、ウイルス転写関連の遺伝子が豊富であり、代謝経路である、電子伝達経路 (陽子伝達)、チトクローム c を酸素に運ぶ経路、NADH をユビキノンに運ぶ経路が亢進していたが、陰性細胞では、ミトコンドリア分解状態とともにアルコール代謝、コレステロール合成、細胞死などが亢進していた。これらの結



果は、感染細胞が酸素飽和状態であり、近傍細胞では低酸素状態であることを示す。代謝亢進状態は SARS-CoV-2 感染細胞で特徴的なことであり、宿主の神経細胞を乗っ取り、複製していることを示している。最後に、SARS-CoV-2 感染により、HIF1 $\alpha$  染色でわかるように局所的な低酸素状態が誘導されていることが明らかになった。

3) 宿主の ACE2 が神経細胞の感染には必要

SARS-CoV-2 の神経浸潤での議論としては、CNS における ACE2 の mRNA の発現レベルが低いことが挙げられる。確かに、我々の scRNA-seq の検討でも ACE2 の発現は低かったものの、細胞クラスターでは検出可能であった。また、感染細胞の割合と、ACE2, TMPRSS2, Neuropilin-1 の発現とは相関がなかったが、ACE2 蛋白の細胞表面での発現の可能性は残される。これを支持する所見として、ACE2 蛋白の発現は、オルガノイドのチューブ状細胞の MAP-2 陽性ニューロンで見られたので、蛋白発現と mRNA レベルが相関しない可能性がある。加えて、剖検脳での検討で、皮質灰白質のニューロンでは ACE2 の発現が見られた。ニューロン感染での ACE2 の必要性を見るために、オルガノイドを抗 ACE2 抗体処理したところ、SARS-CoV-2 の感染が抑制されたので脳オルガノイドでの感染には ACE2 が必要であることを示している。

次に、脳脊髄液(CSF)に液性抗体が存在し、神経への感染を阻害するかどうかを検討した。その結果、感染した患者の CSF 中には S 蛋白に特異的な IgG 抗体が存在し、中和活性を持っていた。また、この抗体は、オルガノイドへの SARS-CoV-2 の感染を阻害した。

4) COVID-19 のマウスモデルにより SARS-CoV-2 の神経浸潤能を確認

生体での神経浸潤能を検討するために、K18 プロモーターを持ちヒト ACE2 を発現するトランスジェニックマウスを用いて実験を行った。SARS-CoV-2 の経鼻腔投与により、脳内のウイルス量が増加することが確認された。核カプシドに対する抗体を用いて感染 7 日目の脳内の局在を検討したところ、前脳全域に広範囲に存在し、皮質は不均一に感染していた。ウイルスは、筒状・斑状に感覚野で見られたのに対し、第 4 野では感染がなかった。感染細胞の密度を検討したところ、多くの脳領域

で濃度が高かったが唯一の例外は小脳であった。歯状回、淡蒼球、皮質第4層では密度が低かった。全体の脳で血管内皮細胞での発現はなかった。神経細胞への感染による、血管系への影響を見るために、核カプシド蛋白と CD31, Podocalyxin を重染色して検討した。皮質での血管に注目して、感染細胞と、血管内皮細胞の密度を検討した。その結果、正常な血管構築の破綻が皮質で認められ、上層での放射状血管で顕著であった。このことは、脳細胞への感染により、血管構築が改変され、正常な血流が代謝の活発な領域に取られてしまうことを示唆した。

SARS-CoV-2 の脳内感染と肺感染の予後を検討するために、アデノウイルス関連ベクター(AAV-hACE2)を経気管的ないしは脳槽経由で投与した。その後、SARS-CoV-2 を経鼻ないしは経脳室的に感染させた結果、経鼻感染したマウスは肺炎を併発したが体重減少や死亡することはなかった。しかし、経脳室感染したマウスは体重減少をきたし、死亡した。これはウイルス投与を 100 分の 1 にしても同じ結果だった。これによっても、脳でのウイルス複製がおこり、予後にも影響することが明らかとなった。

#### 5) COVID-19 患者剖検脳での SARS-CoV-2 の神経浸潤の証拠

COVID-19 患者で脳浸潤があるかどうかを、重症 COVID-19 で死亡した患者の脳組織を用いて検討した。その結果、COVID-19 患者の脳組織では、程度こそ違うものの明らかな SARS-CoV-2 の S 蛋白の発現が確認された。神経病理学的な検討では、陽性細胞は、皮質ニューロンや近傍の血管内皮細胞で見られた。重症広範囲脳症の患者では、MRI でも多発微小出血部位がみられたが、組織学的には多発する虚血性梗塞が皮質下白質で出血も伴って確認された。梗塞病変では組織の破壊と、限局性の細胞死が認められ、感染細胞は梗塞巣周辺により多く認められた。超急性期にはウイルス感染細胞は血管内皮細胞にも認められた。このような梗塞巣は皮質下白質（皮質ではなく）により多く認められた。他の検体では、ウイルス感染細胞は局所の虚血部位でも認めた。重要な点は、このような感染細胞の周囲にはリンパ球や好中球の浸潤が見られなかったことである。これは、ジカウイルス、狂犬病ウイルス、ヘルペスウイルスなどの脳症でみられる多くの免疫細胞の浸潤所見（T 細胞を含む）と異

なっており、SARS-CoV-2 は神経指向性があり感染もするが、免疫反応を起こさないことが示唆された。

## 考 察

今回の検討で、マウス並びにヒトにおいて SARS-CoV-2 の神経組織に感染することやその結果について明らかになった。COVID-19 における神経症状は、ウイルスの神経細胞への直接浸潤によることを示唆している。また、感染により、脳オルガノイドにおいて神経細胞死が確認された。これは、電子顕微鏡でも明らかであった。オルガノイドでの細胞死は、しかしながらウイルス感染細胞とかならずしも一致していなかった。scRNA-seq では、感染したオルガノイドでは、神経細胞の代謝の変化がみられたが、インターフェロンやそれによって刺激された遺伝子(ISG)がみられなかった。このことから、SARS-CoV-2 感染は他のジカウイルス感染とも異なり特異的であった。さらに精査すると、感染細胞の影響が近傍に及び、微小環境の変化が起きていることが示唆された。すなわち低酸素状況が組織の障害につながっている可能性がある。

ACE2 は少なくとも蛋白レベルでは発現しており、SARS-CoV-2 のオルガノイドへの感染に際し、機能的に必要であった。また、COVID-19 患者の CSF 中には抗体が存在していた。脳組織での ISG の誘導や炎症細胞の浸潤は認められなかったが、細胞死が起きていることを考慮すると、炎症反応の存在は否定できない。神経細胞の死によって下流の炎症反応が CNS でも起きる可能性はある。

マウスモデルを用いて、われわれは初めて SARS-CoV-2 の神経浸潤による脳血管の改変が起こり、オルガノイドや患者の脳でみられたような虚血がおきることを示した。

微小血栓を伴わない急性脳虚血の報告が COVID-19 患者の剖検例で報告されているが、それと同様に、虚血による組織障害と微小梗塞が COVID-19 患者の剖検例で明らかになった。神経浸潤と脳虚血を明確に関連づけることはできないが、仮説として、SARS-CoV-2 の神経浸潤により局所での低酸素状態が作られ、血管系の乱れによる脳血管の破綻が虚血性梗塞の原因となり、さらにウイルス感染をきたしやすくなると考えられる。脳オルガノイドはこれらをあきらかにするのに有用なモデルであった。

将来的な研究として、脳への侵入経路やその結果としての感染細胞を明らかにすることで、SARS-CoV-2 と虚血性梗塞の関連を明らかにすることができる

であろう。CNS への感染は鼻中隔、嗅球上皮細胞経由、あるいはウイルス血症であるかもしれないが、呼吸器にも増して、脳は感染高リスクの臓器と考えるべきであろう。

まとめとして、われわれの研究は、神経細胞が SARS-CoV-2 の標的になりうることを示した。またその結果、破滅的な結果である脳局所の虚血と細胞死が誘導された。この事実により、SARS-COV-2 の神経指向性や、神経障害を持つ患者の治療への合理的なアプローチが明らかになった。

#### 文献

- 1) Song E, et al. Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain.  
BioRxiv (Pre-print) 2020 doi: 10.1101/2020.06.25.169946

## 1 6 COVID-19 から回復した競技選手の心臓核磁気共鳴所見

先日、全米大学フットボールカンファレンスのうち、ビッグ 10 が秋季リーグを行うことを決定しました。米国でも大学生の COVID-19 感染が問題となっており、とくに競技選手への影響が懸念されていたので一旦は延期となっていたのですが、トランプ大統領の圧力により再開することになったのです。今回、ビッグ 10 の 1 つであるオハイオ州立大学のグループより心臓 MRI に関する興味深い報告があったので紹介します。

心筋炎は競技選手の突然死の原因となり、心室機能が正常であっても起こりうる。無症状あるいは軽症の COVID-19 回復患者での心臓の炎症が関心を呼んでいる。今回、心臓核磁気共鳴(CMR)をもちいて COVID-19 から回復した競技選手の画像検査をおこない、競技に復帰するに際してのリスクを検討した。

2020 年 6 月から 8 月までに COVID-19 陽性となったオハイオ州立大学の 26 名の競技選手[平均年齢 19.5 歳(SD:1.5)、男性 15 名(57.7%)、競技種目はフットボール、サッカー、ラグロス、バスケットボール、トラック]に対し、CMR 画像検査[cine, T1 と T2, 細胞外容積分画 (EVF), 後期ガドリニウム増強 (LGE) by 1.5-T scanner (Magnetom Sola; Siemens Healthineers)]をおこなった(隔離から 11-53 日後)。入院を要した選手はおらず、12 名(26.9%)は軽症(咽頭痛、息切れ、筋肉痛、発熱の症状)であり、他は無症状であった。心電図上の変化を認めたものはなく、心室容積と機能は正常範囲内であった。血液検査ではトロポニン I の上昇はなかった。4 名(15%)の選手で CMR 画像所見上心筋炎と考えられる 2 つの所見があった(①心筋浮腫: T2 信号の増強、②心筋障害: 非虚血性 LGE)。また、心筋炎を示唆する心嚢液貯留を 2 名に認めた。これら 4 例の心臓の炎症所見を認めたもののうち、2 名が軽症例(息切れ)であり、他の 2 名は無症状であった。12 名(46%)が LGE を認め(心筋障害を示唆)、8 名は T2 の増強がなかった(心筋障害の既往を示唆)。心筋炎を疑われた選手の平均(SD)T2 は 59(3)であったのに対し、所見がなかった選手の T2 は 51(2)であった。

COVID-19 関連の心筋障害については、CMR 画像の報告がなされており、軽症例であっても心筋障害の存在が示唆されている。また、この検査は偽陰性例が少ないことから競技選手におけるハイリスク群を同定するのに有用であると考えられる。専門家の見解では、競技選手は感染から二週間の回復期を経て無

症状であれば検査は必要なく、軽症例では心電図と経胸エコー検査をおこない異常なければ競技に復帰して良いとしているが、最近の情報や CMR 画像の事実からはこれに疑問の声もある。CMR での心筋炎の存在は心不全や心臓死にもつながり予後不良とされる。健康時のデータがないので結論的なことはいえないが、心筋炎所見の選手の T2 時間は、そうでない選手と比較して延長していた。また、42%に LGE 所見を認めたことは、健常人より高い頻度である。長期の経過観察と健常人でのデータが必要であるが、CMR 画像検査は COVID-19 から回復した競技選手のリスク判定に有用であろう。

なお、今回のアメリカンフットボール競技（ビッグ 10）再開の医療プロトコールは以下のようにになっている。

- 1) 学生選手、コーチ、トレーナー、その他すべての練習や試合でフィールドに出ている個人に、毎日、抗原検査を受けることを義務付ける。
- 2) COVID-19陽性となった選手は全員、バイオマーカー、心電図、心エコー図、心臓MRIを含む包括的な心臓検査を義務付ける。選手が試合に復帰できるのは、COVID-19陽性と診断されてから最短で21日後となる。
- 3) チーム活動の制限には、過去1週間のチーム陽性率と母集団陽性率の2つの指標を用いる。

・チーム陽性率（陽性検査数を総検査数で割ったもの）。

0～2%：緑、2～5%：オレンジ、5%以上：赤

・母集団陽性率（陽性者の数をリスクのある総人口で割ったもの）。

0～3.5%：緑、3.5～7.5%：オレンジ、7.5%以上：赤

二つの指標が 緑・緑もしくは緑・オレンジであれば、通常の練習や試合が可能。オレンジ・オレンジもしくはオレンジ・赤であれば、練習とミーティングのスケジュールを変更。試合が可能かどうかを検討する。赤・赤であれば、最低7日間は通常の練習や試合は中止となる。

#### 文献

- 1) Rajpal S, et al. Cardiovascular magnetic resonance findings in competitive athletes recovering from COVID-19 infection. JAMA Cardiol. 2020  
doi: 10.1001/jamacardio.2020.4916

COVID-19NR16 2020/09/26 川崎高津診療所

## 1.7 保育施設に関連する COVID-19 感染爆発の伝播様式

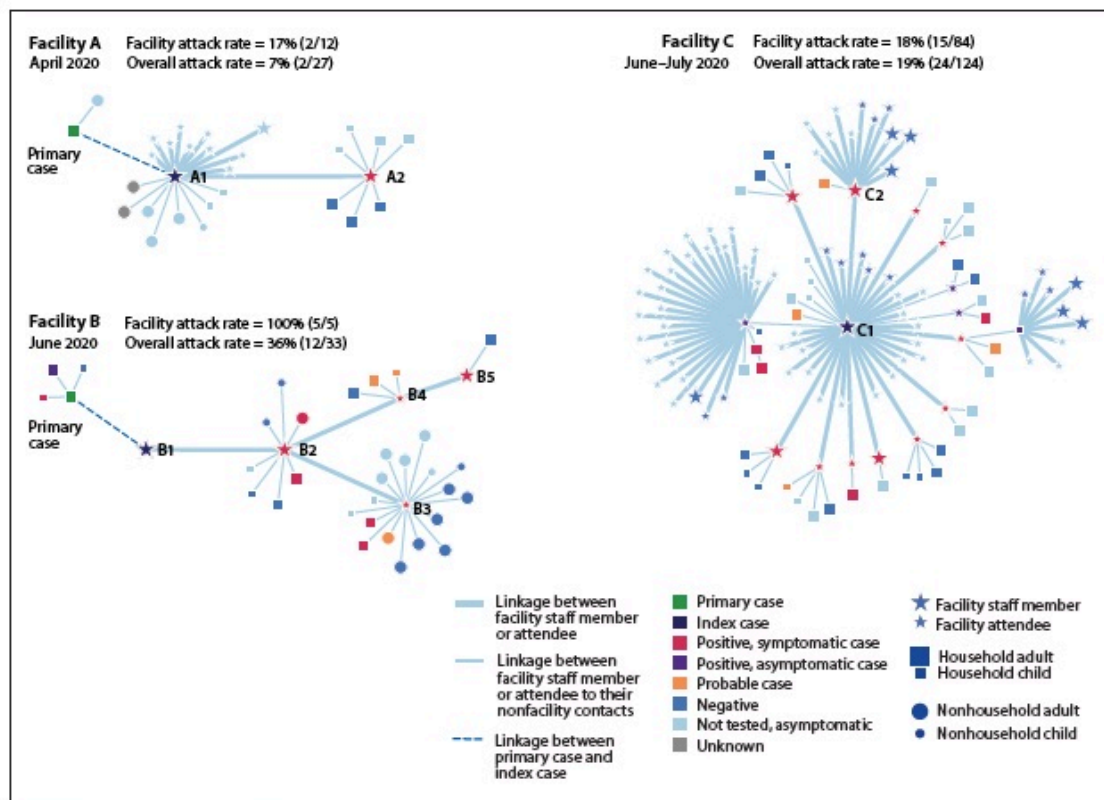
2020年4月から7月に米国ユタ州ソルトレーク市で発生した保育施設に関連する小児の COVID-19 爆発的感染拡大（14日以内に同一施設でスタッフないしは利用者の中で2名以上の感染が確認された場合）について、CDCの Tranらのチーム<sup>1)</sup>は、接触追跡を通して罹患率と伝播様式について解析した（図1）。

184名の追跡者のうち110例(60%)が小児(18歳未満、年齢の中央値7歳、幅0.2-16歳)であり、3ヶ所の保育施設(A,B,C)でクラスターが発生した。これらのうち、31例が COVID-19 と確定診断され、13例(42%)が小児であった。保育施設関連の小児の感染者12例の症状は軽症(9例)ないしは無症状(3例)であった。これらの小児からの感染83例のうち、46例(55%)が施設以外での接触によるものであり、1名の親が入院治療を要した。3名のうち2名の無症状の小児からの二次感染が確認された。小児は、保育施設から家での感染に関与することが明らかになった。

SARS-CoV-2の検査と、時期を逸しない結果の確認、濃厚接触者（COVID-19感染者との距離が6 feet以内の接触を少なくとも15分、感染者の発症2日以内）の検査により、症状の有無にかかわらず感染の伝播が予防できる。CDCは、マスクの着用（とくにスタッフ、小児がマスクをつけられない時）と手指衛生、体調不良時には家に滞在することを SARS-CoV-2 感染伝播の予防策として指導している。

### 文献

- 1) Lopez AS, et al. Transmission dynamics of COVID-19 outbreaks associated with child care facilities-Salt Lake City, Utah, April-July 2020. MMWR 69(37): 1319-23, 2020



Abbreviation: COVID-19 = coronavirus disease 2019.  
 \* Transmission chains developed using Microbe Trace software. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.07.22.216275v1>.  
 † Facility attack rates include index cases and all facility staff members and attendees.  
 ‡ Overall attack rates include all facility staff members and attendees (including the index case) and nonfacility contacts (household and nonhousehold). It does not include the primary case or the cases linked to the primary case.  
 ¶ A confirmed case was defined as a positive SARS-CoV-2 reverse transcription–polymerase chain reaction test result. A probable case was an illness with symptoms consistent with COVID-19 and linked to the outbreak but without laboratory testing.  
 \*\* The index case was defined as the earliest confirmed case in a person at the child care facility.  
 †† A primary case was defined as the earliest confirmed case linked to the outbreak.

図1 保育施設での COVID-19 感染爆発における伝播形式と罹患率



## 1 8 急性期 COVID-19 における SARS-CoV-2 に対する抗原特異的獲得免疫は年齢と疾患の重症度に関連する

米国カリフォルニア州ラ・ホーラ免疫学研究所・カリフォルニア大学サンディエゴ校の Crotty らのグループ<sup>1)</sup>は、SARS-CoV-2 に対する獲得免疫のうち、抗体を産生する B 細胞、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞の 3 つの視点から COVID-19 の免疫反応を捉えることを目的とした。

対象は、54 例の COVID-19 患者（24 例は急性期）で重症度は軽症から重篤例までが含まれ、発症から検体採取までは 4 日から 37 日であった。対照群は健康者 15 例であり、SARS-CoV-2 特異的抗体、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞を種々の方法で定量化した。

### 結 果

#### 1) SARS-CoV-2 特異的抗体の反応

S タンパクの RBD 領域は他のコロナウイルスと比べると変異があり、中和抗体の標的となっている。そこで、SARS-CoV-2 の RBD IgG, IgM, IgA の力価を測定した。その結果ほとんどの例で（24/28 急性, 15/15 回復期）で RBD IgG が検出されたが、28%では低かった。また、RBD IgA は同様に恒常的に検出されたのに対し、IgM の頻度は低かった。次に、S タンパク全長に対する IgG, IgM, IgA の力価を測定した。その結果、S タンパクの IgG, IgA はほとんどの例で急激に反応が見られた（IgG:25/28 急性, 15/15 回復期; IgA:27/28 急性, 14/15 回復期）。IgM の頻度は RBD 同様低かった。S タンパクの IgG と IgA は RBD の IgG と IgA の力価と相関した。次に、診断で用いられている核カプシドタンパクに対する Ig 力価を測定した。その結果、IgG と IgA はほとんどの例で検出されたが、IgM の頻度が低かった。IgG と IgA の力価は S タンパクと核カプシドで相関した。次に機能的抗体について、中和活性を調べた。生ウイルスと偽ウイルス(PSV)での結果は相関したので、PSV での結果を検討した。SARS-CoV-2 の中和抗体はほとんどの例(25/28 急性, 14/15 回復期)で検出可能であった。また、中和抗体の力価は RBD の IgG, IgA と相関したことから、RBD が標的であることがわかった。

#### 2) SARS-CoV-2 特異的 CD4+T 細胞の反応

CD4+T 細胞は、SARS-CoV-2 ペプチドプールで刺激された抗原特異的細胞を、TCR 刺激によって誘導されたマーカーをもとに、サイトカインに依存しないで定量化する方法(AIM-FC, 表面 CD40L+OX40+)によって調べた。その結果、SARS-CoV-2 特異的 CD4+T 細胞は、ほとんどの回復期検体(14/15)で検出された。この結果は、前回のわれわれの報告と一致するものであった。しかし、急性期の検体では 77%でしか検出されなかった(23/30)。まとめると、十分な反応をする CD4+T 細胞は、急性期の 50%(15/30)、93%の回復期(14/15, >0.1% SARS-CoV-2 特異的 combined CD4+細胞)で検出された。INF  $\gamma$ , IL-2 は急性期、回復期両者の細胞で同定されたが、ペプチド刺激の上清からも検出された。

### 3) SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞の反応

SARS-CoV-2 特異的 CD8+の検出には、ペプチドプールによる試験管内刺激と AIM-FC(表面 CD69+CD137/4-1BB+)で行った。その結果、S (Spike), N (Nucleocapsid), M (Membrane), および MP\_R (Megapool of Peptide Representing the top predicted HLA class II epitopes outside of S)に特異的な CD8+が 87% (13/15, >0.1% combined AIM+CD8+T 細胞) の回復期例で検出されたが、急性期では 53%(16/30)に過ぎなかった。多くの場合、INF  $\gamma$ +CD8+T が検出され、これらの細胞は granzyme B, TNF  $\alpha$  を発現していたが、IL-10 は発現していなかった。

### 4) 獲得免疫反応と COVID-19 の重症度

SARS-CoV-2 抗原特異的抗体、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞はそれぞれ正の相関関係があった(p<0.0001)。特異抗原の経時的な変化をみると、重症の C81 患者では、22 病日(d22 PSO)に測定限界の抗体しかなかったが、d32 には抗体価の上昇があり、これは他の症例より 3 週間も遅かった。また、CD4+T と CD8+T は d22 の時点で 0.1%であった。C97 も重症であったが、d13 までは CD4+T と CD8+T が検出されなかった。このように、重症例では、抗体価の上昇は一定の傾向がなく、多くの場合 CD4+T と CD8+T が検出されなかった。抗体の出現が重症度と関連しなかったため、この場合は、他の受動免疫が重要と思われた。また、CD4+T と CD8+T はより軽症例で検出され、抗体がまったく上昇しないにもかかわらず軽症な例では、CD4+T と CD8+T が検出されたことから、T 細胞による免疫が重要と考えられた。以上の結果から、免疫反応にはいろいろな

場合が考えられたので、以下の 2 つの検討を行った。1 つは、より単純化した受動免疫の解析(ADIM)であり、もう 1 つは、抗原特異的な広範囲の補正マトリックス解析である。ADIM では、3 つの免疫がない場合を 0 とし、1 つある場合は 2、2 つある場合は 3、3 つすべての場合を 4 とした。その結果、すべての場合が存在し、急性期の 35%と入院なしの 73%が ADIM3 に適合した。受動免疫が弱い場合は、より重篤な COVID-19 の病態であった( $p=0.007$ , ADIM0&1 vs. ADIM 2&3)。したがって、より広い受動免疫は、COVID-19 の重症化を防いでいると考えられた。

次に、より広範囲の解析では、抗原特異的なものも含め 111 の項目を検討し、同時に一般的な免疫応答細胞、プラズマサイトカイン、年齢、合併症、COVID-19 の重症度も同時に検討した。それらをヒートマップにプロットし (correlograms) 解析したところ、急性期に限ると CD4+T 反応特異的なもの (e.g. S, N, M, MP\_R) と機能的なもの (e.g.  $INF\ \gamma$ ,  $T_{FH}$ ) は階層構造クラスターを形成し、有意な相関関係にあったことから、急性期では CD4+T の反応が恒常的であると考えられ、CD8+T も同様であった。抗原特異的な T 細胞と SARS-CoV-2 抗体に絞って解析するために、抗原特異的な計測と、これまでに発表した免疫学的な手法を用いた。代理マーカーを用いて解析したが、抗原特異的な階層構造のクラスターは形成されなかった。しかしながら、活性化 CD8+T と SARS-CoV-2 特異的な CD8+T は合理的な相関関係を示した ( $r=0.55$ ,  $p=0.0002$ )。SARS-CoV-2 特異的な CD4+T と抗体はより限定的な相関を示した。代理マーカーによる結果は SARS-CoV-2 特異的 T 細胞や抗体の直接計測に及ばなかった。

5) 高齢者では受動免疫が協調せず、ナイーブな CD4+や CD8+細胞が少ない 年齢は、COVID-19 の重症度と相関した( $p=0.0002$ )が、これは広く認められている。注目すべきことに、抗原特異的な SARS-CoV-2 免疫反応と年齢との相関があった。そこで、免疫的な関係同士を高年齢急性期患者で検討した。その結果、SARS-CoV-2 の受動免疫反応は 65 歳以上ではそれより若い人と比べてバラバラであった。ナイーブ CD4+と CD8+は年齢と負の相関があり、COVID-19 のピーク時の重症度とも負の相関があった。CD4+に関しては急性期では相関があったが、全症例を加えると相関が消失した。このことから、少ない CD8+T は COVID-19 の重症化のリスクファクターと考えられた。

## 6) COVID-19 の重症度と抗原特異的免疫反応の強い関係

これらの結果から、どの抗原特異的な免疫反応が COVID-19 の重症度ともっとも関連があるのかを検討した。その結果、急性期で重症度の軽いものとは INF $\gamma$ -産生 CD8+T が相関していた (INF $\gamma$  ICS  $r=-0.80$ ,  $p=0.005$ 、INF $\gamma$  分泌  $r=-0.63$ ,  $p=0.002$ )。全症例で見ると、SARS-CoV-2 特異的 CD8+T 細胞であった( $r=-0.43$ ,  $p=0.002$ )。また、SARS-CoV-2 特異的 cT<sub>FH</sub> でも認められた。注目すべきことに、スパイク特異的 CSCR3-CCR6+CD4+T 細胞とスパイク特異的 CSCR3-CCR6+cT<sub>FH</sub> は低い重症度と相関していた( $r=-0.57$ ,  $p=0.0001$ )。IL-17 $\alpha$  は一般的には認められず、IL-22 は認められたが重症度と相関はなかった。これらのことから、CD4+T による CCR6 の発現は、肺への集積の結果であると考えられた。統計学的に有意な特異抗体と重症度とは相関がなかった。これらのことより、SARS-CoV-2 特異的 T 細胞の強い発現が COVID-19 の低い重症度と関連していた。

## 考 察

今回の急性期の COVID-19 患者の抗原特異的な抗体と T 細胞の結果から、1) 獲得免疫反応が COVID-19 の重症度に歯止めをかける、2) 抗体、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞の協調した反応が個々の反応よりよく、とくに SARS-CoV-2 特異的 CD4+T 細胞が COVID-19 の低い重症度に関連している、3) CXCL10 は T 細胞の反応が障害された際の血清マーカーであろう、4) 加齢とナイーブ T 細胞の欠乏が重症な COVID-19 にかかりやすくなる、などの点が明らかになった。これらの発見は、COVID-19 の免疫機構と病理を理解する上で、またワクチン開発において重要である。

今回、中和抗体価で重症度が減少することの予想はできなかった。その代わりに、広範囲の協調した獲得免疫反応が低い重症度と関連があった。逆に言うと、こういった反応がない、または少ないと重症度が増すことになる。SARS-CoV-2 に特異的な CD4+T 細胞は、免疫の防御的な反応と関連していた。お互いに補い合う働きが中和抗体、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞の間にある。CD4+や CD8+T 細胞は、急性期の感染をコントロールし、消失させるのに重要である。加えて、T<sub>FH</sub> 細胞は、多くの IgG 反応や高度の中和抗体の産生に必須である。これらの反応は、ワクシニアウイルスやポックスウイルス感染でも見られる。

ナイーブ T 細胞が見られないことは、COVID-19 が重症化する際の免疫学的

リスクとなる。高齢者でナイーブ T 細胞が少ないことは、重症 COVID-19 のリスクを悪化させる。なぜなら、初期の自然免疫が SARS-COV-2 によって阻害されると、T 細胞のプライミングも阻害されるからである。さらに肺内では、加齢によって特異的な抗原提示細胞が減少している可能性もある。ナイーブ T 細胞が減少していることは、リンパ球減少、重症者でみられる全体的な T 細胞の減少などによって増悪する。

獲得免疫は、免疫病理学的な原因になる可能性がある。病的な獲得免疫が COVID-19 の免疫病理に関与している明確な証拠はない。入院 COVID-19 患者では、CD4+T 細胞を歪めるような TH2 や TH17 サイトカインを持っていなかった。また、CD8+T 細胞に反応するサイトカインのプロファイルは入院患者とそうでない患者とで差がなかった。今回の結果から、重症患者では、獲得免疫反応は遅延し、ばらばらになる。獲得免疫に関する知見により、不規則な自然免疫こそが COVID-19 の免疫病理学的な中心である。

ワクチン開発は主要な話題である。ワクチンは自然の感染における防衛的な免疫を直接真似る必要はないが、そこからの情報を得るべきである。現在進行している感染を制御することは予防することより挑戦的である。今回のデータから、中和抗体は急性期の COVID-19 を解決する役割はあるものの、統計的な相関は、SARS-CoV-2 特異的な CD4+ないしは CD8+T 細胞より抗体の方は少なかった。このことから、ワクチンのアプローチは、中和抗体のみならず SARS-CoV-2 に特異的な CD4+や CD8+T 細胞を誘導するようなものが、SARS-CoV-2 感染による COVID-19 で見られるような協調した獲得免疫反応を生むであろう。

#### 文献

- 1) Moderbacher CR, et al. Antigen-specific adaptive immunity to SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity. Cell 2020  
doi:10.1016/j.cell.2020.09.038

## 1 9 SARS-CoV-2 感染で入院した小児と成人の免疫応答

小児の SARS-CoV-2 での免疫応答の特徴を検討した、米国マウント・サイナイ医科大学の Herold らのグループの報告<sup>1)</sup>を紹介します。

小児や若年者では COVID-19 の症状は軽度で、ARDS のような重篤な肺障害を起こすことが成人に比べて少ないことがわかっている。中国における 2,143 名の小児の検討によれば、感染者 731 名のうち半数は軽症例であり、重篤な病状のものは 1%未満であった。したがって、COVID-19 の病状には年齢に依存した宿主の特徴が関与していると考えられる。しかし、小児であっても小児多臓器炎症症候群(MIS-C)と呼ばれる重篤例が 21 歳未満の若年層の一部で発症している。小児では軽症例が多いことやまれに MIS-C を起こす原因は明らかではないが、これまでの報告で、SARS-CoV で死亡した患者では血清 IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1 などが高値であることがわかっており、これらは ARDS の進行に伴っていた。また、中和抗体の反応は、回復者に比べてむしろ高値であった。これは、H1N12009 新型インフルエンザウイルスでも指摘されている。また、マカクを用いた研究では、SARS-CoV 感染において、S 蛋白に対する抗体は、炎症反応、すなわち単核球・マクロファージを肺に動員し、創傷治癒を妨げた。SARS により死亡した患者の血清により、単核球から IL-8 の産生が増加した。マクロファージの活性化は Fc $\gamma$ R 抗体の投与で阻害された。これらの免疫反応の仕組みを解明するために、今回 SARS-CoV-2 に感染し入院した小児と成人の免疫反応を検討した。

### 結 果

#### 1) 臨床経過は成人と小児とで異なる

2020 年 3 月 13 日から 5 月 17 日にニューヨーク・ブロンクス・モンテフィオーレ医療センターに入院した COVID-19 の患者で小児・若年者(年齢<24 歳, n=65)と成人例(年齢>24 歳, n=60)の背景と臨床所見、経過を比較した。成人では、より多くの糖尿病、高血圧患者が含まれた。成人例はより多くの例でヒドロキシクロロキンを投与されていたが、小児例では免疫グロブリン注射を受けていた。後者は、MIS-C 症例(n=10/20)で投与された。入院期間(LOS)は小児例 (MIS-C を含む) が成人例に比べて有意に(p<0.0001)短期間であった。22 例(37%)の成人例では人工呼吸器が必要だったが、小児では 5 例(8%)のみであった(p<0.0001)。

入院死亡は成人例 17 例(28%)に対し、小児では 2 例 (3%) であった( $p<0.0001$ )。死亡例の多く(86%)は 60-80 歳であった。

## 2) 患者グループ別の臨床所見と血清サイトカインの濃度

患者を以下の 5 群に分類した。 1) 小児例で急性症状(発熱、呼吸器・消化器症状)あるが人工呼吸器を必要としない(G1,  $n=41$ ,  $LOS=4.84\pm 5.36$  日,  $mean\pm SD$ ); 2) 小児の MIS-C 症例(G2,  $n=20$ ,  $LOS=8.1\pm 4.05$  日); 3) 成人で回復し人工呼吸器を必要としない(G3,  $n=33$ ,  $LOS=7.88\pm 6.84$  日); 4) 成人で人工呼吸器を装着ないしは死亡(G4,  $n=27$ ,  $LOS=37.50\pm 19.60$  日、ただし死亡例を除く); 5) MIS-C 例で人工呼吸器を使用(G5,  $n=4$ , 年齢 14, 18, 19, 22 歳, 2 例は死亡, 生存例の LOS は  $21.0\pm 9.90$  日)。Group2 は他の群と比べると有意に BMI が低かったが 1,3,4,5 群間では差がなかった。

白血球数をみると G1 は G2 と比較して有意に多かった( $p<0.01$ )。G1 はまた、CRP と D-dimer が G2 と比べて低かった。これはまた、成人と比較してもそうだった。D-dimer は人工呼吸器例で高かった( $p<0.05$ , G4 vs. G3)。LDH は G4 と比較して G1, G3 で高値であった。他の指標はグループ間で差がなかった。

ARDS に進展する成人の COVID-19 例では、血中の IL-17A や INF- $\gamma$  の値が高いことが報告されているが、小児での検討例はない。それを検討した結果、G1 は G2 と比較して、IL-6, TNF- $\alpha$ , IP-10 の値が低かった(それぞれ  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ,  $P<0.0001$ )。G4 と比べても同様であった( $p<0.0001$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ )。G3 の IL-6 は G4 と比べると有意に低値であった( $p<0.001$ )。逆に、IL-17A の値は、G3 と比べると G1 で高かった( $p<0.05$ )。また、G2 と G3, 4 と比べても同様であった( $p<0.0001$ ,  $p<0.01$ )。同様に、INF- $\gamma$  の値は、他の成人群と比べて G2 で高かった( $p<0.001$ ,  $p<0.01$ )。また、G1 と比べても同様であった( $p<0.001$ )。これらの結果は、年齢が血中 IL-17A, INF- $\gamma$  高値と関連があることを示唆するので血中サイトカインと年齢との相関を検討した。その結果、年齢と血中 IL-17A( $r=-0.50$ ,  $p<0.0001$ )および INF- $\gamma$  ( $r=-0.44$ ,  $p=0.0003$ )は負の相関を示した。しかし、IL-6, TNF, IP-10 にはそのような傾向はなかった。IL-17A の年齢との負の相関は、MIS-C 患者を除外しても見られた( $r=-0.38$ ,  $p<0.01$ )。

## 3) COVID-19 患者におけるウイルス S 蛋白に対する T 細胞の反応

末梢血単核細胞(PBMC)をウイルス S 蛋白で 24 時間刺激後に、細胞内のサイ

トカインおよび CD4+T 細胞上の CD25 の発現を検討した。PBMC は 22 名の患者より入院後  $40 \pm 9.6$  日で処理された (G1, n=6; G2, n=5; G3, n=8; G4, n=3 ; 健常者, n=6)。その結果、各群間で CD4+T 細胞の  $\text{INF-}\gamma$  の誘導率は異なった ( $p=0.04$ )。しかし、IL-17A+,  $\text{TNF}\alpha$ +, CD4+T 細胞ではそのようなことはなかった。また、CD25 の誘導でも違いが見られた ( $p=0.04$ )。CD4+T 細胞上の CD25 の発現は、G3 ( $p=0.0002$ ) と G4 ( $p=0.0059$ ) で見られたが、G1, G2 (小児例) では見られなかった。これらの結果から、成人例では小児例に比べて急峻な T 細胞反応が起こると考えられた。

#### 4) COVID-19 患者の免疫グロブリン反応

SARS-CoV-2 の S 蛋白に対する IgA と IgG 抗体を測定した (n=90)。全体的には、入院時からの時間と血中抗体価には相関が見られた (IgA:  $r=0.35$ ,  $p=0.0008$ ; IgG:  $r=0.24$ ,  $p=0.047$ ; IgG1:  $r=0.31$ ,  $p=0.01$ ; IgG3:  $r=0.24$ ,  $p=0.047$ )。

次に、IgG サブクラスの群間の違いを検討するために、IgG1/IgG3 比を 71 例で比較した。その結果、群間で相違が見られ、G1 ( $1.26 \pm 0.53$ ,  $p=0.0048$ )、G3 ( $1.81 \pm 1.4$ ,  $p=0.16$ )、G4 ( $1.48 \pm 1.12$ ,  $p=0.03$ ) と比較して G2 ( $2.70 \pm 1.3$ ) で高かった。次に、抗 S 蛋白 IgG の中和活性を群間で検討したところ、容量依存的に中和活性が見られたが群間での差が認められ、小児例 (G1, G2) の中和活性は成人例 (G3, G4) と比較して低かった ( $p=0.019$ , AUC)。中和活性は、年齢 ( $p=0.002$ ) と正の相関を示し、 $\text{INF}\gamma$  ( $p=0.032$ )、IL-17A ( $p=0.005$ ) と負の相関を示した。

次の検討項目として、抗体依存性細胞障害 (ADCC) と貪食 (ADCP) を検討した。その結果、ADCC には群間の差が認められなかったのに対し、ADCP に関しては COVID-19 患者の血清は、健康人と比較して増強していた ( $p<0.0001$ )。また、G1, G2 (小児例) を G3, G4 (成人例) とで比較すると有意に低かった ( $p<0.01$ )。この活性は、ACE2 抗体では阻害されず Fc 抗体で阻害されたことから、Fc 受容体を介するものと考えられた。

## 考 察

COVID-19 の臨床経過は年齢によって異なることが明らかになった。成人例で予後不良なのは、ウイルスに対して T 細胞を産生することや抗体を産生する能力が低いからではない。実際は、その逆で成人例での中和抗体価は高く、S 蛋白に対する ADCP や T 細胞の反応も小児例と比べて速やかであった。他のコ



コロナウイルスとの交差反応も年齢による差はなかったことから、小児が軽症であることの原因にはならないと考えられる。小児例で特徴的なことは、IL-17A や INF $\gamma$  の価が高いことで、これらの価は年齢との間に負の相関関係があった。この傾向は、IL-17A で顕著であった。すなわち、これを産生する細胞(CD4+T, CD8+T,  $\gamma$   $\delta$  T, NKT, 自然リンパ球, 好中球など)が、初期の肺における免疫的な防御に重要であると考えられた。年齢が増すことにより、これらの価が低下することは、自然免疫の低下が成人例での重篤化に関与していると考えられる。これは、同時に成人例での獲得免疫の暴走が病態を悪化させていると思われ、それには抗体や Fc 受容体、それにともなうサイトカインの放出や Fc を介した ADCP (ジカウイルスや SARS でも指摘されている) といったことが関与しているのであろう。

#### 文献

- 1) Pierce CA, et al. Immune response to SARS-COV-2 infection in hospitalized pediatric and adult patients. *Sci.Transl.Med.* 2020  
doi:10.1126/scitranslmed.abd5487(2020)

## 20 実生活の条件では SARS-CoV-2 の媒介物による感染リスクは低い

実際の生活現場では、物に付着したウイルスからの感染リスクは低いのではないかという、イタリア Pavia 大学 Mondelli らの報告<sup>1)</sup> (コレスポンドンス) を紹介します。

研究室という管理された条件下で行われた実験で、SARS-CoV-2 ウイルスが環境表面で何日間も存在しうることを示し、媒介物によるウイルス伝播の可能性を指摘した、米国国立アレルギー・感染症研究所の von Doremalen らの報告<sup>2)</sup>に対する、Emanuel Goldman (ニュージャージー州立医科大学) らのコメント<sup>3)</sup>に興味深く読んだ (この実験が、狭い範囲に多量のウイルスを接種して行った実験であることを指摘)。Goldman らは同時に、SARS-CoV-2 の感染力の実生活での研究、汚染された環境表面や患者の媒介物、とくに感染リスクの高い病棟などでの研究がないことを嘆いていた。病院環境での研究<sup>4)</sup>では、多くの表面は汚染されていたが、それらは空調の通気口、ベッドのレール、ベッドサイドのロッカー、まれにトイレなどであった。注目すべきことは、この環境表面の汚染は発病から 1 週間ほどで減少し、集中治療室(ICU)では検出されなかったことである。この Chia らの研究<sup>4)</sup>の限界は、SARS-CoV-2 の採取検体で培養検査を行わなかったことである。これによってウイルス RNA の存在が、感染力という観点から明らかになったかもしれない。

われわれは二つの一連の研究を行った<sup>5),6)</sup>。一つは、環境表面の汚染がどの程度及ぶかを北イタリアの基幹紹介病院の感染症病棟で検討したものであり、もう一つは一般病棟に比べて救急病棟や準集中治療室での汚染リスクが高いかどうかを検討したものである。通常の清掃が行われていた、いくつかの対象や表面から検体が採取された。その結果、一人の患者の持続的陽圧換気ヘルメットからのみ SARS-CoV-2 の RNA が検出された。さらに重要なことには、これは Vero E6 細胞を用いた培養ができなかったことであり、患者の媒介物や物質表面には複製ができる“生きた”ウイルスがいなかったのである。このことから、通常的生活条件では、環境汚染からの SARS-CoV-2 伝播は起きにくいと考えられるが、標準的な清掃や感染予防策は施行しての話である。また、これらの結果は Goldman らの指摘を支持するものであり、環境表面からのウイルス伝播は、

これまで考えられているより頻度は低いと思われる。

#### 文献

- 1) Mondelli MU, Colaneri M, Seminari EL, et al. Low risk of SARS-CoV-2 transmission by fomites in real-life conditions. *Lancet Infect Dis* 2020 doi:10.1016/S1473-3099(20)30678-2.
- 2) van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* 2020;382:1564-67.
- 3) Goldman E. Exaggerated risk of transmission of COVID-19 by fomites. *Lancet Infect Dis* 2020. doi:10.1016/S1473-3099(20)30561-2.
- 4) Chia PY, Coleman KK, Tan YK, et al. Detection of air and surface contamination by SARS-CoV-2 in hospital rooms of infected patients. *Nat Commun* 2020;11:2800.
- 5) Colaneri M, Seminiari E, Piralla A, et al. Lack of SARS-CoV-2 RNA environmental contamination in a tertiary referral hospital for infectious diseases in Northern Italy. *J Hosp Infect.* 2020;105:474-76
- 6) Colaneri M, Seminiari E, Novati S, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 RNA contamination of inanimate surfaces and virus viability in health care emergency unit. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26:1094.e1-e5.

## 2 1 重症 COVID-19 の主たる遺伝的リスク因子はネアンデルタール人から受け継いだ

ホモサピエンスとネアンデルタール人が交配して現代に至っていることを遺伝学的に証明したドイツマックスプランク研究所・沖縄科学技術大学院大学の Pääbo (ペーボ) と、スウェーデンカロリンスカ研究所の Zeberg らによる示唆に富んだ論文です。

これまでの研究で、重症 COVID-19 に関連する 2 つの遺伝子領域として、6 つの遺伝子を含んでいる第 3 染色体と ABO 式血液型を規定する第 9 染色体が明らかになっている。COVID-19 Host Genetics Initiative による最新の研究で、第 3 染色体が重症 COVID-19 (3,199 名の入院患者データによる) に関与する唯一の領域であるとのデータが公表された。この領域におけるリスク変異の入院を要するオッズ比は 1.6 (95%CI:1.42-1.79)であった。第 3 染色体の変異で最も重症 COVID-19 と関連がある領域は、すべて高い連鎖不平衡(LD)[すなわち集団の中で、互いに非常に強く関連しており( $r^2>0.98$ )、49.4kb に及んでいる]があった。この中心的なハプロタイプは、さらに長い 333.8kb のハプロタイプとでは弱い LD になった ( $r^2>0.32$ )。この長いハプロタイプの一部は 4 万年から 5 万年前に、ネアンデルタール人ないしはデニソバンより現在のわれわれの祖先の遺伝子に取り込まれた。重症化と関連するハプロタイプがネアンデルタール人ないしデニソバンから由来しているかを検討した。その結果、この重症化リスクハプロタイプは、3 つのネアンデルタール人ゲノムと共通しており、その中で最も近かったのは、*Vindija33.19* ネアンデルタールであった。

1000 ゲノムプロジェクトの結果からネアンデルタール由来のハプロタイプはアフリカ人では全く見られなかった。これは、ネアンデルタールからのアフリカ集団への遺伝子流入は限局的であり、おそらくは間接的であるという事実と一致した。ネアンデルタールの中心的なハプロタイプは南アジアでは 30%に認められ、ヨーロッパでは 8%、いろいろの人種がまざった米国では 4%、東アジアではさらに低かった。最も高かったのはバングラディッシュであり、63%で少なくともひとつのハプロタイプを持ち、13%はホモ接合であった。したがって、ネアンデルタールハプロタイプは他のリスク、たとえば高齢であることに加えて潜在的な重症化リスクを提供すると考えられる。これを明らかに裏付ける事実として、バングラディッシュ出身のイギリス人は COVID-19 による死亡

リスクが一般人口より 2 倍高いというデータがある(HR 95%CI:1.7-2.4)。

ネアンデルタールのリスクハプロタイプが南アジアで 30%の人口で認められるのに対し、東アジアではほとんど見られないというのは衝撃的である。このアレル頻度の相違は普通ではなく ( $p=0.006$ )、過去の遺伝子選択の影響を受けたと思われる。過去の研究で、ネアンデルタールのハプロタイプはバングラデューシユで正の選択(positive selection)を受けたことがわかっている。現時点では想像でしかないが、この原因は他の病原体に対するものであった可能性がある。さらに、東アジアではコロナウイルスないしは他の病原体による負の選択(negative selection)を受けたのかもしれない。COVID-19 の重症化リスクに關与する第 3 染色体上のハプロタイプは、ネアンデルタールのハプロタイプと似通っており、ある集団で優位になったが、現在 SARS-CoV-2 の爆発的拡大により負の選択を受けている。

ネアンデルタール由来のハプロタイプがいかにして COVID-19 の重症化につながるかはわかっていない。また、これが SARS-CoV-2 に特異的なのか他の病原体にも当てはまるのかも不明である。この遺伝子の特徴が明らかになれば、ネアンデルタール人の特定の病原体への感受性が明らかになる。しかしながら、現在のパンデミックからすると、ネアンデルタール人からの遺伝子流入は悲劇的な結果になっている。

#### 文献

- 1) Zeberg H and Pääbo S. The major genetic risk factor for severe COVID-19 is inherited from Neanderthals. Nature 2020  
doi:10.1038/s41586-020-2818-3(2020)

## 2 2 SARS-CoV-2 の空気感染について

SARS-CoV-2 ウイルスの感染については、直接・間接的な接触、飛沫感染が主たるものと考えられてきましたが、最近の研究や調査により、条件によっては空気感染もおこり、媒介物による感染 (fomite transmission) は少ないことがわかってきました。ここでは、10月5日サイエンス誌に掲載された、カリフォルニア大学サンディエゴ校の Prather らのコメント<sup>1)</sup>と、同日公表された米国 CDC の見解<sup>2)</sup>を紹介します。

SARS-CoV-2 ウイルスを吸い込むことによる感染が、主たる感染ルートであるという厄介な証拠がある。もっとも効果的なウイルス制圧方法を確立するために、あらゆる研究分野でウイルス伝播様式を議論し、一般市民に明確で一貫性のある案内を出すことが急務である。そこで、エアロゾルと飛沫という用語を、 $100\mu\text{m}$  を境にすることで (従来の  $5\mu$  ではなく) 明確に区別する必要がある。このサイズだと、両者の空気力学的挙動や吸入しうること、介入効果を分けることができる。

飛沫の中のウイルス ( $100\mu\text{m}$  より大きい) は通常、感染源から 2m 以内に数秒で落下し、微小な弾丸のように近くにいる人に噴霧されうる。この場合、飛行距離が限定されるので、身体的な距離をとれば飛沫感染は防げる。しかし、エアロゾル中のウイルス ( $100\mu\text{m}$  より小さい) は、何十秒から何時間にも渡って煙のように空気中に浮遊し吸入される。このため、エアロゾル中のウイルスは、感染者やその近傍では濃度が高く、近くにいる人を容易に感染させる。感染力のあるウイルスを含んだエアロゾルは、2m 以上も飛ぶことができ、換気の悪い家の中では集積し、スーパースプレディング (14章参照) につながる。

無症候性感染者は、何千ものウイルスを含むエアロゾル (飛沫が少ない) を、呼吸したり会話をするだけで放出する。したがって、飛沫が拡散することよりエアロゾルを吸入する可能性が高い。このため、空気感染を予防する方に関心を移す必要がある。マスクをしたり、社会的距離をとったり手指衛生を図ること以外に、外での行動様式、換気やろ過を用いた室内空気の改善、危険度の高い職種の防御の改善などの明確な指標を、公衆衛生当局は提示していただきたい。

## COVID-19 の広がり方<sup>2)</sup>

### COVID-19 はいとも容易に人から人へ広がる

人から人への感染のしやすさにはいろいろな場合があるが、COVID-19 の原因ウイルスは、インフルエンザより広がりやすく、はしかウイルスほどではないと考えられている。

### COVID-19 はもっとも一般的には濃厚接触で広がる

- 感染者から 6 feet 以内にいる人や直接接触した人は感染リスクが高い。
- COVID-19 患者が咳、鼻水、歌う、話す、呼吸するだけでも呼吸器飛沫を発生する。この飛沫には大きなものと小さなものがあり、小さな飛沫は気流に乗って乾燥し粒子になる。
- 主として、COVID-19 患者の近くにいて飛沫に暴露されることで感染する
- 飛沫は、それを吸い込み鼻や口の粘膜に付着することで感染原因となる。
- COVID-19 感染者から飛沫の距離が遠いと、ウイルス濃度は減少する。大きな飛沫は重力により下に落ちるが、小さな飛沫や粒子は空気中で広がる
- 時間の経過とともに飛沫中の感染性のウイルス量は減少する。

### COVID-19 は空気感染することもある

- 感染症の幾つかは、空気中に何分～何時間もとどまれる小さな飛沫や粒子にあるウイルスに暴露することで広まる。これらのウイルスは、感染者から 6 feet 以上離れていたり、感染者が立ち去った後でも感染力がある。
- この種類の感染は“空気感染”と呼ばれ、結核やはしか、水疱瘡が広がるのに重要な経路である。
- ある条件下では、COVID-19 感染者から 6 feet 以上離れている人へも感染は起こっている。これらの伝播は、換気が不十分な閉鎖空間でおこる。時として感染者は、例えば歌ったり、運動をするときに深呼吸をしている。
  - このような環境では、小さな飛沫や粒子は、人に感染させるのに十分に濃縮している。感染した人は、感染者と同じ時間に同じ場所にいたか、感染者が立ち去った直後にそこにいた場合であった。
- データから示されていることは、COVID-19 を引き起こすウイルスの広がり方は、空気感染よりも人との濃厚接触が主たるものである。

### 汚染したものの表面に触れることによる COVID-19 の広がり、それほど一般的ではない

- 呼吸からの飛沫は、物質表面や対象物に付着することができる。また、それに触ることにより、またその手で口や鼻、眼にさわることによって COVID-19 にかかる可能性がある。
- 物の表面に触ることによる感染（媒介物による感染）は、それほど頻度が高くないと考えられている。

### COVID-19 が人と動物の間で広がることは稀である

- COVID-19 の原因ウイルスの人から動物への感染が確認されているが、猫や犬が人との濃厚接触をした後にこのウイルスに感染することがある
- 現時点では、動物から人への感染拡大の危険性は低い

### あなた自身や他の人を守るために

- 可能な限り他の人から 6 feet 以上離れる これは COVID-19 を予防するのに重要である。
- 他の人が周りにいるときは、マスクで口や鼻を覆う これは濃厚接触や空気感染による感染拡大の危険を減らすのに効果がある
- 石鹸と水で手を洗う もし洗えない場合は、アルコール分 60%以上の消毒薬を使う
- 混雑した室内を避け、室内が正しく換気（室外の空気を入れることで）されているか確認する 一般的に、室外や換気の良い場所では感染源の飛沫暴露の危険を減らす
- 病気のとときには家に一人である
- よく触れる表面の清掃と消毒を常とする

#### 文献

- 1) Prather KA, et al. Airborne transmission of SARS-CoV-2. Science. 2020.  
doi: 10.1126/science.abf0521(2020)
- 2) How COVID-19 spreads. CDC Updated Oct.5, 2020  
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>



## 2.3 SARS-CoV-2 は宿主のスプライシング、翻訳、さらにタンパク質輸送を破壊することで防御を阻害する

SARS-CoV-2 は 30kb ほどの巨大な RNA よりなり、少なくとも 27 種類のタンパク質を作ることができる。これらは、みずからの構造を作るもの（構造タンパク）以外に、宿主の RNA を操作して無力化し、みずからの増殖を助けるものが含まれている。その中には、宿主の自然免疫を阻害し、インターフェロンの産生を抑えるものも含まれる。カリフォルニア工科大学の Guttman らのグループ<sup>1)</sup>は、非構造タンパク(non-structural protein, NSP)が結合している RNA 配列を決定し、宿主の翻訳操作への影響を網羅的に調べた。

SARS-CoV-2 がコードするすべてのタンパク質を標識し、宿主細胞(HEK293T)に感染させ、それぞれのタンパク質に結合する RNA を分離した結果、10 種類のウイルスタンパク質が宿主の RNA (mRNA および non-coding RNA, ncRNA)に結合していることが明らかになった。それらは、NSP-1, 4, 8, 9, 12, 15, 16, ORF3b, N, E タンパク質であり、6 つの構造 ncRNAs と 142 の mRNA に結合していた。これらの mRNA は、タンパク質翻訳、輸送、折りたたみ、転写制御、免疫反応に関するものだった。そのなかで、特に重要な 4 つのタンパク質(NSP16, 1, 8, 9)を中心に検討した結果、

- 1) NSP16: 宿主のスプライシングに関わる ncRNA である U1 と U2 (いずれも snRNA で spliceosome を形成) に結合することで、転写活性が 1/3 に減弱していた。ウイルス RNA はこの影響を受けず、インターフェロンの翻訳は半分にまで低下した。
- 2) NSP1: 40S リボソームの構成成分である 18S-rRNA に結合し、翻訳時に mRNA が 40S-rRNA に入り込むのを阻害する。その結果、多くの mRNA の翻訳が阻害されるが、ウイルス RNA とハウスキーピング遺伝子である GAPDH の翻訳は正常に起こる。mRNA のリーダー配列と NSP1 との結合の結果、mRNA がリボソームに入れ込めないのがその理由であり、NSP1 と結合できないリーダー配列を持つ RNA は翻訳されると考えられる。この結果、多くの RNA が翻訳されず、実際 1 型インターフェロンも産生されなかった。
- 3) NSP8, 9: 宿主の RNA 結合部位の検討から、これらがリボソームを小胞体とリンクさせ、翻訳されたペプチドの輸送に関与する 7SL RNA,

28S-rRNA に結合することが明らかになった。NSP8,9 は、signal recognition particle (SRP)に結合することで、リボソームと小胞体を誘導するタンパクを破壊し、ペプチドは細胞内で遊離してしまう。実際、細胞表面タンパク(NGFR)の発現がなくなってしまい、表面に提示されなくなる。このため、インターフェロン受容体や、誘導のためのシグナルタンパクも表面に提示されないので、インターフェロンに対する反応が抑制される。

SARS-CoV-2 が宿主に感染すると、RNA レベルで機能を阻害し、みずからは増殖するといった“細胞ハイジャック”の分子機構が明らかにされました。したがって、これらのウイルスタンパクと宿主 RNA との結合を阻止するような、たとえば microRNA など薬剤としての可能性があると思われます。

文献

- 1) Banerjee AK, et al. SARS-CoV-2 disrupts splicing, translation, and protein trafficking to suppress host defenses. Cell 2020 doi: 10.1016/j.cell.2020.10.004

## 2 4 COVID-19 の感染既往のある患者の眼組織から SARS-CoV-2 核カプシド蛋白が検出された

中国人民開放軍総病院眼科の Chen ら<sup>1)</sup>による、COVID-19 回復から 2 ヶ月後に生じた緑内障に SARS-CoV-2 が関与していたことを示唆する報告です。

SARS-CoV-2 が呼吸器以外の組織、たとえば眼組織に存在するかどうかはわかっていない。RT-PCR による検討で、COVID-19 患者ないしは疑い患者の結膜囊から SARS-CoV-2 が検出されたとの報告や、COVID-19 患者の眼球分泌液より SARS-CoV-2 を分離したとの報告がある。しかし、SARS-CoV-2 が眼内組織に存在するという確たる証拠はない。急性期の COVID-19 患者はウイルス血症を起こすので、SARS-CoV-2 RNA の陽性所見は結膜炎の浸出液中に存在したものと考えられる。今回、COVID-19 の回復期に急性緑内障を併発した患者を報告する。この患者は、眼科手術を要したので、検体を採取し、分析を行うことができた。なお、検体は、健常者からも採取した。

### 症 例

64 歳の女性は、5 日にわたる乾性咳嗽、9 日続く下痢を主訴に 2020 年 1 月 31 日中国人民解放軍総病院（武漢）を訪れた。入院時の体熱は 37.8°C であり、血液酸素飽和度は 98% であった。血中 CRP 値は 1.25mg/dl (正常 0-1.0mg/dl)、白血球数は 7270 (同 400-10000 cells/ $\mu$ l) であった。胸部 CT 所見は、両下肺野に ground glass opacity (GGO) を認めた。咽頭拭い液の RT-PCR より COVID-19 と診断された。患者は入院して、酸素療法、抗ウイルス、抗菌薬の投与を受けた。入院中は、呼吸状態は安定しており、眼症状も認めなかった。18 病日までには症状は寛解し、2 月 18 日と 20 日に施行された RT-PCR は陰性であった。ところが、2 月 28 日に患者は持続する左眼痛と視力低下を訴え、3 日後に症状は右眼にも及んだ。3 月 8 日に眼科病院に入院となったが、両眼の視力は光覚のみであった。両眼内圧は 50mmHg であった。スリットランプ検査では両眼の結膜充血、角膜浮腫があり、虹彩は拡大し、固定されていた。また、前房は平坦化し、レンズの混濁 (grade 3) があった。患者の基底部分は角膜浮腫のためはっきりしなかった。診断は、白内障を伴う急性隅角閉塞緑内障であった。

患者の眼内圧は薬物治療で低下しなかったため、両眼の水晶体超音波乳化液吸引術が施行され、この際に水晶体前囊組織が採取された。右眼の眼圧が下から

ないので、さらに4月10日に線維柱体切除術が付加された。この際に、結膜、線維柱体、虹彩組織が採取された。同様に、COVID-19陰性の緑内障患者からも検体が採取された。SARS-CoV-2のIgG, IgM抗体と核カプシド蛋白抗原(NP)を調べるために血液が採取された。組織検体は、パラフィン切片として、ヘマトキシリン-エオジン染色とNP、ACE2の免疫染色、免疫蛍光染色をおこなった。その結果、NP抗原は血中からは検出されなかった。COVID-19患者のIgGは陽性であったが、IgMは陰性であった。組織を用いた検討では、NP抗原は、結膜、線維柱体、虹彩で認められ、ACE2は結膜組織に認められた。

## 考 察

COVID-19から回復した患者の結膜、線維柱体、虹彩からSARS-CoV-2のNP抗原が検出された。このことから、SARS-CoV-2は眼内組織や眼表面に存在しうることが明らかになった。すなわち、SARS-CoV-2の標的組織は肺のみでなく眼も考えられる。ウイルスの侵入経路は不明であるが、1つには結膜表面のACE2を介する場合が考えられる。もう1つは、肺の感染が全身に及び、終末臓器として眼に感染するというものである。しかし、患者が眼症状を訴えて眼クリニックを受診した時は回復期であり、血中NP抗原やIgM抗体は陰性であったことから、全身ウイルス血症からの眼移行は考えにくい。

SARS-CoV-2感染の急性期から2ヶ月後に眼症状を訴えウイルスを同定した症例を提示した。生きたウイルスが眼にとどまり、眼の構造や機能に障害をきたしたのか、他の臓器にも持続的な感染をおこし、それには感染力があるかなどの点についてはさらなる研究が必要である。

## 文献

- 1) Yan Y, Diao B, Liu Y, Zhang W, Wang G, Chen X. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 nucleocapsid protein in ocular tissues of a patient previously infected with coronavirus disease 2019. JAMA Ophthalmol. 2020  
doi:10.1001/jamaophthalmol.2020.3962

## 2 5 COVID-19 後に突然生じた不可逆的難聴

COVID-19 の合併症として、難聴がおこることがわかっています。今回、University College London の Koumpa らによる、イギリスでの初例報告<sup>1)</sup>を紹介します。

### 背 景

突然の感音難聴とは、3 日以内に少なくとも 3 つの周波数領域で 30dB 以上の聴力損失を認めるものと定義されている。世界中では、毎年人口 10 万あたり 5-160 例が起こる比較的良好にみられる病態である。多くは原因が特定されないが、ウイルス感染、免疫が関与した細胞レベルのストレス応答、血管の閉塞などが考えられている。ウイルスが原因である難聴には、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルスなどが主であるが、感音難聴をおこすことは稀である。COVID-19 では呼吸器が影響を受け、肺炎や多臓器障害を起こす場合がある一方で、全く症状のないものも 20-86%あるとされている。また、神経系の障害では無嗅覚症が報告されているが、COVID-19 と感音難聴との関連は今日まで十分に検討されていない。

### 症 例

45 歳の喘息の既往がある男性が、COVID-19 の治療中に難聴が一週間続くとということで耳鼻咽喉科受診となった。患者は、COVID-19 の発症から 10 日目入院となり、その後呼吸状態が悪化し挿管され、集中治療室(ITU)に移送された。人工呼吸器による管理が 30 日続き、さらに両側肺血栓、人工呼吸器肺炎を併発し、肺高血圧や貧血になった。治療としては、レムデシビル、ステロイドの投与、血漿交換などが行われ、快方に向かった。抜管から一週間で ITU から退出する際に、患者は突然の聴力損失に気がついた。既往歴には、難聴や耳の病気はなかった。患者は入院前には喘息の既往があったが、その後も含め状態は落ち着いていた。また、入院中の治療薬の中には聴覚障害を起こすような薬剤はなかった。耳鼻科の診察にて外耳道は保たれており、炎症はなく、鼓膜も異常はなかった。左側の感音性難聴と同側の Rinne's test 陰性、Weber's test lateralising to the opposite side であった。治療は、経口でプレドニゾロン 60mg を 7 日間内服した。オーディオグラムでは 2,3,4, さらに 6kHz で聴覚閾値はそれぞれ

れ 65, 75, 75, および 85dB であった。患者はさらに、鼓膜内ステロイド注射（メチルプレドニゾロン 125mg/ml x0.5ml）を 3 回うけ、その後の検査では部分的な聴力回復が見られた。

難聴が起こった時には、白血球数は正常であり、CRP 値の若干の上昇を認めた。また、リウマチ因子、抗核抗体、抗白血球細胞質抗体、抗中心体抗体、抗平滑筋抗体、抗カルジオリピン抗体はすべて陰性であった。ACE、免疫グロブリン、C3, C4 補体価は正常範囲内であり、インフルエンザ、HIV も陰性であった。炎症マーカーの推移を Table1 に示す (not shown)。内耳の MRI 所見からは、他の疾患は除外された。

これらの結果より、明らかな原因は不明であったが、難聴と COVID-19 との関連が強く示唆された。

## 考 察

感音難聴は治療の際のステロイドの投与経路が議論されてきたが、COVID-19 との関連についてはあまり認識されてこなかった。文献検索をしてみると、これまでに 3 例の症例報告と、2 つのケースコントロール研究があるのみで、COVID-19 と聴力の関係についての議論がなされてこなかった。難聴と耳鳴は COVID-19 とインフルエンザの症状であるが、それほど注目されなかった。感音難聴の報告の最初は、Sriwijitalai らの 2020 年 4 月のものが最初であり、その後 4 報があるのみである。他の 2 例の報告も、SARS-CoV-2 陽性患者で生じた難聴で、他の原因が特定できなかった。Degen らも、60 歳の男性で ITU 滞在後に難聴をきたし、鼓膜内ステロイド注入と人工内耳移植を行った症例を報告している。今回の症例も、いままでに耳鼻科的には既往がない患者が突然の難聴をきたしたもので、経口ステロイド療法がある程度有効であり、鼓膜内注入はさほど効果が見られなかった。また、忙しい ITU 内では、難聴に気づくのが遅れてしまった。

感音難聴で耳鼻科を受診する患者の SARS-CoV-2 の PCR 検査をした Kilic らによれば、5 人中 1 名で陽性であり、唯一の症状が感音難聴であった。ただし、PCR には検出感度の問題もある。Mustafa は、SARS-CoV-2 陽性の患者 20 名と健常人 20 名の誘発耳音響放射 (transient evoked otoacoustic emission ,TEOAE) を比較したところ、SARS-CoV-2 陽性患者では有意に、高

周波数領域での閾値と TEOAE 振幅が低下していた。このことから、COVID-19 と蝸牛障害の関連性が考えられた。

感音難聴の病理組織学的所見としては、コルチ器における有毛細胞や支持細胞の消失が見られるが、炎症性細胞の浸潤は伴わない。このことから、突発性の感音難聴は細胞ストレス経路の関与が考えられる。SARS-CoV-2 は ACE2 に結合するが、これは肺胞上皮細胞や血管内皮細胞に見られる。最近、マウスの中耳の上皮細胞、血管線状、脊髄グングリオンにも発現が確認されている。加えて、SARS-CoV-2 は炎症反応の原因となり、サイトカイン放出を増加させ、その中には TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 などがある。これらが蝸牛に入り、炎症を起こすことで細胞にストレスを与え持続的な感音難聴になることは、SARS-CoV-2 でも十分に考えられるであろう。

本例は、COVID-19 後に感音難聴をきたしたイギリスで最初の症例である。国内で感染が蔓延している状況では、難聴は重大な合併症のため、さらなる検討が必要である。またこれは、迅速に診断し、治療する必要であるため、ITU などでは症状の有無を可及的に問い、救急対応での耳鼻科受診が望まれる。

#### 文献

- 1) Koumpa FS, Forde CT, Manjaly JG. Sudden irreversible hearing loss post COVID-19. BMJ Case Rep 2020;13:e238419 doi:10.1136/bcr-2020-238419

## 2.6 飛行機の旅は安全か？

前著、「新型コロナウイルス感染症 30 の研究」の 28 章で、飛行機での無症候性感染の伝播の可能性について紹介しました<sup>1)</sup>。COVID-19 の症状のある、または発症前の乗客による機内感染について、最近の報告<sup>2)-4)</sup>を紹介します。

### 1) SARS-CoV-2 の飛行中での感染

ロンドン大学衛生熱帯医学大学院の Choi ならびに香港大学の Cheng らのグループ<sup>2)</sup>は、香港で 2020 年 1 月 23 日から 6 月 13 日までに COVID-19 の診断が確定した 1,110 名の香港公衆衛生データ (CHP public records, Vote4HK COVID-19) から、診断前に旅行したもののデータを抽出した。その結果、4 名のクラスター (患者 A-D) が判明し、4 名とも 3 月 9 日米国ボストン発、翌日香港着の便 (ボーイング 777-300ER) に搭乗していた。この便は、15 時間以上の飛行時間で、最大 294 名が搭乗していた。4 名のうち、2 名は乗客で、2 名は客室乗務員であった。いずれも、到着から 5-11 日目に陽性が判明した。

患者 A, B は夫婦であり、A は 58 歳男性、ビジネスクラスの窓側の席に座っていた。3 月 10 日に発熱と咳嗽を認め 13 日には軽度の腹部不快感があり、その後 2 日間の下痢があった。61 歳の妻 (患者 B) は、ビジネスクラスの患者 A の 1 つ前の窓側の席に座っていた。3 月 10 日に咽頭痛を訴え、1 日後には発熱と咳嗽が出現した。症状が進むために、彼らは 3 月 14 日に入院となり、翌 15 日に SARS-CoV-2 が陽性と診断された。搭乗時に症状があったかどうかや併存疾患については不明であった。搭乗前の 14 日の潜伏期間中に、彼らはトロント、オンタリオ、カナダ、ニューヨーク、ボストンを訪問していた。

患者 C は、香港政府により患者 A, B と濃厚接触したと考えられた、無症状の 25 歳男性である。患者 A, B の感染が判明したので、患者 C も検査を受け 3 月 17 日に陽性が判明し、隔離後入院となった。患者 D は 51 歳の女性客室乗務員で同機に搭乗しており、3 月 18 日に発熱と咳嗽をきたし 3 月 21 日に SARS-CoV-2 陽性と診断され入院した。

4 名の検体を香港大学に送り全塩基配列を決定したところ、100%一致し系統樹的には clade G に属した (not shown)。この配列は当時の香港では存在せず、その反面、2 塩基違いの配列がトロント、ニューヨーク、マサチューセッツで 3 月に分離されている。このことから、患者 A, B が北米旅行中に訪問先のうち



のどこかでウイルスに感染し、機内で患者 C, D に伝播し、香港に持ち込んだものと考えられた。4名の共通の接点は機内であり、感染が機内で伝播した可能性が高い。他の搭乗者の検査はしていないので、正確な罹患率は不明である。

これまでの機内での感染症例の報告では、遺伝子的な裏付けがなかった。2020年1月から3月までに国際空輸連盟は機内感染疑い3例の報告を受けている。中国からカナダへ飛行した2名の感染者の接触追跡では、飛行からの2次感染の兆候はなかった。しかしながら、何百人もの客室乗務員やパイロットの SARS-CoV-2 感染例があり、少なくとも2名が死亡している。今回のわれわれの検討で、SARS-CoV-2 は機内で感染することが明らかとなった。旅行中のウイルス伝播を防ぐためにも、感染予防策を継続するべきである。

## 2) 長時間飛行における SARS-CoV-2 の感染

ベトナムハノイの国立衛生伝染病研究所の Khanh らのグループ<sup>3)</sup>は、10時間の飛行便における SARS-CoV-2 のクラスター解析を行った。

航空機の中での、SARS-CoV-2 感染者から乗客や乗務員への感染に関する詳細な事例やリスクに関しての情報は限られている。国際的航空産業は、飛行時の感染リスクはととても低いと考えているが、とくに長時間飛行は、各国が飛行制限を緩和していることもあって関心を集めている。

われわれは、パンデミックが深刻化した3月初旬に、ロンドンからベトナムハノイに到着した飛行機(ベトナム航空54便[VN54])の乗客の中で COVID-19 のクラスターが発生したことに気づいた。同時期に、COVID-19 のベトナムへの航空機3便による移入(中国武漢からの避難者6名と2次感染6名)が公表されている。それ以上の詳細な検討はなされておらず、その感染が飛行そのもので起きたかどうかの証拠は示されなかった。

VN54 便の初期調査で、ビジネスクラスの乗客1名からの飛行中の感染が疑われた(最初の感染者疑い)。そこで、乗客乗員の徹底的な調査を施行し、飛行中の感染の可能性の評価と危険因子を同定することを試みた。

飛行関連 COVID-19 例の定義としては、3月2日にハノイに到着した VN54 便に搭乗した乗客乗員で、3月1日から16日までに発熱や咳嗽、息切れ(なしも含む)を認めたものとし、飛行関連 COVID-19 確定例は、症状のあるなしを問わず、鼻咽頭ぬぐい液からの RT-qPCR 検査が陽性例とした。2次感染の定義としては、1) 到着後 2-14 日で症状があるか、SARS-CoV-2 の PCR 検査が到

着後 2-14 日以内で陽性（症状の有無を問わず）、2）詳細の調査で、COVID-19 の潜伏期間内で飛行前後に SARS-CoV-2 の暴露がないもの、3）飛行時間内に最初の感染者と同じキャビンにいたもの、とした。

VN54 便がハノイに到着した当時は、イギリスを含め COVID-19 流行地域からの乗客は、体温検査と COVID-19 症状の申告をした。また、中国、韓国、イラン、イタリアからの乗客は、SARS-CoV-2 の検査と 14 日間の隔離をした。この当時は、空港および機内におけるマスク着用は任意であった。

VN54 便に関する追跡調査が行われた乗客、乗務員には面会による標準的な質問がなされ、SARS-CoV-2 の検査を施行し、専用施設ないしは自宅で隔離となった。とくに質問で確認したのは、搭乗以外での感染の可能性の確認であった。また、飛行関連 COVID-19 例、および疑い者には濃厚接触（2m 以内、15 分以上の接触）がなかったかどうかを確認された。機内感染リスクに関連する因子を同定するために、リスク比と 95% CIs を計算した。

## 結 果

ロンドン発の VN54 便は、10 時間の飛行ののちにハノイに到着した。乗員 16 名と乗客 201 名が搭乗しており、274 の座席は、ビジネスクラス（B, 28 席）、プレミアムエコノミー（PE, 35 席）、エコノミー（E, 211 席）に分けられており、4 つのトイレが B、PE にあり、E には 5 つあった。B は他の 2 種類の座席からはトイレとサービスエリアによって仕切られていた（図 1）。201 名の座席の内訳は、21 名が B、35 名が PE、145 名が E であった。食事が提供され、客室乗務員は 2 チームで、それぞれ 1 チームずつが B+PE、E を担当した。

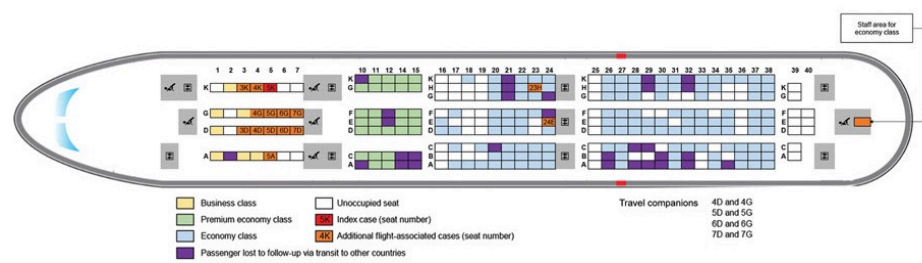


Figure 1. Seating location of passengers on Vietnam Airlines flight 54 from London, UK, to Hanoi, Vietnam, on March 2, 2020, for whom severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection was later confirmed.

図 1 ベトナム航空 54 便の座席表と感染者

ベトナム出身の 27 歳の女性客が最初の感染者と考えられた (症例 1)。彼女は、2 月初旬から、ロンドンに滞在し、姉と一緒に 2 月 18 日にイタリアを旅行していたが、(この姉は後日 SARS-CoV-2 陽性と診断された) 2 月 20 日にロンドンに戻り、2 日間一緒に滞在した。さらに、姉妹は、2 月 22 日にイタリアミラノに戻り、さらにフランスパリでのファッション週間に参加し、2 月 25 日にロンドンに戻った。彼女らは、さらに 2 月 29 日までロンドンに滞在したが、症例 1 はこの頃より喉の痛みと咳嗽を自覚したものの、友人とエンターテインメント拠点で会合をした。3 月 1 日に VN54 便に搭乗したが、その間、症状は継続し、到着後に症状が悪化したのでハノイの自宅に滞在し、3 月 5 日に病院受診し、3 月 6 日に SARS-CoV-2 陽性と診断された。2 月 29 日に会ったロンドンの友人も 3 月 10 日に陽性と診断された。

3 月 10 日までに、16 名(100%)の乗務員と、168 名(84%)の乗客がベトナムに滞在していたので追跡調査されたが、33 名(16%)はすでに出国していた。これらの対象者を隔離、面会し検査を行った。この結果、さらに 15 名の PCR 陽性 COVID-19 確定例 (14 名の乗客と 1 名の乗員) を同定でき、全体で 16 名の飛行関連 COVID-19 確定例となった。年齢は、30 歳から 74 歳で (中央値は 63.5 歳)、男性 9 例、12 例はイギリス国籍であった。12 例(80%)は B で症例 1 と一緒にあり、他の 2 例 (症例 14, 15) と 1 名の客室乗務員 (症例 16) は E であった。B における罹患率は 62%であり、症例 1 から 2m 以内 (シートで 2 つ以内) の乗客の罹患率 (11 例, 92%) はそうでない場合(1 例, 13%)と比べてリスク比は 7.3 (95% CI 1.2-46.2)であった。12 例の B における症例では、8 例(67%)でその後症状が出現し、潜伏期間の中央値は 8.8 日 (四分位範囲 5.8-13.5)であった。他の乗客には症状はなく、B の 12 例は 2 次感染の疑いと考えられた。

4 組 (8 名) の添乗員も症例 1 の隣の B に座っていたが、他の感染者との接点はなかった。うち 3 組(6 名)は到着後 6 日で SARS-COV-2 陽性となった (図 1)。

1,300 名の VN54 搭乗者との濃厚接触者の検査の結果、5 名の感染者がみつかったが、3 名は症例 1 の家族であった。

## 考 察

症例 1 は搭乗時に唯一症状を認め、SARS-CoV-2 感染者 (姉) との潜伏期間での接触が確認された。飛行関連 COVID-19 確定例の潜伏期間は搭乗時期と重なっていた。この飛行の前後で明らかな他の接触がないので、症例 1 からの感

染が考えられた。添乗員の潜伏期間も同様であったので、同一の飛行機内での感染が考えられ、初めの感染者からの距離が危険因子であることが明らかになった。遺伝子的な検討がなされていないので他の感染経路を完全に否定できないが、当時のイギリスの感染状況はわずかに 23 例のみだったのでイギリス国内からの感染の可能性は少ない。ベトナム国内での感染も、2020 年 3 月 1 日現在ではわずかに 16 例であったのでこれも考えにくい。しかし、感染国からの入国者 10,089 件は調査中であった。

飛行機内での感染経路は、症例 1 からのエアロゾルや飛沫感染と考えられるが、飛行機外の B 専用ラウンジなどで起きた可能性も否定できない。E での 2 名の感染は、入国審査や手荷物受け取りで起きた可能性も残る。搭乗中の媒介物による接触感染、すなわちテーブルやトイレの表面からの可能性も不明である。乗務員はよく B のトイレを使用していたので、E における客室乗務員の感染原因かもしれない。

この研究の限界としては、1) 遺伝子データがない、2) 搭乗中の各症例の具体的な行動パターンが不明、3) 搭乗前の感染の可能性が質問だけで行った点、4) 個々の乗客、乗員のマスク着用状態が不明、5) 機内の環境サンプルを検査していない、などの点である。

各国は感染流行が収まらないうちに海外渡航を再開しつつあるので、われわれの発見は、国際線での旅行に関して幾つかの重要な点を意味している。まず、体温表示や症状の自己申告では、症例 1 でも明らかなように、感染者発見には限界がある。第 2 に、長時間飛行は、COVID-19 の移入のみならず、機内でのスーパースプレディング事例(SSE)の可能性を高める。また、機内の環境（湿度や温度、さらには気流）が室内での SARS-CoV-2 の存在を延長させる可能性がある。今回、VN54 便の空調や、換気システムの不具合は指摘されなかった。エアロゾルや飛沫の機内での伝播状況はよくわかっていないが、マスクをしない状況での今回の 2 次感染者数は、仮定での最大数なのかもしれない。2020 年 2 月のシンガポールからの飛行では、16 名の COVID-19 クラスタが発生したが、飛行関連のものは 1 例の可能性があった。飛行関連感染の推測はできるものの、中国からの 10 件のケースの報告はレビューなしの論文であり、十分に実証されていない。2020 年 1 月のカナダからの 15 時間の飛行では、COVID-19 症例が搭乗していたが、2 次感染は見られなかった。しかし、この報告では、接触者追跡は限られていた。フランスやタイからも同様の報告があ

るが、これらの報告では、接触者追跡は座席の2列目までであり、2次感染がとらえられなかったのかもしれない。

国際的航空産業からの最新の案内では、飛行中の感染リスクはとても低いものと分類している。そして、マスクの装着は推奨するが、真ん中の席を塞ぐなどのソーシャルディスタンスは必要ないとしている。われわれのVN54便の検討からはB席という、すでに距離が十分取れているにもかかわらず、2列以上や2m以上のところに感染が伝播した。この条件は、飛行機や他の公共交通におけるCOVID-19感染予防ができるものとしてあげられている数字である。同様の結論は2003年のSARS-CoVや、インフルエンザのSSEでも述べられており、この時は3列を超える場所でも感染が起きた。さらに、SARS-CoV-2では、空気感染が主たる感染経路であるという事実も集まりつつある。今回の検討により、感染の広がっている地域では、公衆衛生当局、関連機関、航空会社によるスクリーニングや感染予防策を強化する必要がある。真ん中の席を閉鎖することはある程度の感染予防につながるかもしれないが、SSEを予防することはできないと思われる。また、入国者に対する組織的な検査、隔離政策、あるいはその両方は、地域での感染が少ないところ、感染者の移入リスクが高いところ、接触追跡の能力が低いところでは正当化されるべきであろう。ベトナムは、今回の件で、どこの国からの入国者に対してもPCR検査と14日の隔離を義務付けた。これにより、資源消費型の乗客への接触追跡の必要がなくなり、国際線を閉鎖した3月28日までに5,000名以上の搭乗者、44の飛行から106名の感染者を見つけることができた。しかし、論理的、経済的な観点からも、より迅速で信頼の置ける、感染期間をすべて網羅するような医療現場での検査法の開発は依然として重要課題である。SARS-CoV-2の長時間飛行での機内感染は現実に存在し、B席という広々として距離が保たれる状況でもクラスターが起り得る。COVID-19が蔓延し、良い検査法がない状況では、機内での感染予防や到着時のスクリーニング手段は、飛行機での旅を安全なものにするのに必要である。

### 3) 全ゲノム配列決定をおこなったSARS-CoV-2の飛行関連感染

オーストラリア ノートルダム大学のSpeakeら<sup>4)</sup>は、国内線でのSARS-CoV-2感染例で全ゲノム配列決定(WGS)をおこなった。

2020年3月21日西オーストラリア保健省はシドニー（ニューサウスウエー

ルズ州) からパース (西オーストラリア州) への 3 月 19 日の国内便の搭乗客 6 名が、PCR で確定された SARS-CoV-2 感染者であったとの報告を受けた。この 6 名全ては、シドニー港に最近停泊したクルーズ船からの下船者であった。その後の 2 週間で、他の何名かの搭乗者の中に SARS-COV-2 感染者が確認された。

## 方 法

検査で確定された症例と、その濃厚接触者は、オーストラリア伝染病ネットワークによる方法で検査され、管理された。飛行機はエアバス A330-200 であり、28 名のビジネスと 213 名のエコノミーの乗客が搭乗していた。乗客は、海外から到着し、シドニー国際空港経由でパースに向かう客と、国内線の乗客、シドニー港に停泊した 3 つのうちの 1 つの客船 (Ovation of the Seas, 3/18; Ruby Princess と Sun Princess, 3/19) から下船した乗客だった。搭乗客のうち最初の 6 名の感染が明らかになってから、すべての濃厚接触者は 14 日の自己隔離を指示された。この検査の際には、PCR 検査は症状のある者に限定されていたが、その後 4 月 1 日までに感染者が 20 名を超えたので、暴露の可能性のある残り全ての乗客が告知を受けた。飛行に関連する感染者数や、その後に診断されたものの症状の発現時期から、飛行関連の感染が発生したと考えられた。

## 検査方法

PCR 検査は Roche cobas SARS-CoV-2 test ないしは、in-house assay (S タンパク遺伝子を標的)を用いた。用いた遺伝子配列の検査方法 (機器) は、以下の如くである。Amplicon PCR at PathWest, Illumina MiSeq sequencer, Geneious Prime version 2020.1.1, iVar version 1.2.2, Global Outbreak LINeages (PANGOLIN) tool, MAFFT version 7.467, MEGA version 7.014 なお、遺伝子データベースは、GenBank, GISAID を用いた。ウイルス培養は、Vero-E6 細胞を 80%密度で用い、細胞変性効果を 10 日目まで検査した。

WGS の結果と疫学的な調査で潜伏期間における各々の乗客の感染源を調査した。ここで、1 次感染者とは、搭乗 14 日前までにクルーズ船に乗船し、SARS-CoV-2 の感染が確認され、その WGS がクルーズ船での感染爆発の種と近縁の場合と、飛行機の出発後 48 時間以内、または前で発症した乗客とした (飛行中に感染源となる場合)。 2 次感染者は、PCR で SARS-CoV-2 が確認された乗客で、発症 14 日以内にクルーズ船には乗船していなかったが、飛行 48 時間

以降、かつ14日以内に症状が発現した者とした。

統計学的な解析は、2次感染者が飛行機のキャビン間、あるいはシートの位置(窓側かそうでないか)で発現率が異なるかどうかを、修正 Mantel-Haenszel  $\chi^2$ 乗検定で検討した。

## 結 果

この便の搭乗者で、飛行中あるいはその後に COVID-19 症状を呈した 64 名に PCR 検査を施行した。その結果、29名が SARS-CoV-2 陽性であり、35名は陰性であった。 PCR 陽性例では、症状の出現は 2020 年 3 月 15 日から 4 月 1 日の間であった。年齢の中央値は 59 歳 (range, 4-81) で、男性 15 名であった。さらに、13名は Ruby Princess(RP)の、4名は Ovation of the Sea(OS)の、2名は Sun Princess(SP)の乗客であった。5名はシドニーを中継とした海外からの渡航者で、5名はクルーズ船には乗船しなかった国内旅行者であった。

21 例で WGS を比較した結果、SARS-CoV-2 の近縁ウイルスとして、A.2 (n=17)、B.1 (n=4)が同定された。A.2 は  $\leq 2$  の SNIP で分類される特定のゲノム集団であり、これを A2-Ruby Princess (A2-RP) と名付けた。A2-RP は今回の事例より以前の GISAID 国際データベースにはなかった種である。4つの B.1 は、3つの B.1.31 と1つの、系統樹で B.1 よりも遠い種に分けられた。4つの部分的な配列のものは、3つの A2-RP と1つの B.1.1 (B1.31 に近い) に分類した。ウイルス培養は、PCR 陽性 17 例より 9 例で可能であった。

### 1 次感染

29 名の PCR 陽性例のうち、18名が 1次感染と考えられた。このうち、RPの乗客は、13名であり、すべてのゲノム配列は A2-RP であった。9名の RP の乗客は飛行中に感染性があると考えられ、4名の検体が培養陽性であった。残りの 5名の 1次感染例のうち4名は OS の乗客で、ゲノム配列は3名で B.1.31、1名で B.1.1 であった。

### 2 次感染

11名の 2次感染での症状発現は、3月22日から4月1日であった。これらのうち、8名が渡航関連とされた。全例でゲノム配列は A2-RP であった。2020 年 7 月 28 日現在で、GISAID は、A2-RP に一致するものとして、2つの US の地

域より 5 種類のゲノム配列を上げている。残り 4 例の渡航関連例のゲノム配列はすべて A2-RP であった。8 名の渡航関連の発症時期は搭乗から 4 日 (range 3-6) であった。3 名は渡航関連の可能性ありとされた。これらのうち、1 名のゲノム配列は A2-RP であった。SARS-CoV-2 がニューサウスウェールズや西オーストラリア由来である可能性は低い。なぜなら、当時これらの地域での感染確認は少数であったからである。

11 名 (6 名は中央キャビン、5 名は後方キャビン) の 1 次感染例は渡航中に感染性があり、5 名は症状があった。中央キャビンには RP からの症状のある 3 名が同じ列に着席し、ゲノム配列は A2-RP で培養も陽性であった。中央キャビンにはこのほかに、1 名の米国からの旅行者と 1 名の OS の乗客がおり、いずれも感染性があった(ゲノムは B.1)。さらに 1 名は RP の乗客は発症前であったが感染性があった。残りの 5 名の感染性のある 1 次感染例 (RP 乗客) は後方キャビンに着席しており、2 名は飛行中に症状があった。すべての 2 次感染例はエコノミークラスで中央キャビンであった。2 次感染例の中で、8 名は感染性のある RP の乗客の 2 列以内に着席していた。7 名(64%)は窓側の座席であった(図 4)。

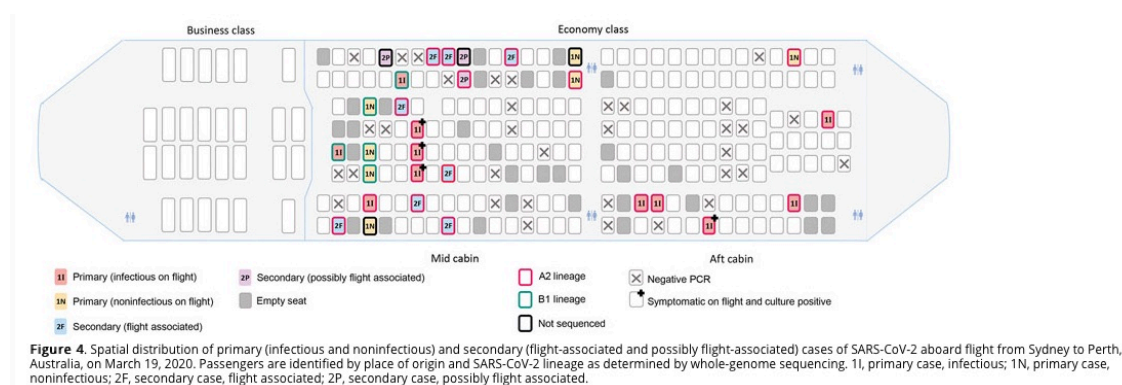


図 4 感染者の空間的分布

これをもとに SARS-CoV-2 の 2 次感染のリスクは、中央キャビンにいた乗客は、後方キャビンにいた乗客より有意に高かった (修正 MH  $\chi^2$  乗=8.6,  $p<0.005$ )。また、中央キャビンの窓側の席に着席していた乗客の 2 次感染罹患率は、そうでない場合より有意に高かった (4/83; リスク比 5.2, 95% CI 1.6-16.4; 修正 MH  $\chi^2$  乗=7.0;  $p<0.007$ )。



## 考 察

今回の検討を可能にしたのは以下の 3 点である。1) この便の飛行時にシドニーから下船した乗客から特徴的な SARS-CoV-2 の種類 (A2-RP) が出現したこと、2) 海外からの旅行者でシドニー空港から離れなかった乗客から A2-RP ウイルス配列が見つかったこと、3) 当時のオーストラリアでは地域での SARS-CoV-2 の感染が限定的だったこと、である。

他の飛行関連の SARS-CoV-2 感染の報告はあるが、これを支持する遺伝子検索をしていない。我々の研究は、WGS が SARS-CoV-2 の感染を解明する価値があることを示した。遺伝子的な証拠がなければ、海外からの旅行者が感染したのは、オーストラリアではなく米国であったと考えていただろう。

それ以外の知見としては、

- 1) 2 次感染の 11 名中 3 名は、従来の濃厚接触を示唆する指標からは外れていた。すなわち、飛行関連の感染者は 9 列にわたり、反対側の席にまで及んでいた。空気処理システムの点検に関する記載はみられず、乗務員に病気のものはいなかった。SARS-CoV-1 の検討では、最初の感染者の 2 ないしは 3 列以内の座席で 2 次感染のリスクが高いことが報告されている一方で、それより遠く離れた席でも発生しており、US 連邦航空局の報告では、2003 年の SARS 感染爆発の際には、感染者から 7 列離れている乗客への機内感染は、人の動きと関連があるかもしれないと結論している。今回の機内での空間的な 2 次感染の広がりを解明するには、接触追跡に補足する何らかの研究が必要かもしれない。
- 2) 多くの 2 次感染者は窓側に座っていた。うち 2 名は席の移動がなかったという。これは、米国での、通路 1 つの航空機での飛沫による病原体の感染性は、窓側の席の方が感染リスクが低いという事実と相反する。別の報告では、航空機内での複雑な空気の流れを測定し理解することは難しいと述べている。加えて、乗客と乗務員の動きも機内の空気の流れに影響を与えるので、実際の状況での空力学的な検討が必要である。
- 3) 感染性のある乗客からの 2 次感染のリスクは均一ではない。今回の飛行では、B 系統の感染力がある乗客が 2 名いたが、B 系統の 2 次感染はおこらなかった。A2-RP ウイルスをもった 2 名の 1 次感染者が中央と後方キャビンにいたが、2 次感染は後方キャビンではおきなかった。この解離の原因としては、SARS-CoV-2 の superspreader (SS) が中央キャビンに

1名以上いた可能性がある。咳をしていた乗客がいたとの報告や、マスクをしていた乗客は稀であった。2次感染の乗客はマスクをつけていたが、ずっとではなかった。呼吸気道におけるウイルス量は、検体採取が搭乗後であることもあり、検討しなかった。搭乗中に感染性のある4名の乗客からの検体では、ウイルス培養が陽性であった。

飛行中のSARS-CoV-2感染例の報告は比較的少ない。これは、すでに確立された、飛行中での感染例は稀であろうという確立された事実挑戦する内容でもあり、実際、感染が広がると多くの航空会社は感染リスクを下げる方策（食事や飲み物の提供を減らす、飛行中の娯楽をなくす、マスクや清拭布を渡す、機内の移動の制限、飛行機内の清掃を強化する）を取るためである。AHPPCは国内線空港や利用客向けの感染リスク低減のための、国内旅行客向けの指示書を出した。これには、「気分が悪い場合の旅行は控える」といった内容も含まれている。この研究にはいくつかの限界がある。それらは、

- 1) 3名の飛行中での感染の可能性のあるものに関しては、飛行前後の感染の可能性を否定できない。逆に、7名の1次感染者で船を下船し、48時間以降に症状が発現したものが機内で感染した可能性であるが、これは可能性からして船で感染したと考えるのが妥当であろう。
- 2) 乗客の空港内、搭乗口、さらに機内での行動が完全に把握できないので、機内感染がおきたという特異性に限界がある。しかし、2次感染例が中央キャビンに集中していたことから感染は機内で起きたと考えるのが妥当であろう。
- 3) 1次感染や2次感染という区別は、乗客の発症日時の申告に依存しているので、記憶違いの可能性も残る。
- 4) 確認バイアス、すなわち感染者の出たクルーズ船で濃厚接触と言われた乗客は、具合が悪いとより検査を求めたのかもしれない。
- 5) PCR検査は症状のある乗客のみに施行し、全員に施行したものではないことと、感度は100%ではないので過小評価している可能性がある。これは、無症状患者からの感染もあるので、2次感染と考えられている人でも無症状患者から感染したことを否定できない。

オーストラリアにおける中程度の時間のフライトにおけるSARS-CoV-2の機内感染を報告した。SARS-CoV-2からの感染を決定するのにWGSが役に立った。

航空業界では飛行機での旅は安全とされていますが、搭乗者と機体の問題に注目し、実際おこっている事例を詳細に検討し、対策を立てることが重要と思われます。以下、気がつくところを並べてみると、

- 1) 事前の体温検査や申告だけでは感染者を発見できない（とくに不顕性感染や、発症前の感染者はのがれてしまう）、
- 2) マスクを外して会話するだけでウイルスが拡散するので、空気感染を予防しきれない（接触、飛沫よりウイルス量が多い）
- 3) 感染は人の移動や機内の空気の流れにも影響され、遠くの座席に及ぶ可能性がある
- 4) 飛行機内の空調・換気システムの作動状況が不明である エンジンが停止している状態（搭乗時など）では換気は作動しない場合がある エンジンによっては取り入れる空気にガス(fume)が含まれ有害である フィルターは高性能フィルター（HEPA）が使われているので問題ないとされる

#### 文献

- 1) 避難便における SARS-CoV-2 の無症候性感染 新型コロナウイルス感染症 30 の研究  
松井英男著 VH 出版 2020 pp84-86
- 2) Choi EM, et al. In-flight transmission of severe acute respiratory coronavirus 2. *Emerg Infect Dis.* 2020 Nov [cited 2020 Oct 17]  
doi:10.3201/eid2611.203254
- 3) Khanh NC, et al. Transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 during long flight. *Emerg Infect Dis.* 2020 Nov [cited 2020 Oct 17]  
doi:10.3201/eid2611.203299
- 4) Speake H, et al. Flight-associated transmission of severe acute respiratory coronavirus 2 corroborated by whole-genome sequencing. *Emerg Infect Dis.* 2020 Dec [cited 2020 Oct 17]  
doi:10.3201/eid2611.203299

## 27 アイスホッケー試合による COVID-19 集団感染

特定のスポーツ試合による COVID-19 感染拡大の報告はほとんどありませんでしたが、米国フロリダ州保健省の Atrubin ら<sup>1)</sup>がアイスホッケー試合後の集団感染について報告しています。

2020年6月16日にフロリダ州タンパ湾の都市部でアイスホッケーの試合がスケートリンクで開催された。チーム A とチーム B はそれぞれ 11 名ずつ（6 名がスケートリンクで 5 名がベンチにいた）で、全員が男性で年齢は 19 歳から 53 歳であった。試合後 5 日の間に 15 名（22 名の選手のうち 14 名と、リンクのスタッフ 1 名）が COVID-19 様の症状をきたし、13 名が PCR 検査で陽性であり、SARS-CoV-2 感染と診断された。これまでに、SARS-CoV-2 の広範囲にわたる感染拡大は、1) コーラスの練習、2) 食肉加工工場、3) 韓国のフィットネスダンス教室、4) スロヴェニアのスクアッシュ場などで報告されているが、特定のスポーツ競技中の感染拡大はほとんど報告されていない。

2020年6月19日、チーム A の選手（最初の患者, the index patient）が6月17日より発熱、咳嗽、咽頭痛、頭痛などの症状を認め、SARS-CoV-2 抗原検査（Sofa SARS Antigen Fluorescent Immunoassay）で陽性であったとの報告が、フロリダ州保健省にあった。その後の調査で、チーム A の 10 名の選手のうち 8 名（最初の患者を除く）と 11 名のうち 5 名のチーム B の選手、および 1 名のリンクスタッフが COVID-19 様の症状があり（6月18日から 21 日にかけて）、これは試合から 2-5 日後に相当した。最初の患者を除外すると、21 名中 13 名(62%)の選手が病気になった。この集団感染の全体で 15 名のうち、11 名が RT-PCR で陽性であり、2 名が抗原検査で陽性、残りの 2 名は検査を受けなかった。また、無症状の選手は検査をしなかった。

アイスホッケーの試合は、激しい身体運動を伴い、深く重い呼吸をする。さらに、試合中は激しく呼吸をしている状態で、リンクからベンチへ移動する。この試合では、ホッケー専用の顔面保護具（金属のカゴやプラスチックのハーフシールド：目や鼻を保護する）は様々であり、顔面保護具をつけない選手もいた。試合やロッカールームでは布マスクの装着はしなかった。米国の標準的なアイスホッケーのリンクの大きさは、61m by 26m で、3m の高さの板とプレクシガラスの仕切りがリンクを覆っている。リンクでの 60 分の試合時間中は選手どうしの間隔は 180cm 以内になり、それぞれのチームはロッカールームを利

用していた（普段は試合の前後 20 分）。選手は試合前の 1 週間は他の一般的な感染源への暴露はなかった。SARS-CoV-2 の潜伏期間の中央値は 4-5 日であり、暴露から発症までの幅は 2-14 日と考えられている。試合中の他の選手からの感染は否定できないが、最初の患者が発症前に SARS-CoV-2 の感染源になったと考えられた。

アイスリンクは、COVID-19 の感染に都合の良い場になる。すなわち、室内で、深呼吸をする機会があり、選手同士はお互いに接近するからである。イタリアの研究で、感染した人の口腔内のウイルス量をもとにした SARS-CoV-2 ウイルス排出量の推計では、激しい運動をしている時には口呼吸からのウイルス排出量が多いことがわかっている。チーム A での感染者が多いのは、他の選手がロッカールームやベンチで最初の患者にさらにウイルスを暴露させたことが原因かもしれない。

この調査の限界としては、すべての選手が検査を受けたわけではなく、不顕性感染者は捉えられなかったことである。ホッケーの試合では、室内空間で選手同士が密接な接触をするために、選手への感染リスクやスーパースプレディング事例 (SSE) が起こりやすくなる（とくに COVID-19 感染地域）。SSE とは、一人の感染者が多くの感染者を生み、初期の爆発的感染拡大の際の感染増加につながり、感染が持続することでやがて爆発的感染拡大につながるとされる。この試合では比較的少ない選手が感染し、唯一 1 名の観客は症状がなく、検査はされなかった。しかし、ホッケーの試合は通常各チーム 20 名まで選手が参加でき、アリーナでの観客数も多い。

今回の事例で、激しい身体活動を伴う室内競技活動中に SARS-CoV-2 の感染が起こり得るという証拠を示した。これに応じて、フロリダ州保健省のスタッフは、今回の試合の参加者に隔離の指示を出し、アイスリンク運営上の COVID-19 リスクと感染対策を指導した。

#### 文献

- 1) Artubin D, Wiese M, Bohinc B. An outbreak of COVID-19 associated with a recreational hockey game-Florida, June 2020. MMWR 69(41):1492-1493, 2020

\* 日本では、剣道や柔道の練習で同様のクラスター発生事例があります。

## 2 8 抗加齢薬で免疫機能を高める

COVID-19 の治療として、高齢者に対して抗加齢薬を用いて免疫機能を高める取り組みがなされています。ここでは、Nature news feature (14 Oct, 2020)の記事<sup>1)</sup>を紹介します。

高齢者にとって COVID-19 は脅威であるが、ワクチンの効果はあまり芳しくない。そこで科学者達は、免疫機構を若がえらせる薬剤に期待している。

ワインと違って、人間は年をとるにしたがって身体は良くなる。むしろ、耳は遠くなり、皮膚はたるみ、関節は動かなくなる。そして、身体の免疫機構も次第に衰える。この免疫が衰えることは、**免疫老化 (immunosenescence)** と呼ばれ、高齢者が COVID-19 にかかると重症化することと関連がある。そして、もうひとつ厄介な問題がある。それは、ワクチン、これは侵入者に対して免疫を刺激するのだが、高齢者ではあまり効果がないことが多いのだ。

高齢者では、免疫機構の高齢化により感染が起こりやすくなり、ワクチン効果を弱めることがわかっている。6 月に米国食品医薬品局は、COVID-19 ワクチンにより、効果が期待できる接種者の少なくとも約半数を防御しなければならない、という通達を出した。しかし、高齢者に対してはこの目標は敷居が高い。

「若年者と同様の効果が高齢者にも期待できるワクチンは存在しない」、そう述べるのは、ワシントン大学 (シアトル) の老年医学者の **Matt Kaeberlein** である。

ヒトの免疫機構は心がおれるくらい複雑だ。加齢はすべての要素に影響を与える。いくつかの免疫担当細胞は少なくなる。例えば、新しい侵入者に対して働くナイーブ T 細胞は高齢成人で数が少なく、侵入する病原体を標的にする抗体を作り破壊する B 細胞も減少する。加えて、高齢者は慢性の低いレベルの炎症を経験する。これは、**加齢に伴う炎症 (inflammaging)** と呼ばれる。炎症反応のあるものは健康な免疫反応では重要だが、この持続的な内的活性化は外敵に対しては反応が鈍い。「この包括的な慢性炎症は、われわれが高齢者で目にする免疫機能不全である」と先の Kaeberlein は言う。最終的には感染に対しては反応が乏しく、ワクチンにも鈍い反応しか起こさない。

ヒトで試験されている 50 種類もの COVID-19 ワクチンについても、研究者はそれを高齢者にいかに用いるかについては明確ではないという。56 歳以上、

40名の被験者による phase I 研究で、モデルナ社（マサチューセッツ州ケンブリッジ）は、ワクチン候補の mRNA-1273 は、若年者と同様の抗体産生を高齢者でも惹起したとしている。中国北京のシノバック社は、の同社のコロナワクチンが、phase I/II 臨床試験で若い人と同様に高齢者でも効果があったと発表した。しかし、phase I でファイザー社とビオンテック社(西ドイツ、マインツ)のワクチンの効果は、高齢者では若年者の半分であったと表明した。高齢者でもワクチン接種により、同年齢の COVID-19 感染者より多くの抗体を産生するのであるが、これらの抗体レベルがウイルスの防御に繋がるか不明である。多くのワクチン試験は高齢者を含んでいるが、最近の 18 種類の臨床試験を検討した結果、半数が基礎疾患などにより高齢者を除外していることがわかった。

もし、COVID-19 のワクチンが高齢者で効果を発揮できないのであれば、インフルエンザワクチンと同様、より強い反応を起こすような検討をすべきである。インフルエンザワクチンでは、免疫増強作用のある物質を含むものや、抗原量を増やしているものがある。しかし、もっと良い方法があるという科学者がいる。彼らは、ワクチン効果を増強し、ウイルスとより効率的に戦うような薬物を開発・試験している。加齢による免疫の限界に取り組むのではなく、それを若返らせるのである。

## 永遠に若い

多くの研究者が加齢現象に拮抗する古くからの方法を発展させている。過去 10 年間で、この問いに答えるような分子標的を見つけることに関してはかなりの進歩がみられている。

抗加齢に有望な薬剤は、細胞の成長に関与する経路を標的にする。これは、**mTOR** として知られる蛋白を抑制する薬剤である。研究室では、mTOR を抑制することで、ハエからマウスまでの動物で寿命が長くなった。「mTOR はおそらく、我々が歳をとり臓器が衰弱していくことに関与している多くの生物的な仕組みの一つである」と述べるのは、マサチューセッツ州ボストンにあるバイオテック企業の resTORbio 社の共同創業者である Joan Mannick である。2018 年に発表された研究で、当時ノバルティス研究所にいた Mannick らは、高齢者で mTOR 発現を減弱した結果、免疫反応や感染率がどうなるかを検討した。264 名の参加者が低用量の mTOR 阻害剤ないしは偽薬を 6 週間投与された。その結

果、投与群では、研究が行われた翌年の感染率が低下し、インフルエンザワクチンに対する反応も増加していた。この結果をもとに、Mannick は、resTORbio 社において、2019 年に **mTOR 阻害剤 RTB101** の phase III 臨床試験を開始し、高齢者を呼吸器感染症から守れるかを検討した。

残念ながらこの試験は、予想された結果を出すことができなかった。その原因は、試験の初期では感染の確認が検査ではなく、症状の自己申告によるものだったことが考えられる。これにより、「多くのノイズ」が生じたと、イギリスシェフィールド大学の Ilaria Bellantuono は述べている。「差を見るためには、さらに大きな集団が必要であっただろう」。

それにもかかわらず、臨床試験の結果は mTOR 阻害剤を投与された患者は、循環するコロナウイルスからの重症感染を受ける頻度が少なく、偽薬群と比較して回復も早かった。この試験は、SARS-CoV-2 出現以前のものであったが、RTB101 は感染の重症度を和らげる可能性があるという。現在 resTORbio 社は、65 歳以上の看護施設の住人 550 名を対象とした試験を実施中である。

RTB101 はすでに認可されている TOR 阻害剤と同様の薬であり、それは免疫抑制剤の **ラパマイシン** である。少なくとも 4 つのグループが、少ない数ではあるが COVID-19 の治療薬として感染者にたいしてラパマイシンを投与する試験を行っている。一つのグループは、対象が 60 歳以上の高齢者に限定しておこなっている。

2 型糖尿病の薬剤である **メトフォルミン** も同様に、間接的ではあるが、mTOR の活性を下げる。ある研究では、メトフォルミンを内服している患者は、COVID-19 に罹患しても、入院や死亡することが少ないことを示唆している。中国の少数の後ろ向き研究でも、COVID-19 での入院患者の死亡率は、メトフォルミン内服群が 2.9%であったのに対し、そうでない群は 12.3%であった。ミネソタ大学（ミネアポリス）の研究者は、COVID-19 で入院した平均年齢 75 歳で肥満ないしは糖尿病でメトフォルミンを内服していた患者のデータを解析したところ、メトフォルミンを内服していた女性での死亡率が有意に低かったが、男性ではその傾向はなかった。

ミネソタ大学の研究を指導した、肥満研究家の Carolyn Bramante は、糖尿病や肥満は、高齢者で起こるような免疫の欠損状態に繋がると考えている。彼女らは、年齢 30 歳以上の 1,500 人規模の研究で、メトフォルミンが SARS-CoV-2 感染を予防し、すでに感染している人の最悪の結果を防ぐのかどうかを研究す



る臨床試験を開始した。

一方、コネチカット大学 (ストール) で加齢の研究をしている **Jenna Bartley** は、高齢者でメトフォルミンがインフルエンザワクチンの反応を促進するかの研究をしている。このアイデアは、マウスの実験に基づいているが、メトフォルミンが T 細胞のエネルギー代謝を改善するというものであり、新しい脅威をより感知するのに役立つ。**Bartley** はデータを集め終わっているが、研究室がコロナの影響で閉鎖されているので結果を手にするにはもう数週間かかるという。

もし、メトフォルミンが COVID-19 にたいして効果があるとすれば、研究者は何故なのかを明らかにしたいであろう。**Kaeberlein** は、メトフォルミンがどうやって働くのかは、この薬には多くの標的があるのでだれもはっきりしたことはわからないという。この薬は、そもそも最初は抗インフルエンザ薬として開発された。**Bramante** は言う、「これは炎症を抑えるのを助ける薬です」。機序はわからないものの、この薬の利点は何十年も使用されて総合的に見て安全であるということである。小児も服用できるし、妊婦もしかりである。「メトフォルミンはフォローなしに予防的に 12 ヶ月処方でき、費用も月 4 ドル以下です」と **Bramante** は言う。

## 鎮痛香油

mTOR は古典的な抗加齢の標的であるが、唯一のものであるわけではない。「実際、多くの加齢に関する経路が互いに関連している」、と メイヨークリニック クロチェスター (ミネソタ) で細胞の加齢と疾患を研究している **James Kirkland** は言う。「もしひとつを標的とすれば、残り全部に影響が出るということだ」と彼は言う。加齢とともに起こる多くの免疫の変化はひとつの結果につながる。すなわちそれは、**炎症**である。したがって、研究者達はこの症状を和らげるような薬物を探している。

**Arne Akbar** はロンドン大学の免疫学者であるが、抗炎症薬の **ロスマピモッド** が、これは筋ジストロフィーの治療用に開発されたものだが、免疫を高めるのに役立つことを示した。2018 年の研究で、研究者達は高齢者成人の皮膚に水瘡ウイルスを注射した。これらの人たちは、すでに水瘡に暴露されていたのだが、彼らの免疫反応はぱっとせず、過度の炎症によって妨げられた。ところが、研究の参加者にロスマピモッドを与えたところ、炎症反応を 70%抑制し、免疫反応も改善した。

製薬会社、それは **Fulcrum Therapeutics** というケンブリッジ（マサチューセッツ州）の会社であるが、現在ロスマピモッドを開発中であり、6月に400人規模の **phase III** 臨床試験を開始した。それは、**COVID-19** で入院した高齢者の死亡や、呼吸不全になるのを防ぐことができるか、という試験である。

他の薬剤、**セノリティクス（老化細胞除去薬）** は、分裂をやめてしまったが死ぬことはない体細胞を賦活化する。これら老化の細胞は、典型的には免疫細胞によって除去されるが、加齢によって蓄積し炎症を強める。8月に、**Kirkland** やメイヨークリニックのチームは、70人の試験で、セノリティクスのうち**フィセチン**（イチゴの成分として発見され、サプリメントとしても使用されている）が60歳以上の高齢者の **COVID-19** の進行を抑えるかどうかの臨床試験を開始した。彼らはまた、フィセチンが看護施設にいる高齢者の **COVID-19** 感染を防ぐかどうかの試験も計画している。

「老化とは事実、加齢の鍵となる因子である」というのは、**ノバト（カリフォルニア州）** にあるバック加齢研究所の所長兼最高経営責任者である **Eric Verdin** である。セノリティクスは現在のところ、臨床での治療使用が許可されていないが、「これは、あまり研究されてこなかった領域である」と彼は言う。

**Kaeberlein** は、多くの製薬会社は抗加齢薬を予防薬として使用する前に、治療薬として追い求めるであろう、と述べている。「実際病気にかかっている人にとっては、治療を許可してもらう方が簡単なのだ」と彼は言う。彼は、**mTOR** 阻害剤は最も希望があるという。「もし私が、**COVID-19** のパンデミックの最初にもどってひとつのことを試みるとしたら、私は **mTOR** 阻害剤、とくにラパマイシンを選択する」、と彼は言う。彼の大まかな計算によれば、ラパマイシンがマウスと同様に人にも効くとすれば、**COVID-19** の死亡率は90%低下するという。

**Kirkland** は、ワクチンの前にこれら抗加齢薬を、最初に投与することを想像している。「人々にワクチンを投与するまさにその時に、われわれは根本的な加齢メカニズムを標的にする方法を考えなくてはならない」と彼は言う。「しかし、これをするのに安全で効果的な方法を見つけなければならない」。

## 追加の材料

もし、免疫機構を微調整するのがあまりに挑戦的であるならば、ワクチンそのものの動力を上げる方法があるかもしれない。インフルエンザに対しては、65

歳以上の高齢者用の特別な 2 つのワクチンがあり、これは免疫機構を反応できるところまで到達するのを助ける。そのひとつは、**Fluzone High-Dose** であり、ウイルス抗原を通常の 4 倍含む。もうひとつは、**Fluad** であり、これは免疫を高める物質、アジュバントを含んでいる。

ワクチン研究家で、マサチューセッツ州ボストン小児病院でとくに高齢者の COVID-19 ワクチンに取り組んでいる **Ofer Levy** に率いられたチームは、最良のアジュバントを見つけるのに *in-vivo screening system* を用いている。彼は、「ワクチンは、ひとつですべてにあてはまる、というものが開発される」と言う。しかし、多くの要因、年齢、性別、そして季節ですらワクチンの反応に影響する、と Levy は語る。アジュバントとワクチンの最良の組み合わせは、マウスで試されヒトに応用される。

しかし、一般的に、免疫の働きを改善する薬剤を開発することは、ワクチンを作ることより、とくに高齢者にとっては賢明な方法だ、というのはオハイオ州シンシナティ小児病院医療センターの免疫学者である **Claire Chougnet** である。彼女は、老齢マウスにおける炎症について研究している。ワクチン開発は経費や時間がかかる。「突然出現するウイルスに対しては、もし迅速な対応を 2 つの型のワクチンに対してするのであれば、事情はさらに複雑になる」、と彼女は語る。加えて、個々のワクチンは特異的な病原体を標的にするが、免疫を高める薬剤はどのワクチンとも併用できる。「それは、インフルエンザにも効果があり、COVID-19 にも、さらには COVID-25 にも有効でしょう」、と彼女は言う。この方法は、「かなり用途が広い」のである。

**Verdin** (バック加齢研究所) は、高齢者の免疫機構を支持することが最優先であるということに賛同している。「これらすべての結果として、高齢者の免疫反応の欠陥を理解する上での新しい関心がうまれるだろう」。これの意味するところは、コロナウイルスにとどまらず、ほかの疾患、たとえばウイルス感染やガンまでにおよぶのである。「COVID-19 は多くの人々が無視していたことを前面に押し出してきたのである」。

文献

- 1) Willyard C. How anti-aging drugs could boost COVID vaccines in older people. Nature 586, 352-354 (2020) doi:10.1038/d41586-020-02856-7

COVID-19NR28 2020/10/20 川崎高津診療所

## 2.9 病初期の COVID-19 患者の呼気中には 1 時間に何百万もの SARS-CoV-2 ウイルスが含まれる

COVID-19 患者の呼気中、病棟の空気、物の表面に付着した SARS-CoV-2 ウイルスを定量した、中国北京大学の Yao ら<sup>1)</sup>の報告です。

SARS-CoV-2 が空気中、換気扇、病院の床で検出され、キーボード、携帯電話、患者の手なども検査で陽性であったとの報告がある。また、物体表面や空気中ではウイルスが長時間生存するとの研究もある。ところが、COVID-19 感染が広がるルートについてはいまだに議論が多く、いかにして SARS-CoV-2 が空気中に放出されるかについての証拠が乏しい。最近になり、科学者たちは、COVID-19 の空気感染を認識し始めた。それにともない、WHO もガイドラインに変更を加えている。われわれは、COVID-19 患者の呼気中のウイルス量を環境検査とともにに行った。

中国北京市の病院 A, B の COVID-19 患者 57 名と、そうでない患者 4 名、さらに健康者 15 名を対象とした。北京大学で開発された BioScreen によって濃縮された呼気(Exhaled Breath Condensate, EBC)検体のうち 20 検体は海外から、さらに 29 検体は病院 A の集中治療室ならびに一般病棟より集められた。全体で 49 名の COVID-19 患者から 52 の EBC 検体が集められた。また、26 の空気サンプルが集塵機で集められ、242 の表面ぬぐい検体(10cm<sup>2</sup> ないしは 25cm<sup>2</sup>)が濡れた綿にて集められた。すべての検体で RT-PCR (Roche 96 fluorescence qPCR) を行い (*ORF1ab*, *N* 遺伝子を標的)、検出キット (Jiangsu Bioperfectus Technologies) を用いた。ウイルス量は、RNA 増幅の公式により求めた。

### 結 果

全体の SARS-CoV-2 陽性率をみると、EBC で 26.9% (n=52) だったが、表面検体と空気検体では低かった (それぞれ、5.4%, n=242; 3.8%, n=26)。Ct 値は、EBC で  $35.54 \pm 3.14$  であった。この値は、患者間でばらつきがあったが、病初期の症例で高かった。このことから、呼気によるウイルス排出率は、1.03 x 10<sup>5</sup> から 2.25 x 10<sup>7</sup> viruses per hour (n=14) と考えられた。ウイルスの同定キットは、*ORF1ab* と *N* とでは増幅効率が異なった。EBC 検体の 2 例 (A, B) では、SARS-CoV-2 が陽性であったが、彼らのスマートフォン、手、トレイ表面から

はウイルスは検出されなかった。一般病棟の患者 C では、患者ベッドの下にある換気口からウイルスが検出された。このように患者の呼気は、空気を汚染することに加え、表面汚染の原因とも考えられた。26 例の空気検体（ロボット使用を含む）のうち 1 例で、隔離ホテルの換気されていないトイレでウイルスが検出された ( $6.07 \times 10^3$  viruses/m<sup>3</sup>)。患者 D の枕や手から検出されたが、患者の呼気からは検出されなかった。空気検体からの陽性率は低かったが、患者ベッドの換気口から検出されたことを考えると、患者が滞在する病院などでは空気の汚染が起こっていると考えられる。242 の表面検体のうち、13 例は SARS-CoV-2 が陽性であった。これは 5 つのカテゴリーに分けられ、トイレのピット(16.7%, n=12)は最も効率で、以下、病院の床(12.5%, n=16)、患者が触れた部位(4.0%, n=149)、医療従事者が触れた部位(2.6%, n=38)であった。Ct 値は  $36.38 \pm 1.92$  であり、物の表面で運ばれるウイルス量は、 $7.10 \times 10^1$  から  $1.72 \times 10^3$  viruses/cm<sup>2</sup> と考えられた。驚いたことに、COVID-19 陽性患者のモバイルフォン 22 検体のうち陽性だったのはわずかに 2 例であり、26 例の表面検体からウイルスは検出されなかった。このことから、COVID-19 において接触感染が主な感染様式であるという観測は、かならずしもあてはまらないと考えられた。

## 考 察

はじめて、われわれは SARS-CoV-2 が COVID-19 患者の呼吸によって直接空気中へ放出されることを示した。SARS-CoV-2 の検出限界は、PCR では 100 RNA copies/ $\mu$ L と言われている。換算式を使って、Ct 値から SARS-CoV-2 の呼気中の含有量は  $10^5$ - $10^7$  copies/m<sup>3</sup> と考えられた (平均呼吸数を 12 L/min として)。SARS-CoV-2 の呼吸による放出率は多くの因子、例えば病期、患者の活動度、おそらく年齢などによって異なる。COVID-19 の病期が初期において、呼気から空気中のウイルス排出率は最大  $10^5$  viruses/min であった。この結果は、以前の報告で、咽頭の SARS-CoV-2 ウイルス量が最大になるのは症状発現時であるとの結果と一致する。この研究からの別の重要な発見は、SARS-CoV-2 の放出は、同じ率で持続するものではなく、散発的であるということである。例えば、2 つの EBC 検体 (EBC-1, EBC-2) は患者 E から異なる日に集められたが、同じ方法を用いても異なる結果が得られた。

SARS-CoV-2 は、以前では病院の空気の微細な粒子として検出された。1  $\mu$  m

の蛍光生物学的粒子のピークは、健康人の呼気中で観察された。SARS-CoV-2 が陰性の空気検体は、SARS-CoV-2 の量が少ないため、あるいは、消毒薬による不活性化、新鮮な気流（一般病棟では、2.5 m<sup>3</sup>/min、ICU では一時間に 12 回の交換）による急速な希釈や除去によるためかもしれない。トイレの空気での SARS-CoV-2 の存在は、呼気中のウイルスや、トイレからのウイルスのエアロゾル化が原因かもしれない。無症候性患者からの COVID-19 感染拡大が報告されている。無症候性ウイルス保有者は、呼吸による飛沫を生じるような咳をしたり鼻をかんだりすることはない。したがって、病気の伝播が呼吸による飛沫で伝わると説明することが困難であり、むしろ微細なエアロゾル経由であると考えの方が理にかなっている。

SARS-CoV-2 の主たる感染経路は、今まさにおこっている COVID-19 の爆発的感染拡大を阻止するためにも遮断されなければならない。WHO によれば、COVID-19 の主たる感染経路は、大きな飛沫や直接の接触であるという。これとは対照的に、われわれは、COVID-19 患者のよく使用するモバイルフォン (9.0%) やいろいろな取手(0%)からは、SARS-CoV-2 はほとんど検出できなかった。SARS-CoV-2 の空気感染は、実際の生活の中の半密閉型な空間で COVID-19 が広がるのに重要な役割を果たしている。例としては、ワシントン州の合唱団や、中国広州市のレストランにおける集団感染である。今回は、他のウイルス放出活動、たとえば会話や歌などでの感染性や伝達性は検討しなかったが、われわれの研究により、呼気の放出が SARS-CoV-2 の空気中への放出に重要な役割を持っていることが明らかになった。これにより、観察されている空気感染による集団感染や、現在起きている爆発的感染拡大に大きな影響を与えていると思われる。したがって、SARS-CoV-2 の空気感染の危険を減らすためには、換気を促進し、マスクを装着することが不可欠である。

文献

- 1) Ma J, et al. Coronavirus disease 2019 patients in earlier stages exhaled millions of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 per hour. Clin Infect Dis 2020  
doi: 10.1093/cid/ciaa1283

### 30 COVID-19 の受刑者に短時間で複数回の暴露をした刑務官の COVID-19 例

米国疾病予防管理センター(CDC)は、最近「濃厚接触」の定義\*を変更しましたが、その根拠となった刑務所内の感染事例に関する報告<sup>1)</sup>です。

2020年8月11日に、20歳の刑務官の COVID-19 事例がベルモント州保健省 (VDH)に報告された。7月28日に、この刑務官は6名の受刑者(収監ないしは拘留者)と、SARS-CoV-2 の検査結果待ちの状態、短時間だが複数回の接触をした。6名の無症状の受刑者は、州外の刑務所から7月28日に移送され、隔離施設に収容された。ベルモント州法務局(VDOC)の州刑務所に関する指針により、到着時に受刑者から鼻咽頭ぬぐい液が集められ、SARS-CoV-2 の RT-PCR 検査が州保健省研究所で行われた。そして、7月29日に6名全員の陽性が確認された。このため、VDH と VDOC は接触者追跡をおこなった。そして、ビデオ映像から、この刑務官は「濃厚接触者」にはあたらない、すなわち感染者と 6 feet (1.8m) の距離内で連続 15 分以上の接触があったわけではない、と判断した。そのため、この刑務官は勤務を継続した。勤務の終わりの8月4日になり、彼は、無臭、筋肉痛、鼻汁、咳嗽、息切れ、頭痛、食欲不振、胃腸症状を訴え、8月5日から自宅で待機した。8月5日に採取された検体が、民間の検査会社で SARS-CoV-2 陽性と診断されたのは8月11日になってからであった。この間、仕事以外で人との接触が2回あったが、いずれも COVID-19 を発症しなかった。彼の症状が始まった7日前の7月28日に、この刑務官は6名の受刑者(後で SARS-CoV-2 陽性と判明した)に、短時間ではあるが複数回暴露していた。入手可能なデータからは、少なくとも無症状の受刑者のうち1人が、この短い接触の間に SARS-CoV-2 を感染させたと考えられた。

次に、VDH と刑務所の職員は、この刑務官のビデオ映像を見直し、勤務時間内の刑務官と受刑者の詳細な接触状況を検討した。この刑務官は、受刑者と 6 feet 以内、連続的に 15 分以上の接触はなかったが、多くの短時間(だいたい1分間)の接触が累積して 15 分を超えることがわかった。7月28日の8時間の勤務時間の間に、刑務官は、受刑者と 6 feet 以内の接触を計 22 回、独房のドアを開けたままおこなっており、累積すると 17 分に及んでいた。受刑者はマイクロ線維のマスクを、独房外での接触の間はほぼつけていたが、通路やレクリエーション室ではつけていなかった。一方、刑務官はマスク、ガウン、ゴーグル、

手袋をつけていた。刑務官のこの接触前の2週間には他のCOVID-19患者との接触はなく、州を超える旅行もしていない。また、この時の近隣のCOVID-19感染率は低かった（人口10万あたり、20例）。したがって、最初は濃厚接触とはならなかった、短時間で複数回の接触により感染が起こったと考えられた。VDHによる濃厚接触をした7名の刑務官のうち1名が陽性となった。13名の従来の濃厚接触に相当しない刑務官のうち、陽性だったのはこの刑務官1名であった。

厳密に「濃厚接触」と定義するデータは限られているが、多くの状況で、「15分の近接した暴露」が調査上の定義として用いられている。濃厚接触と定義する他の因子としては、近接の程度、暴露時間、感染者に症状があるかどうか、感染者が呼吸によるエアロゾルを発生するかどうか、換気や混み具合などの環境因子が挙げられる。接触者追跡の第一の目的は、暴露の危険や感染を発症する可能性が高い人を同定することであり、これは隔離や就業制限を決定する目安になる。最初の検討では、刑務官は濃厚接触をしていないと考えられたが、詳細なビデオ映像を検討することで、累積の暴露が15分を超えることが明らかになった。刑務所では、受刑者と刑務官の6 feet 以内の接触は頻回であり、このような状況では、公衆衛生当局は累積接触時間による感染リスクを考慮すべきである。

\*米国CDCによれば、濃厚接触(close contact)とは、「感染者と6 feet (1.8m)以内の距離で、連続して15分以上の接触があった場合」でしたが、この事例を契機に、「感染者と6 feet 以内の距離で、24時間以内に累積して15分以上の接触があった場合」、というように変更されました。  
<https://www.cdc.gov/coronaviruss/2019-ncov/php/contact-tracing/contact-tracing-plan/appendix.html#contact> [cited Oct 24]

文献

- 1) Pringle JC, et al. COVID-19 in a correctional facility employee following multiple brief exposures to persons with COVID-19-Vermont, July-August 2020. MMWR Oct. 21, 2020



### 3 1 COVID-19 患者のリンパ節と脾臓では Bcl-6 発現濾胞ヘルパーT 細胞と胚中心が欠損している

COVID-19 患者では免疫機構の変調が報告されている。例えば、発症後の血中抗体価の測定では、IgM と IgG の出現時期がほぼ同じ経過をたどり、スパイク蛋白に対する抗体遺伝子は、ナイーブな germ line 型であり、突然変異が蓄積された成熟型ではなく、液性免疫の出現期間も短い。さらに、分離された抗体の中には、かなりの比率で自己組織に対する自己抗体が存在する。また、血中サイトカイン、とくに IL-6, IL-8 の上昇がみられるが、リンパ球は減少している。これまでの研究は、末梢血を用いた研究が主だったが、MIT and Harvard (Ragon Institute of MGH)の Pillai らのグループ<sup>1)</sup>は、COVID-19 患者の病態別のリンパ節ならびに脾臓組織を用いた検討を行い、以下の点を明らかにした。

- 1) COVID-19 により死亡した患者の剖検で得られた、胸部リンパ節と脾臓組織を用いた検討を行ったところ、「胚中心」とよばれる構造が欠損していた。これは、記憶 T 細胞と B 細胞が特殊な樹状細胞の周囲に集まり、外来抗原に対して高い親和性を有する抗体を産生する細胞へと進化し、抗体のクラススイッチが起こる場所である。さらに、記憶 B 細胞への進化に必要な細胞や分子の発現を調べると、Bcl-6 を発現する B 細胞がほとんどないことがわかった。また、同時に、胚中心で働く Bcl-6 を発現する濾胞ヘルパーT (T<sub>FH</sub>)細胞も減少していた。すなわち、B 細胞だけでなく、胚中心での進化に必要なヘルパーT 細胞が減少していた。
- 2) 胚中心の形成に影響するサイトカインの発現を調べると、TNF $\alpha$ の発現が上昇しており、SARS-CoV-2 感染によるサイトカインストームにより過剰発現した TNF $\alpha$ により T<sub>FH</sub>の分化が抑制されていると思われた。
- 3) リンパ節にはクラススイッチを調節する分子である AID を発現する B 細胞も存在するが、重症患者でも IgG クラスの抗体が検出されるということは、胚中心なしで B 細胞の成熟が起きていることが示唆された。
- 4) 胚中心の外で T 細胞に反応している B 細胞を検討すると、IgD と TNF 受容体を発現しない、ウイルス感染や自己免疫疾患でよく見られる B 細胞がクラススイッチ抗体を産生していた。さらに、T<sub>FH</sub>の分化が抑制されたので、T-bet を発現する T<sub>H1</sub>細胞数がリンパ節で増えており、これが B

細胞の成熟を助けていると考えられた。

- 5) 血中の早期移行 B 細胞および濾胞 B 細胞は重症 COVID-19 患者で減少していた。また、活性化 B 細胞の割合は重症患者で増加していた。この活性化 B 細胞は SARS-CoV-2 の受容体結合部位 (RBD) に特異的であった。

このように、COVID-19 の重症患者では、サイトカインストームにより TNF  $\alpha$  が上昇するために胚中心が形成されず、T 細胞と B 細胞の異常な相互作用が起こるため長期の免疫記憶は成立せず、このような状況下でも抗体を作り続ける結果、自己免疫反応を起こし得る状況になることが明らかになった。このように、抗体反応は調節されず、産生期間も限定的であることから、自然感染による集団免疫は困難と思われた。

文献

- 1) Kaneko N, et al. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. Cell 2020 doi: 10.1016/j.cell.2020.08.025

### 3 2 夏季学校での COVID-19 集団発生

米国ウィスコンシン州で発生した、高校生の夏季学校における COVID-19 集団発生事例についての報告です。

2020年7月2日から8月11日までに、COVID-19の感染拡大がウィスコンシン州での一泊の夏季学校で発生した。この合宿参加者は、全米21の州や領地、2つの外国からの152名の高校男子生徒、相談員、スタッフであった。参加者全員に、過去3ヶ月以内での血清SARS-CoV-2抗体陽性証明、ないしは旅行前7日以内のRT-PCR陰性証明の提出と、旅行前7日間の家での自己隔離、旅行中のマスク着用が義務付けられた。

合宿中はマスクの着用や社会的距離をとることは課せられず、生徒同士は自由に交流した。授業は屋外パビリオンで、一クラス20名ほど、テーブル間隔は2m以下で座って行われた。先生は、マスクを着用し、生徒との社会的距離をとった。127名の生徒は、一部屋4から6名のドミトリーないしはパオ（一部屋8名）に宿泊した。4名のスタッフは、4つの別々の居住区に宿泊した。7月2日に生徒たちはそれぞれの旅行で中継地に集合し、3台のバスに乗って現地入りした。7月3日になり、9年生の一人（最初の発症者）が、1週間以内ではRT-PCRが陰性であったが、咽頭痛、咳嗽、悪寒を訴え、7月5日にSARS-CoV-2のRT-PCRが陽性と判明した。のちに判明したことだが、彼の家族の一人も彼が出発して1週間後に検査が陽性になった。そのため、この生徒は現地で隔離され、11名の濃厚接触者（4名は同室者）も別々のドミトリーに隔離された。11名は迅速抗原検査で陰性であったので、7月7日に隔離を解除された。7月4日から7日の間に、11名の濃厚接触者のうち4名と、さらに18名の接触歴不明の生徒が軽度の症状を訴えた。これらの生徒にはマスクが配布されたが接触者追跡や隔離はされなかった。7月13日になり、11名の濃厚接触者のうちの1名がRT-PCR陽性と判明した。

7月15日に、ウィスコンシン州保健所(WDHS)は、2名の合宿参加者がSARS-CoV-2のRT-PCR検査が陽性であったという報告を受け調査を開始した。WDHSは、すべての参加者（実際は152名中148名）にRT-PCR検査をするよう7月28日に通達を出したが、7月20日以降、あらたな発症者はいなかった。さらに、血清検査の要請を8月5日-6日に出した。その結果、152名の参加者のうち、78名（51%）の参加者がRT-PCR検査で陽性であり（確定例）、

38名(25%)が臨床所見から COVID-19 疑いとなった (RT-PCR は陰性だったが検体採取は 11-22 日後、中央値は 16 日)。合宿の最後までには、148 名のうち 118 例 (78%) で血清診断が陽性であった。24 名の参加者で合宿前に血清診断が陽性であった生徒は、すべて RT-PCR は陰性であった。7 月 28 日の RT-PCR 後に WDHS は残る感染疑いの生徒 36 名 (症状なく、RT-PCR 陰性者) の隔離を命じた。この期日はすでに確立されたガイドラインに沿って行われ、CDC とともに決められた。すべての参加者は、8 月 11 日に高速道路や飛行機で帰宅した。78 名の RT-PCR 陽性者のうち無症状は 1 名のみであったが、他の全員は軽症ないしは中等症で入院や死亡事例はなかった。6 例で遺伝子検査が行われたが、SNIP が 0-1 個あるのみで同じ株と考えられた。

SARS-CoV-2 のキャンプなどでの感染拡大防止には、到着前の隔離と検査、コホーティング、症状の観察、早期の診断と隔離、マスクの使用、衛生と消毒の徹底、できるだけ外での活動をするなどの非薬理的介入が効果的であるとされるが、今回の事例では、血清抗体や RT-PCR の陰性証明、家での隔離などはおこなったがその他の実施が不完全であった。また、事前の隔離も 14 日にし、到着からの 14 日のコホーティングをしっかりとすれば今回の感染拡大は防げたのかもしれない。また、公衆衛生当局の初期での介入も重要である。今回の感染拡大で重要な点は、24 名の抗体陽性者が到着前に確認されていたことである。これらの生徒は全員が RT-PCR は陰性であったが、抗体が防御免疫を有し、それがどれくらい続くかについてはわかっていない。高い罹患率のなかでの RT-PCR 陰性は、ある程度の防御的な効果が存在することを示唆している。今回の事例では、無症候感染者が 1% しかいなかったのは、他の報告に比べると低い数字であるが、これは、スタッフが生徒に対して症状の報告を具体的に示したことより、軽症や遅延症状例につながったためと思われる。

この感染拡大の報告では、急速な SARS-CoV-2 の拡大が、おそらくは 1 名の生徒から、成人や若年層が密集する状況で発生した。このような状況では、感染緩和策 (非薬理的介入) が COVID-19 感染拡大を阻止するために必要である。

文献

- 1) Pray IW, et al. COVID-19 outbreak at an overnight summer school retreat-Wisconsin, July-August 2020. MMWR 69(43): 1600-1604, 2020

### 3 3 冬場に向けて COVID-19 の感染拡大は起こるのか？

北米、南米、ヨーロッパ、ロシア、インドなど中心に世界中の COVID-19 感染拡大が広がっており、ヨーロッパではロックダウンや外出制限が行われる国も出始めています。これから冬場を迎え、COVID-19 の勢いは増すのでしょうか。ここでは、Nature 紙に掲載された Mallapaty<sup>1)</sup>による解説記事を紹介します。

北半球では冬を迎えつつあり、研究者たちは COVID-19 感染状況が、とくに感染のコントロールができていない地域では、悪化することを警告している。「われわれは、これからとても驚くような困難な時期を控えている」と語るのは、カリフォルニアのスタンフォード大学の微生物学者である David Relman である。

インフルエンザ、コロナウイルスの一部などの呼吸器感染をおこすウイルスは、冬場に増えて夏場には減少する。SARS-CoV-2 にもこのような季節性の変動があるかどうかを語るのはまだ早すぎる、と研究者は言う。季節性のわずかな変動が冬場の感染拡大につながるという事実が集まりつつある。その元になっているのは、寒期におけるウイルスの広がり方や人々の生活様式である。

冬場になると人々は室内の換気の悪いところで交流するようになり、これにより、感染伝播の危険性が高まる、と語るのはマサチューセッツ州ボストンのハーバード医科大学の数学者である Mauricio Santillana である。

しかし、もし季節性の変動が少しあるとしても、感染拡大につながる一番の要因は多くの人々に免疫がないということだ、とニュージャージー州のプリンストン大学の疫学者である Rachel Baker は言う。ということは、これから夏を迎える地域でも安心はできないということだ。「感染拡大の規模を決める最も大きな要因は、感染制御策、例えば社会的距離をとることやマスクをすることだ」と Baker は言う。

ウイルス感染症の季節性変動は様々な要因の影響を受ける。例えば、人々の行動様式や、ウイルスの性質などである。研究室での実験では、SARS-CoV-2 は寒く乾燥し、とくに直射日光がない環境を好むという。例えば、人工的な紫外線は、表面に付着したりエアロゾルの状態（とくに 40℃あたり）の SARS-CoV-2 ウイルスを不活化する。感染性のあるウイルスは、温暖でより湿度の高い環境ではより早く分解する。冬には、人々は家の温度を 20℃あたりに

設定し、空気は乾燥し、換気も悪くなる、とプリンストン大学の数理生物学者である Dylan Morrisは言う。「冬場の室内環境はウイルスの安定化に好都合なのです」。

特定のウイルスによる感染に季節性の変化があるかどうかを見るために、研究者たちは、典型的には特定地域、一年における回数、何年にもわたる感染の広がり状況を研究する。しかし、時間の利点がない場合には SARS-CoV-2 の伝播における季節の関与を、世界中の様々な地域の感染率を見ることで研究する。

10月13日に発表された研究によれば、爆発的感染拡大の最初の4ヶ月における、ほとんどの国が感染制御を導入する以前の SARS-CoV-2 の感染増加を検討した。その結果、感染拡大は、紫外線の弱い地域で最も早く増加し、介入がなければ症例数は夏に減少し、冬にピークとなることが予想された。

しかし、スペインのバルセロナ大学の環境経済学者の Francois Cohenは、この研究は感染の爆発的増加の初期に限定されており、継続して信用できるものではないので、現在までのところ感染拡大に対する季節の影響を決めつけることはできない、と語っている。

## 気候の影響

Baker は、爆発的感染拡大の過程の季節的変動に対する気候の影響を解き明かそうとした。その際、用いたのが他のコロナウイルスの湿度に対する感受性である。彼女と同僚は、ニューヨーク市における気候の影響のある無しで、数年にわたる感染の増加と減少をモデル化した。その結果、季節の変わり目のわずかな気候の影響が、制御手段がかろうじて働いている状況では潜在的な感染爆発につながることがわかった。

もし、SARS-CoV-2 が寒い条件でより生存するとすれば、人々の行動様式の影響を解き明かすのは困難である、とロンドン大学衛生熱帯医学大学院の数理疫学者である Kathleen O'Reillyは語る。「インフルエンザは何百年もの間、世界中で流行していますが、なぜ冬場に感染のピークがあるかという特異的な仕組みはわかっていないのです」。

何年もの間、季節性の影響は、多くの人々が免疫を得るので、感染傾向を動かすものとして重要な部分であった。自然の感染では、これは5年ほどを要するが、もしワクチンを打てばそれより短い時間で可能になります、と Baker は言う。

しかし、SARS-CoV-2 の季節性の変化が現れるかどうかは未知の因子、すなわち免疫がどのくらい持続するか、再感染がどのくらい起こるのか、といったことに依存している、とワシントン DC のジョージタウン大学の生物学者である Colin Carlson は述べている。

#### 文献

- 1) Smriti Mallapaty. Why COVID outbreaks look set to worsen this winter. It's unclear whether COVID-19 is seasonal like the flu-but out-of-control clusters are likely to grow. Nature 586:653, 2020

### 3 4 学校はなぜ COVID-19 感染の温床ではないのか

小さな子供は SARS-CoV-2 ウイルスを広める可能性が低いことがわかっていますが、年長の子供はより危険性があると言われていています。今回、Nature news に掲載された Dyani Lewis の記事<sup>1)</sup>を紹介します。

世界中から集められた多くのデータが示すことは、学校はコロナウイルス感染症の温床ではないということだ。危惧とは裏腹に、爆発的感染が終息し、ロックダウンが解除され学校やデイケアセンターが再開されても COVID-19 の波は押し寄せなかった。そして、感染拡大が勃発しても病気にかかる人は、多くの場合ごくわずかであった。

しかし、研究結果が示すことは、子供はウイルスに感染し、ウイルス粒子を拡散させ、年長の子供は若い子供よりウイルスをうつす可能性が高いということだ。科学者たちはこの傾向の理由は明らかでないという。しかし、それには年長の子供や大人に対する政策的な意味合いがあるという。

学校や保育施設はコロナウイルスの感染にとっては理想的な環境だ。なぜなら、多くの人が室内で長時間集まるからである、と述べるのは、ベルリンのロベルトコッホ研究所で感染性疾患の疫学を研究する Walter Haas だ。世界的に見れば、COVID-19 の感染は、大人に比べれば子供では少ない、と彼は言う。「子供は、感染状況を操作するというよりそれに従っている」。

#### 教育的証拠

これまでの世界中から集められた情報によれば、地域での感染伝播が少ない場合、学校は安全に再開できることがわかっている。

しかし、地域での感染拡大が起きている場合でも、学校での爆発的感染拡大は、とくに感染を減らす注意が払われていれば一般的ではない。イタリアでは、9月に地域での感染者が増加しているにもかかわらず 65,000 もの学校が再開されたが、1週間後に感染爆発を起こしたのはわずかに 1,212 のキャンパスであった。その 93%の事例ではわずかに 1例が報告されたのみであり、10人以上のクラスターを生じたのは1つの高校のみであった。

オーストラリアのビクトリア州では、7月に第2波が襲ったが、学校や保育施設に関連した大規模な感染爆発は、部分的な学校再開ではあったが、やはり稀



であった。学校での 1,635 の COVID-19 感染例の 2/3 は単発例であり、91%は 10 人以下の小規模なものであった。

米国では、8 月の学校再開時には、まだ多くの地域での感染例が高いままであり、子供の感染率も増加傾向だった、と述べるのはアイオワ州シオシティーの小児科医で米國小児科学会のスポークスパーソンの Ashlesha Kaushik である。

英国の学校での爆発的感染でも、最初の感染者の多くは成人であったことがわかっている。6 月におきた学校での爆発的感染の 30 例の多くはスタッフ同士の感染であり、学生から学生へはわずかに 2 件であった。

### 小さな子供はあまり感染を伝播しない

なぜ学校が COVID-19 の温床にならないのかの 1 つの理由として研究者が疑うのは、とくに 12 歳から 14 歳以下の子どもは、成人と比べて感染の感受性が少ないことが横断研究のメタアナリシスでわかっている。そしてひとたび小さな子供が感染すると、0-5 歳を含む若い子供は他人にウイルスをうつすことが稀である、と Haas は述べる。ドイツの学校の研究では、Haas のチームは 6 歳から 10 歳までの子供は、それより大きい子供や学校で働いている成人にと比較して感染が少なかったことを発見した。「感染させる能力が」、年齢とともに増加するのである。そして、青年期では成人と同じ程度の感染力があると彼は言う。10 代の生徒と教師は、マスクをつける、地域での感染が増えている時にはオンライン授業に戻るなどの感染緩和策が必要である、と Haas は言う。

この感染性の年齢勾配は、他のデータからも明らかになっている。米国では、12 歳から 17 歳の感染率は、5 歳から 11 歳の 2 倍であることがわかっている。全米 47 州の 20 万人の学生を対象にした、ロードアイランドのプロヴィデンスにあるブラウン大学の経済学者である Emily Oster によって集められたデータによれば、感染者数は高校で最も多く、次いで中学、小学校の順であった。

しかし、「われわれは、実際のところ小児における感染伝播の自然史を理解していない、なぜならそれに対して軽減策をとっているからである」、というのはビクトリア学校の爆発的感染の研究に携わったオーストラリアメルボルン大学の小児科医である Fiona Russell である。

国の COVID-19 統計から集められた事実にも欠点がある。例えば米国では、症状のあるもののみを検査するという方針から無症候性感染が見逃されている。

## 謎に満ちたメカニズム

なぜ小さな子供が、新たなコロナウイルスを他人にあまりうつさないのかは謎である、と Haas は言う。1つの可能性として、小さな子供の肺は小さいので成人と比較して感染性のあるエアロゾルをあまり出せないのかもしれない。Haas が述べるには、これは結核では起こることだという。しかし、結核での感染は肺の中で広まるが、この点は SARS-CoV-2 とは異なり、ウイルスは上気道で感染する。この問いは、「私を悩ませる」、と Haas は言う。

他の可能性としては、子供は無症状のことが多いので、そもそもウイルスをあまり伝播しない傾向にあるということだ。イギリスの 2 歳から 15 歳を対象にした研究では、最大 50%の感染した小児は無症状であった。

「感染伝播が全くなく危険も全くないということはない」、と Russell は述べる。しかし、学校における感染の危険性は、とくに地域での感染伝播が少ない場合は低いのです、と彼女は言う。

## 文献

- 1) Dyani Lewis. Why schools probably aren't COVID hotspots. Nature. Oct 29 2020  
doi: 10.1038/d41586-020-02973-3

### 3 5 ヒト細胞への SARS-CoV-2 感染に必要な宿主側の分子の同定

SARS-CoV-2 のタンパクに結合する宿主分子の網羅的な解析は、これまでもプロテオーム解析でなされてきたが、この方法では、本当にその分子が機能的に作用しているのか、単に結合しているだけなのかわからなかった。これを解明するためには、本年度のノーベル化学賞を受賞した、**CRISPR-Cas9** を用いた方法がある。これは、細胞機能に必要な遺伝子すべてを網羅するように、ガイド RNA を別々に組み込んだレトロウイルスを用いて標的遺伝子をノックアウトした細胞ライブラリーを作製し、そこにウイルスを感染させて残った細胞のガイド RNA から、欠損するとウイルス感染が起こらない遺伝子群を同定するというもの（**機能欠失スクリーニング**）で、これらの分子が同定されれば、COVID-19 の新しい治療法につながる。今回、ニューヨーク大学の Sanjana らは、19,050 個の遺伝子を標的とした **GeCKOv2CRISPR-Cas9** ライブラリーと、SARS-CoV-2 ウイルス、ACE2 を発現しているヒト肺がん細胞株（A549<sup>ACE2</sup>）を用いて実験を行い、以下の点を明らかにした。

- 1) 標的の上位 50 位に入る分子として、以下の 7 種類 (分子) が挙げられた。
  - ①膜への結合 (ACE2) , ②エンドソームへの取り込み (ACTR2, RAB7A, ARPC3 など) , ③スパイク開裂と膜融合 (ATP6AP1, CTSL, ATP6V1A など) , ④エンドソームのリサイクル (Retromer, PI3K, Commander) , ⑤ウイルスの転写 (SLTM, SPEN) , ⑥小胞体(DPM3, ERMP1), ⑦ゴルジ装置 (PPID, CHST14)これらは、エンドソームの加工、輸送、酸化、細胞質分裂、ビリオン接着に関連する分子である。とくに、ACE2 は細胞（組織特異性では精巣、小腸、腎臓、心臓で多いが）への侵入経路として最も重要であるが、タンパク分解酵素の **TMPRSS2** や **Furin** が入らず、そのかわりにカテプシン L(CTSL)が含まれた。
- 2) タンパク-タンパク相互作用 (PPIs) を検討すると、例えば、**vacuolar-ATPase proton pump** である **ATP6AP1** と **ATP6V1A** は、それぞれ SARS-CoV-2 の **non-structural protein 6 (nsp6)**, M タンパクと相互作用していた。また、エンドサイトーシス（細胞が細胞外の物質を取り込む過程の 1 つ）で重要な **RAB7A** は **non-structural protein 7 (nsp7)** と相互作用していた。他のウイルスとの相関を調べると、ジカウイルスと

- パンデミック H1N1 (2009 年新型インフルエンザ)との共通点があった。
- 3) さらに、30 の遺伝子を選んで、CRISPR ノックアウト、RNA 干渉、低分子阻害剤による検討を行ったところ、RAB7A, CCDC22, VPS35, SNX27, CTSL, ATP6AP1 ,ACE2, PIK3C3 などが重要と考えられた。とくに、PIK3C3 の阻害剤はウイルス量を 100 倍以上減少させた。PRKCA 阻害剤であるタモキシフェンも有望であると考えられた。
  - 4) エンドソーム形成に関連する遺伝子のうち、ATP6AP1, ATP6V1A, CCSC22, NPC1, PIK3C3, RAB7A の 6 種類のノックアウトにより、細胞内のコレステロールが上昇することがわかった。これは、SARS-CoV-2 感染により、細胞内のコレステロール合成が阻害されることと一致する。さらに、カルシウムチャンネル阻害剤であるアムロジピンを作用させると細胞内のコレステロール合成が上昇し、ウイルス抵抗性も高まった。事実、アムロジピン内服者では COVID-19 の致死率が低下するとの報告がある。
  - 5) RAB7A のノックアウトにより ACE2 の細胞表面の発現が減弱し、エンドソームに ACE2 が蓄積した。この小胞には EEA1 (early endosomal marker)ないしは LysoTracker (lysosomal marker)が見られた。

#### 文献

- 1) Daniloski Z, et al. Identification of required host factors for SARS-CoV-2 infection in human cells. Cell 2020 doi: 10.1016/j.cell.2020.10.030

### 3.6 米国の食料品店従業員における SARS-CoV-2 感染および暴露の危険と精神衛生との関連

米国ボストン市の食料品店従業員における SARS-CoV-2 感染者とその背景、また精神衛生面からの検討をおこなったハーバード大学・ボストン大学の Yang ら<sup>1)</sup>の報告です。

SARS-CoV-2 感染予防策として、人と人との接触を断つことによって感染伝播を阻止する方策が取られるが、生活に必要な不可欠な業種の就労者(essential workers, EWs)、例えば医療従事者(healthcare workers, HCWs)、初期対応が必要な職業(救急、救助、警察、消防など)や小売業者などでは仕事の性格上、SARS-CoV-2 感染暴露の危険性が継続する。また、ひとたび就労者に感染者が発生すると、その生活圏への感染伝播というゆゆしき事態になる。一方で、COVID-19 の爆発的感染拡大の中では、人々は仕事に精神的なストレスを受けることが知られている。爆発的感染拡大への恐れ、家族の心配などが、新たに出現した疾患の爆発的感染拡大期間中における EWs の精神的な障害につながる。ある研究では、感染初期の HCWs の SARS-CoV-2 罹患率は 0-14%であり、発熱や嗅覚・味覚障害を伴っていた。精神衛生的な面では、約半数の HCWs が、感染率の高い地域や職場の前線では不安や、鬱状態があったという報告もある。HCWs に対する COVID-19 の研究はこれまでも広く議論されてきたが、ほかの EWs に関するものは限られていた。6 つのアジア諸国の HCWs 以外の職種の感染率が報告されており、サービスやセールス関連の職種では 18%の仕事に関連する感染が見られたという。また、スーパーでのクラスターも報告されているが、食料品店での SARS-CoV-2 感染に関して感染リスクや精神的なストレスを研究した報告はない。今回、米国ボストン市のある食料品店従業員 104 名を対象に、1) SARS-CoV-2 感染率(鼻咽頭液 RT-PCR)、感染伝播や暴露の危険、2) 個人防御具の使用とその自覚、3) COVID-19 の爆発的感染拡大期間中の精神衛生状態(不安の評価:GAD-7, 鬱状態の評価:PHQ-9 による質問紙法)につき検討した。その結果、

- 1) 104 名の従業員のうち、21 名(20%)が SARS-CoV-2 陽性であり、76%の陽性者は無症状であった。COVID-19 の感染様式では、無症候感染者

や軽い症状の患者からの感染が問題になっているが、食料品売り場の従業員は、クラスターとして客、同僚、その家族などに感染リスクを広める恐れがある。

- 2) 直接客と接する従業員（レジ、入り口誘導、セールス補助、生鮮食料品売り場、カート付き添い、清掃員、立会人およびマネージャー）の感染リスク（SARS-CoV-2 陽性リスク）は調整オッズ比で 5.1 (95% CI:1.1 to 24.8)であった。
- 3) 精神衛生的には、不安と鬱状態（すなわち GAD-7 score>4 あるいは PHQ-9 score >4）の頻度はそれぞれ 24%と 8%であった。
- 4) 仕事中に社会的な距離が取れる能力のあるものが、不安や鬱状態と診断されるリスクは、調整オッズ比でそれぞれ 0.3 (95% CI:0.1 to 0.9), 0.2 (95% CI:0.03 to 0.99)であった。
- 5) 徒歩、バイク、自家用車で通勤する従業員が検査で鬱状態と診断されるリスクは、公共交通機関や相乗りを利用している従業員と比較して少ない傾向だった（調整 OR 0.1, 95% CI: 0.02 to 0.7）。

今回の検討は、一店舗の検討ではあるが、食料品売り場における SARS-CoV-2 感染者の多くが無症状であることが明らかになり、それは直接接客する従業員で多かった。また、仕事中常に社会的距離がとれる従業員の不安や鬱状態の頻度は低かった。

#### 文献

- 1) Lan FY, Suharlim C, Kales SN, Yang J. Association between SARS-CoV-2 infection, exposure risk and mental health among a cohort of essential retail workers in the USA. *Occup Environ Med* 2020 doi: 10.1136/oemed-2020-106774

### 3 7 免疫抑制状態の白血病患者で無症候性に感染性のある SARS-CoV-2 を長期に排出した例

慢性リンパ性白血病(CLL)と先天性低ガンマグロブリン血症のある 71 歳の無症候性 COVID-19 患者で、診断後 15 週にわたって鼻咽頭液から SARS-CoV-2 ウイルスが検出された例を、米国国立衛生研究所(NIH)の Munster ら<sup>1)</sup>が報告しています(症例報告としては珍しく Cell 誌に掲載されています)。

SARS-CoV-2 の RNA は、鼻孔、鼻咽頭、咽頭、気管支肺洗浄液(BAL)、糞便、血液などから検出される。これらのウイルス排泄期間は一般的には 3 から 46 日であり、これは無症候性患者においても排泄期間、ウイルス量に関しては同様である。ウイルス排泄が長期化する例は、qRT-PCR 陽性が 63 日続くことが報告されている。さらに、一旦陰性が確認された後に再度陽性が確認された例も、有症状、無症状患者で確認されている。PCR はウイルスの RNA を検出するだけなので、それが本当に感染性のあるもので、どれくらいの期間続くのかというのを、有症状と無症状患者で検討する必要がある。

これまでに、ウイルスの感染性は、疫学的検討から発症 2.3 日前から発症後 7 日以内であることが報告されている。また、感染性のある SARS-CoV-2 は、発症から 8 日間まで検出され、それ以降では通常見られない。感染性のあるウイルス排出で最も長いものは、診断確定から 20 日までと報告されている。15 日を過ぎるとウイルス量の減少と中和抗体の出現により、SARS-CoV-2 の分離は減少する。

今回、CLL の患者で無症状 COVID-19 患者のウイルス検査および培養検査により、感染性のあるウイルス排泄が 49 日目と 70 日目に検出され、回復期血漿療法を行ったが、105 日目まで RNA が残存した症例を報告する。

患者は、原疾患による脊椎骨折と狭窄による疼痛のため手術を受け、リハビリ病院に転院した。その病院で COVID-19 の感染拡大があったため SARS-CoV-2 のウイルス検査を受けたところ陽性であり(確定日 0 日目)、隔離された。患者は全経過を通じて無症状であり、胸部レントゲン検査と CT 検査でも異常はなかった。なお、患者は原疾患のため定期的にガンマグロブリンの静注療法を受けていた(最終は、70 日目の一回目の回復期血漿投与の 6 日前)。最初の陽性から 49, 70, 77, 85, 105 日目まで SARS-CoV-2 RNA が陽性であり、

培養検査は 49 日目と 70 日目まで陽性だった。回復期血漿療法は、71 日目と 82 日目に施行した。

ゲノム RNA (gRNA) とサブゲノム RNA (sgRNA) を用いて PCR 検査を行ったが、Ct 値およびウイルスコピー数は上昇を続け、71 日目の血漿療法により一旦は減少したが再度上昇し、105 日目まで増加したが、その後は検出されなかった。この患者の場合、回復期血漿の静脈注射によって鼻咽頭からのウイルス RNA の急速な消失はおこらなかった。しかし、感染能力のあるウイルスは 77 日目以降検出されなかった。スパイクタンパク全体に対する抗体価は、71 日目の回復期血漿投与により一旦は上昇したが再度減少し、77 日目以降自然に漸増し、82 日目の投与後に再上昇し、その後は継続した。

49 日目と 70 日目に分離されたウイルスによる Vero E6 細胞による培養実験での電子顕微鏡写真により、SARS-CoV-2 が確認された。

49, 70, 85, 105 日に採取された遺伝子の系統発生を検索した結果、元になっているのは中国武漢からワシントン州に移入し、感染拡大した SARS-CoV-2A.1 株であり、経過とともに同一患者内で変異をしていた。その変異は、49 日目に S1 の N 末端 (NTD) の欠失 (アミノ酸 7 つ)、70 日目に S1 の N 末端 (NTD) の欠失 (アミノ酸 4 つ) であり、これまで報告されていた S1/2 や S2 欠失とは別であった。

49 日目より分離された変異を持つウイルスの増殖動態を Vero E6 細胞とヒト肺胞上皮細胞を用いて検討したが、USA/WA1/2020 株 (米国で最初にワシントン州で確認されたもの) との差は見られなかった。

今回の検討により、ある種の免疫抑制状態にある患者では、感染力のある SARS-CoV-2 ウイルスを、今まで言われていた以上に長期間排出することが明らかになった。継続的に SARS-CoV-2 検査が陽性である患者では、感染力のあるウイルス排泄をみる代わりとして、sgRNA 検査を行うことが推奨される。

#### 文献

- 1) Avanzato V, et al. Case Study: Prolonged infectious SARS-CoV-2 shedding from an asymptomatic immunocompromised cancer patient. Cell 2020  
doi: 10.1016/j.cell.2020.10.049



### 3 8 COVID-19 入院患者由来の血栓形成促進性の自己抗体

重症 COVID-19 患者では、敗血症などによる播種性血管内凝固症候群 (DIC) とは異なる凝固異常が起こることが知られています。ミシガン大学の Knight ら<sup>1)</sup>は、COVID-19 患者の重症度に応じて、血中に血栓形成に関わる自己抗体が存在することを報告しています。

COVID-19 患者は、動脈や静脈で血栓形成による閉塞をきたす危険が高い。肺組織の検討では、フィブリンが関与した血管閉塞が、COVID-19 に屈服した患者の細血管で起こっている。一方で、抗リン脂質抗体症候群とは、後天的な疾患であるが、患者には病的な自己抗体 (リン脂質やリン脂質結合タンパクに対する aPL 抗体) ができ、しばし生命の危険を伴う血栓形成傾向がある。また、COVID-19 患者から抗 aPL 抗体を検出したという症例報告がある。

今回、われわれは、8 種類の抗 aPL 抗体 (抗カルジオリピン IgG, IgM と IgA; 抗  $\beta 2$  グリコプロテイン I IgG, IgM と IgA; 抗フォスファチジルセリン・プロトロンビン(aPS/PT) IgG, IgM) を COVID-19 で入院した患者 172 名の血清検体を用いて測定した。その結果、aPS/PT IgG は 24% の患者で検出され、以下、抗カルジオリピン IgM が 23%、そして抗 aPS/PT IgM が 18% であった。

aPL 自己抗体は、抗体測定キットの基準を用いると 52% で陽性であり、より厳格な基準 ( $\geq 40$  ELISA-specific unit) だと 30% であった。aPL の抗体価が高いものは、好中球の活性化と関連しており、それらは好中球細胞外トラップ (neutrophil extracellular traps, NETs)\*、血小板数の増加、より重篤な呼吸器疾患、臨床的に予想されたより低い糸球体濾過率であった。

抗リン脂質抗体症候群の患者からの血清 IgG と同様に、COVID-19 患者から単離された IgG 分画は、健常人から得られた好中球からの NET の放出を促進した。

さらに、COVID-19 患者の血清から精製された IgG は、マウスの 2 つのモデル (血管内皮から活性酸素を発生させる Electrolytic IVC model, 単純に狭窄を作る Stenosis IVC model) において静脈血栓の形成を促進した。これらの知見から、COVID-19 で入院となった患者の半数は、少なくとも一時的に aPL 抗体が陽性であり、これらの自己抗体は、潜在的な病原性があるものと考えられた。

\*好中球細胞外トラップ(NETs, Netosis)とは、好中球による生体防御機構として知られていた、貪食能、好中球顆粒の放出にくわえて3番目のものとして2004年に報告された。これは、LPSやサイトカインの刺激によって、好中球がDNA、ヒストン、好中球顆粒(エラスターゼなどを含む)を網目のような構造物として放出するもので、細菌などを補足し、局所的に分解することができる。これは、まさに好中球が身を呈して宿主を防御するしくみと言えるでしょう。

#### 文献

- 1) Zuo Y, et al. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. *Sci. Transl. Med.* 2020 doi: 10.1126/scitranslmed.abd3876

### 3 9 COVID-19 に対する mRNA ワクチン

新型コロナウイルスの第 3 波が北半球を中心とした世界各国を襲っていますが、COVID-19 に対するワクチン開発競争も大詰めを迎えています。その中でも mRNA を使った第 3 相試験で、ビオンテック社とファイザー社の BNT162b2 が中間報告で 90%近い感染抑制効果（詳細は不明）を示したというニュースが世界を駆け巡りワクチンへの期待が一挙に高まりました。一方、米国モデルナ社では、中国武漢での SARS-CoV-2 の遺伝子情報が 2020 年 1 月 10 日に公表されてからわずか 1 週間ほどで mRNA を合成し、66 日後には世界で初めて mRNA-1273 としてワクチン投与を開始し、こちらも第 3 相の臨床試験が進行中です。

現在の抗ウイルスワクチンは、前著（30 の研究）でも述べたように、大きく分けてウイルスタンパクを標的にしたものと、その遺伝子（DNA, RNA）を標的にしたものに分けられます。タンパクベースとしてはインフルエンザワクチンのようにウイルス全体を死活化させて投与する方法がありますが、卵での培養などが必要で時間を要します。また、タンパクの一部（サブユニット）やウイルス様粒子（B 型肝炎やヒトパピローマウイルス）を使用する場合があります。これに対して、遺伝子を標的にした場合は、特定の遺伝子（多くはウイルス表面のスパイクタンパク）を投与して、宿主細胞にそれを作らせ、実際の感染と同じような状況を作って免疫反応を惹起させるものです。DNA を投与する場合は、核内に遺伝子を到達させる必要があります、細胞分裂している状態でしか遺伝子はいれません。それに対し、mRNA の場合は細胞質に入れば良い点が異なります。また、mRNA の利点は、抗体や CD4+ヘルパー T 細胞を誘導するだけでなく、MHC Class I 経路を通じて CD8+細胞障害性 T 細胞（キラー T）を誘導することです(BNT162b1)。反面、mRNA は非常に脆いために免疫源性除去を含めた精製方法、安定した投与方法、効率的な発現方法などを検討しなくてはなりません。形態も脂質の膜に包むなどの加工が必要になります。また、保存には-70℃のフリーザーが必要になるので一般に普及するのは難しいかもしれません。

遺伝子を運ぶのにアデノウイルスを用いたアストラゼネカ社とオックスフォード大のワクチン（ChAdOx1nCoV-19）は、チンパンジーのアデノウイルスに起因すると考えられる横断性脊髄炎という重篤な合併症が報告されましたが、

現在治験が再開されています。また、同じくジョンソン アンド ジョンソン社の **Ad26.COV2.S(JNJ-78436735)**の治験でも、「原因不明な症状」の出現により一時治験が中断されていましたが、こちらも再開されています。また、アデノウイルスを用いる方法は、一般的には、風邪などですでに中和抗体が確立している可能性があり、逆に感染しやすくなってしまう可能性もあります（Ad5ベクターによる HIV ワクチン例）。

今回取り上げるのは、1) 米国ロチェスター大学の Walsh ら<sup>1)</sup>によるファイザー社の BNT162b1(b2)に関する報告と、2) NIH の Graham ら<sup>2)</sup>による、モデルナ社の mRNA-1273 の動物実験の報告です。

#### 1) COVID-19 に対する 2 種類の mRNA ワクチンの安全性と免疫源性<sup>1)</sup>

BNT162b1 は SARS-CoV-2 の受容体結合部位 (RBD) と T4 フィブリチンフォールドン部位により 3 量体を形成するタンパクをコードし(nucleoside-modified RNA)、それを脂質ナノ粒子(lipid nanoparticle-formulated)とくみあわせた構造を持つ。他方、BNT162b2 は SARS-CoV-2 のスパイクタンパクの全長をコードした RNA に 2 つのプロリン変異を導入したもので融合前の構造を安定化させる。これまでの第 1 相試験 (ドイツと米国) では、若年者において BNT162b1 の安全性と免疫源性 (前述) が示された。今回、偽薬コントロール、単盲検 (観察者)、容量増加の第 1 相無作為試験 (米国) をおこなった(ClinicalTrials.gov number, NCT04368728)。

#### 方 法

- ① 健常人 18 歳から 55 歳までと、65 歳から 85 歳までのそれぞれの群に偽薬ないしは mRNA の二種類のワクチンのいずれかを割り付け、容量を 10  $\mu$ g, 20  $\mu$ g, 30  $\mu$ g さらに 100  $\mu$ g(BNT162b1)として 21 日の間隔で 2 度投与した。
- ② 主要評価項目は、安全性として局所の反応、全身の反応、有害事象を、副次評価項目として、免疫源性 (S1 結合 IgG の抗体価と 50%中和抗体価) を評価した。

#### 結 果

- ① 195 名が無作為化を受け、13 グループはそれぞれ 15 名ずつで、12 名がワ

クチン投与を受け、3名が偽薬投与を受けた。

- ② BNT162b2 は b1 とくらべて局所の腫脹が少なく、全身反応(発熱、疲労感、悪寒など)の頻度や程度が少なかった。
- ③ 若年および高齢者の両群で容量依存的な中和抗体価がえられ、回復期血清のそれと同様ないしは高値であった。

## 結 語

以上の結果およびドイツでの BNT162b1 の第 1 相試験の結果から、BNT162b2 の 30  $\mu$ g 投与が以降の 2-3 相試験の候補となった。

## 2) SARS-CoV-2 に対する mRNA-1273 ワクチンの非ヒト霊長類における評価<sup>2)</sup>

mRNA-1273 は、3 量体の SARS-CoV-2 スパイクタンパク (クラス I 融合タンパクで ACE2 への結合を促進し、ウイルスと宿主の細胞膜とを融合させる) を標的にした mRNA ワクチンであるが、その効果を霊長類動物であるマカク (サル) を用いて検討した。

## 方 法

- ① マカクに 10 ないしは 100  $\mu$ g の mRNA-1273 を後ろ足に筋注射 (対照群は PBS)、4 週後に 2 回目の投与をしてから 8 週目に総計  $7.6 \times 10^5$  PFU の SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020) を気管支内および鼻腔に投与した。
- ② 抗体は S-2P ないしは N タンパクに特異な IgG および中和抗体価を前、1 回目の投与の 2、4 週後、2 回目の投与の 2、4 週後に測定し、2 回目の投与後 4 週後の IgG、中和抗体価、ACE2 結合阻害率を容量別に検討した。
- ③ Th1 反応 ( $\text{INF } \gamma$ , IL-2, or  $\text{TNF } \alpha$ )、Th2 反応 (IL-4 or 13)、CD40L、Tfh IL-21 を容量毎に検討した。
- ④ サブゲノム RNA を気管支肺胞洗浄 (BAL) 液と鼻腔ぬぐい検体を用いて経時的に測定した。
- ⑤ 肺組織検体を用いてウイルス RNA (CISH) およびウイルス抗原 (IHC) の局在を検討した。

## 結 果

- ① mRNA-1273 はヒト回復期血清における抗体価以上の抗体を容量依存的に

誘導した。50%阻害希釈率は(ID<sub>50</sub>)、幾何平均抗体価で 501(10- $\mu$ g 投与群) および 3481(100- $\mu$ g 投与群)であった。

- ② ワクチン投与により、Th1 に偏った CD4 T 細胞反応が見られたが、Th2 や CD8 T 細胞反応は低いか全く見られなかった。
- ③ BAL 中のウイルスのゲノムはワクチン投与後 2 日目にはいずれの投与量でも消失した (8 匹中 7 匹)。また、鼻腔のウイルスは、100- $\mu$ g 投与群では 2 日目には検出されなかった。
- ④ ワクチン投与の肺組織では、炎症所見は限局的であり、ウイルスゲノムやタンパクは検出されなかった。

以上の結果から、mRNA-1273 は急速な SARS-CoV-2 中和活性を誘導し、上下気道において防御的な役割を果たした。また、肺組織における炎症反応やウイルスは認めなかった。このように、mRNA-1273 はヒト以外の霊長類での安全性と免疫源性を兼ね備えていることがわかり、ヒトを含む第 1 相試験を補完する結果と考えられた。

#### 文献

- 1) Walsh EE, et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. N Engl J Med. 2020 doi: 10.1056/NEJMoa2027906
- 2) Corbett KS, et al. Evaluation of the mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates. N Engl J Med. 2020;383:1544-55. doi: 10.1056/NEJMoa2024671

## 4 0 若年成人の集団生活による SARS-CoV-2 の感染拡大

COVID-19 は集団生活で感染拡大が起こることが知られていますが、米国海軍の航空母艦<sup>1)</sup>と、海兵隊の新兵<sup>2)</sup>の集団生活における集団感染事例を紹介します。

### 1) 航空母艦における COVID-19 の爆発的感染拡大<sup>1)</sup>

米国海軍の原子力空母セオドアルーズベルトは乗員 4779 名を乗せて西太平洋上での 13 日間の任務についていたところ、3 名の乗員が COVID-19 を疑わせる症状のため医療部を訪れた。ただちに RT-PCR 検査が行われ、SARS-CoV-2 が陽性であることがわかり、次の 24 時間で症状のあるものや、接触追跡によりおよそ 400 名の濃厚接触者が確認された。最初の陽性者が出てから 4 日後には、船はグアム海軍基地に到着し、COVID-19 確定者は基地内ないしは基地の病院で隔離された。COVID-19 検査が陰性のものと症状のないものは、基地から離れたホテルや基地内の施設で隔離された。さらに、感染していない必須要員は、港に停泊中の船内で待機した。乗員全員の兆候や症状のスクリーニングおよび RT-PCR 検査が行われた。検査で陽性者は隔離され、1 日 2 回の症状チェッカーによる健康診断（症状、体温、パルスオキシメーター）を受けた。4079 名の検査陰性で無症状の乗員はグアムの 11 のホテルに収容された。また、症状が進行する乗員は、グアム海軍病院に搬送された。健康診断に加えて、プライマリケアや薬剤、精神科受診なども提供された。隔離は原則 14 日間行われ（症状出現時はさらに 14 日）、終了時に RT-PCR 検査が行われた。さらに、最低 10 週間の経過観察がなされた。

### 結 果

乗員の多くは若年成人で平均年齢は 27 歳であった。普段の健康状態は良好であり、米国海軍の航行任務規定に沿うものであった。経過を通じて 1271 名(26.6%)の乗員が SARS-CoV-2 感染が陽性であり、最初の検査から 5 週間の間に 1000 名以上の感染が確認された。さらに 60 名の乗員は感染の疑いありとされた。そして、検査で診断確定されたものの 76.9%(1271 名のうち 978 名)が検査時には無症状であったが、その後の経過で 55.0%が症状を発症した。症状で最も多かったのは頭痛であり、以下咳嗽、鼻閉、味覚障害であった。感染の疑いなしは確定された 1331 名の乗員のうち、23 名(1.7%)が入院となり、4 名(0.3%)が集中治療を受け、1 名が死亡した。入院患者の中には併存疾患（喘息、高血圧、

肝臓疾患など)があるものが多かった。閉鎖空間での勤務者(放射炉、技術系、供給係、武器庫)、下士官(密集したベッドで生活)、人の集まる場所の利用(ジム、ギャレイ)がより感染リスクが高いと思われた。

## 結 語

SARS-CoV-2 は原子力空母セオドアルーズベルトの艦内で急速に広がった。感染伝播は人同士が接近した状況や、無症状ないしは発症前の患者により促進された。検査で陽性のおよそ半数の患者は症状が出なかった。

この事例を教訓にして、米国海軍では COVID-19 のない環境づくりのための取り組みを開始した。それは、

- ① 任務前には全乗務員は“行動制限”(“restriction of movement”)の状態におかれ、地域との接触は 14 日間絶たれる
- ② 無症状や症状前のキャリアを同定するために行動制限の後に RT-PCR 検査を受ける
- ③ 外からのウイルスの持ち込みを防ぐために、外国での寄港時には港を離れることを減らす
- ④ マスクの着用、社会的距離、小グループのコホーティング、厳密な手指衛生、共用部分の定期的な清掃

このような対策を行った結果、これ以降には大規模な感染拡大は起こしていない。また、ウイルスのいない“バブル”をつくるこのような取り組みは、ナショナルバスケット協会、サッカーメジャーリーグなどで採用され、選手の感染リスクを減らしつつ競技を行うことに役立っている。

## 2) 海兵隊の新兵の隔離中における SARS-CoV-2 感染伝播

若年成人への公衆衛生対策による、SARS-CoV-2 の感染伝播への効果はまだ研究されておらず、とくに軍隊での感染伝播の状況は不明であった。米国国防総省は、公衆衛生的な介入をしたが、軍隊生活での特徴である、閉鎖された生活空間、訓練中や他の兵隊同士の濃厚接触、食事施設の共用、全米各地より人が集まるといった環境は、兵士を感染性の高い COVID-19 のような感染症にかかると危険にさらすことになる。

## 方 法

今回、米国海兵隊の新兵 3467 名が家での 2 週間の隔離ののちに入隊し、RT-PCR 検査の陰性を確認後、入隊者は今回の研究 (COVID-19 Health Action Response for Marines, CHARM) に参加するか同意を求められた。CHARM 参加者は閉



鎖キャンパスでさらに2週間隔離され、毎週のRT-PCR検査とIgG抗体検査を受けた。350人から450人の新兵が毎週到着し、それぞれ50から60人ずつの小隊に分けられた。また、同室者はCHARM参加とは関係なく割り当てられた。新兵は二人部屋を使用し、食堂とバスルームは共用であった。普段の生活では、マスクを装着して社会的距離をとり、毎日の体温や健康状態をチェックされた上でSARS-CoV-2の感染状況を検討した。また、感染確認者の遺伝子検査により、ウイルスの系統発生解析をおこなった。

## 結 果

総数1848名の新兵がこの研究に参加した。校内に到着して2日以内の検査で16名(0.9%)のSARS-CoV-2陽性者が確認された。それらのうち15名は無症状であった。その後の7日目と14日目の検査でさらに35名(1.9%)の陽性者が確認された。これら陽性者51名のうち5名(9.8%)は、陽性となった検査の1週間以内に何らかの症状があった。この研究を辞退した者1554名のうち26名(1.7%)が14日目のPCR検査で陽性となり隔離された。毎日の症状確認で検査を受けた者の中には陽性者はいなかった。32名の参加者から得られた36種類の遺伝子の系統樹解析をした結果、18名の中で6種類の感染クラスターが発生したことがわかった。多くの局所での感染伝播が起こり、それらは同室者、同じ小隊に属している者同士であった。

## 結 語

海兵隊の新兵の中で、監視下の隔離の当初はSARS-CoV-2が陰性だった者のうち、およそ2%と、それまでの経過がわからない2%以下の新兵が14日目までに陽性と判定された。陽性と診断されたものの多くは無症状であった。そして、毎日の症状モニタリングでは感染者は発見されなかった。感染のクラスターは小隊内で発生した。

## 文献

- 1) Kasper MR, et al. An outbreak of COVID-19 on an aircraft carrier. N Engl J Med 2020 doi: 10.1056/NEJMoa2019375
- 2) Letizia AG, et al. SARS-CoV-2 transmission among marine recruits during quadrantine. N Engl J Med 2020 doi: 10.1056/NEJMoa2029717

## 4 1 COVID-19 の移動ネットワークモデルにより感染の不公平さと店舗の再開方法がわかる

スマートフォンの位置情報を経時的に解析して、人々の移動情報から COVID-19 に感染しやすい場所と、店舗などの再開の方法について数理モデルによる検討をしたスタンフォード大コンピューターサイエンス科の Leskovec からの報告です。

COVID-19 の危機により、感染防御策として人との接触を減少させ、人が集まる店舗なども閉鎖されたが、それらをいつ再開するのか、どの場所が安全か、さらにはどの程度の活動を許可するのかを計画する必要に迫られている。この問いに答えるには、移動の変化がウイルス拡散におよぼす変化を捉えるような疫学的な数理モデルが必要である。とくに、COVID-19 の「スーパー・スプレッダー」事例を見つけるには、様々な場所を訪れる際のいろいろな危険性を反映するモデルが必要であるし、よく話題にのぼる「感染率の格差」の問題にも、不利を被る集団におよぼす、不均衡なウイルスの影響を反映するモデルが必要になる。

そこで、今回、セルフォンの位置情報をもとに、キメの細かい動的な動きを捉えるネットワークを構築した。そして、この手法を、米国の 10 大都市に当てはめて感染の拡散状況を検討した。このネットワークは、国勢調査細分化グループ (census block groups, CVGs; 地理的単位で多くは 600 から 3,000 人を含むエリア) 内の 98,000,000 人の 1 時間ごとの移動データを特定の興味のある場所 (points of interest, POIs) と結びつけるものである。POIs とは、居住地ではなく、レストラン、小売店、宗教的な建物などを指す。このネットワークに疫学的数理モデルである、**SEIR** (**S**usceptible; 免疫なし, **E**xposed; 感染し潜伏期間中, **I**nfectious; 発症者, **R**ecovered; 回復者、という順に人が遷移していく過程を常微分方程式でモデル化したもの)モデルをあてはめて、CVGs、POIs それぞれの感染者の軌跡を追跡した。これによって実際の感染者数の推移との一致が見られたのみならず、それぞれの POIs の情報を捉えることによって店舗などの再開のタイミングを知ることができ、人種的や社会経済的に不利な集団がより感染リスクのあることが明らかになった。

## 1) 移動ネットワークモデル

モバイルフォンからの匿名の位置情報を提供する SafeGraph のデータ (2020 年 3 月 1 日から 5 月 2 日) を用いてネットワークを構築した。その結果、54 億の一時間ごとの移動データが、56,945 の CBGs と 552,758 の POIs との間で 2 部グラフとして可視化された。新規感染者は CBGs, POIs のいずれでも発生すると考え、CBGs から POIs への移動データをもとに、POIs の面積、滞在時間の中央値、発症者の時間ごとに変わる密度などを考慮して POIs の時間ごとの感染率を決定した。このモデルの変数は、1) POIs の感染率、2) CBGs の感染率、そして 3) 潜伏期間中の個人の最初の割合、の 3 つで、観察期間中は一定とした。その結果、このモデルと実際の 10 大都市での感染者数の推移はよく一致した。また、4 月 14 日までのデータのみで補正すると、さらにそれ以降の数値と一致した。このように、比較的単純な SEIR モデルに動的な移動ネットワークを加えることによって、政策の変更や人々の移動の変化にもかかわらず、感染者数をよく反映したモデルになった。

## 2) 移動制限と店舗再開の計画

① 米国における人々の移動は、2020 年 3 月に急激に減少した (シカゴでは、3 月の最初の週から 4 月の最初の週にかけ 54.7% の減少)。移動制限開始時期の違いと移動制限の程度の違いをシミュレートすると、両者は感染者数の減少に同程度重要であることがわかった。例えば、シカゴにおいて移動制限が 25% でしかないと、予想感染者数の増加は 3.3 倍 (95%CI, 2.8-3.8) になり、一週間遅らせた場合の 1.5 倍 (95%CI, 1.4-1.6) より多かった。また、まったく制限なしでは、6.2 倍 (95%CI, 5.2-7.1) になった。移動制限は感染者数を劇的に減少させるのである。

② 大半の予想された感染者数は、少数の「スーパー・スプレッダー」によることがわかった。すなわち、シカゴでは 10% の POIs による感染者数は 85% (95%CI, 83%-87%) の感染者の原因になっていた。

③ もし少数の POIs が多数の感染を生むとすれば、ハイリスクの POIs を標的にするのが効果的である。そこで、店舗の再開モデルを検討した。その際に、定員の何割を再開するのかわる変数とした。定員制限せずに店舗を再開すると、予想感染者数の急増が見られた。シカゴでは、さらに 32% (95%CI, 25%-35%) が 5 月の終わりまでに感染することが明らかになった。しかし、最大定員を減

らすことは、来客を急激に減らさずに感染リスクを下げるができる。たとえば、シカゴでは、定員の20%削減は、新規感染者数を80%減らす、来客数は42%減少にとどまる。一律にPOIの訪問を減らすことと比較して、最大定員を減らすことは、もっとも感染リスクの高い客の密度が減少する結果、より感染者数が減少し効果的である。また、訪問者数はかわらないので経済的なコストも減少する。

④ 3月のデータから、ある業種のPOIは感染予想により多く寄与することがわかったので、ある業種を再開することは、より感染再燃のリスクが高いと考えた。そこで、5月1日に業種ごとに再開時の感染増大を検討した（人の動きが3月と同様であるとして）結果、業種ごとに感染拡大リスクが異なることがわかり、高い順に、1) 接客をともなう飲食店、2) ジム、3) ホテル、4) カフェ、5) 宗教組織、6) 接客をともなわない飲食店、7) クリニック、8) 食料小売店であった。これらの場所では、移動データからも客の密度が高く、滞在時間も長かった。

### 3) 感染の格差の特徴

CBGにおける人種（白人と非白人）と収入のデータ（上位と下位の十分位の収入）を考慮し、移動と感染状況を評価した。

- ① 人種と社会経済的に不利な状況にある集団では感染リスクが高いことがわかっている。各都市において、収入が低い十分位の感染率は高い群と比較して感染率が高く、これは非白人においても同様であった。とくにこの傾向が顕著だったのはフィラデルフィアであった。この感染率の格差は、主としてPOIの種別（例えば接客をともなうレストランや宗教施設）によることがわかった。
- ② 収入の少ないCBGs（低収入群）では、感染拡大による移動の減少が高収入群とくらべて少なかった。例えば、シカゴでは高収入群は27%多く移動が制限されていた。特に、低収入群では食料小売店への移動が多く、ここでの感染リスク拡大に寄与していた。
- ③ POIのなかでカフェやスナックバーは高収入群のほうがより訪れているが、低収入群の訪れるカフェやスナックバーの感染者数は全体のなかでも多くを占めた。これは、低収入群の訪れる場所が小規模で混雑しているためと考えられた。例えば、食料小売店で検討してみると、低収入の群は、面積

当たりの人数が 59%多く、滞在時間も 17%延長していた。このように、感染率はどのくらいの頻度でどこに行くかということが格差と関連していた。

- ④ 以上より、店舗の再開問題では、再開による全体への影響のみならず格差の影響も考えなければならない。例えば、シカゴにおける制限なしの全部の再開は、1ヶ月の間にさらに 39% (95%CI, 31%-42%)の感染増加を低収入群にもたらずが、人口全体では 32% (95%CI, 25%-35%)である。また、シカゴにおいて定員の 20%での再開は、全体ではさらに 6% (95%CI, 4%-8%)の増加につながるが、低収入群では 10% (95%CI, 7%-13%)の増加になる。

このように、店舗再開における格差の問題を解決するためには、政策決定者は不利な条件のある集団に対して、以下の項目を補助する必要がある。

- 1) POI の専有率に関するより厳格な基準
- 2) 感染リスクの高い店舗での密度を下げるための緊急食料配布場所
- 3) 感染リスクの高い地域での無料で広く利用出来る検査体制
- 4) 必要不可欠な職種の人が病気で動けなくなった時に移動しなくて済むような有給休暇の改善と収入の見直し
- 5) 必要不可欠な職種の職場の感染予防の改善（良質の PPE、十分な換気、可能であれば距離をとるなど）

店舗の再開の問題に対して様々な方法の効果と公正さを評価できる新たな手法が必要であり、われわれの方法は、POI や住人の背景、都市の多様性を捉えることによってこの期待に応えるものである。

文献

- 1) Chang S, et al. Mobility network models of COVID-19 explain inequities and inform reopening. Nature 2020 doi: 10/1038/s41586-020-2923-3

## 4.2 中国青島市における COVID-19 の突発的発生に対する迅速な対応

2020年10月11日に青島市で発生した3名の SARS-CoV-2 感染患者に対する中国政府の迅速な対応（5日で1千万人以上の PCR 検査を施行!）に関する香港大学の Xing と Wong ら<sup>1)</sup>の報告です。

SARS-CoV-2 の地方での発生は2020年10月までの2ヶ月間見られなかったが、10月11日に山東省青島市で3名の COVID-19 患者の発生があり、地域の当局者は広範囲の接触者追跡と濃厚接触者の隔離を行った。最初の患者はタクシー運転手であり、10月10日の一過性脳虚血発作により、青島胸部病院へ入院時に SARS-CoV-2 核酸検査を受けたところ陽性が判明した。彼の配偶者も翌日陽性が判明したが、彼女は青島胸部病院で看護助手として働いていた。三人目の患者は、今回のクラスター発生の1ヶ月前に結核のため同じ病院で治療を受けていた。患者は、10月11日の定期受診の際に SARS-CoV-2 感染と診断された。最初の疫学的事例から、青島胸部病院との関連が示唆されたので、新規入院患者と外来患者の診療が中止された。

このクラスターの原因となったのは、おそらく 2名の港湾労働者と思われ、彼らは 9月24日に無症候性感染者と診断された（1名は20日後に発症）。2名とも、COVID-19 と診断された者との接触や旅行歴などはなく、船舶の労働者が汚染された貨物からのウイルスに接触したものと考えられた。これらの港湾労働者は、危険度の高い職場の、市の COVID-19 調査による二週に一度の定期検査で陽性となった。感染した労働者は、青島胸部病院へ送られ、詳しい検査と治療を受けた。彼らは、この後に陽性となるいかなる患者とも接触はなかった。しかし、胸部 CT 検査は、17日後に陽性となる一人の患者とその看護助手（いずれも症状あり）と共用していた。環境の汚染がおそらくは交差感染を引き起こしたと考えられた。

以前の武漢や北京での事例をもとに、この突発的感染事例のための政府の調査部隊が組織された。10月1日の中国国慶節以降の一週間に多くの観光客が青島を訪れた。タクシー運転手の行動が地域の感染伝播につながった可能性があったので、青島健康会議は、市全体の地域ごとの RT-PCR の大規模スクリーニング検査を開始した。

地域の病院から訓練を受けた医師や、山東省の他の市からのチームが 4090 箇所の青島および郊外の検査所に派遣された。それぞれの住人が検査を受けるように要請された。鼻咽頭より検体が採取され、一定分量に分けられた。検査時間と検体を節約するために「検体プール法」がとられた。すなわち、一つのプールは 3 から 10 人分の検体が含まれた（感染者の家庭内接触は 3 人、入院や医療従事者は 5 人分、地域の人 は 10 人分）。もし、プール検体が陽性の場合、個別の検査が追加された。

10 月 16 日までに、合計 1 千 90 万人すべての検査が終了し、さらに 9 名（病棟 8 名と家族 1 名、9 月 24 日から 17 日後）の感染者がみつき、合計で 12 名の感染者を同定した。この結果、ロックダウンなしに突発的発生は終息した。住人はマスクの着用を求められ、検査中は市内の移動は許可されたが公共交通機関での移動は陰性が証明されてからとなった。市外に出るものは、PCR 陰性が必要であった。青島から近隣への移動者は、1 週間の隔離と、自由に移動するためには 2 回目の陰性が必要であった。

何百万人もの検査を短期間に行うのは難しく、効果的な協力と執行が必要であり、なによりも住民の協力は欠かせない。より小さな国では迅速な反応と新規感染の影響を最小限にするために専門知識と、人員、資源を近隣諸国と集約することが重要である。ワクチンが手に入る前に第 1 波や 2 波が終息に近づきつつある国では、あらゆる階層の政府、とくに健康政策部門による慎重な計画が、感染の突発的発生を協力的に対処することに役立つ。定期的な疫学調査や、危険度の高い集団に対する検査は、広範囲の感染拡大が起こる前に感染者を発見できる。

#### 文献

- 1) Xing Y, Wong GWK, Ni W, Hu X, Xing Q. Rapid response to an outbreak in Qingdao, China. N Engl J Med 2020 doi: 10.1056/NEJMc2032361

### 4 3 無症候性 COVID 感染についてデータは何を語るのか

nature news (18 Nov. 2020) に掲載された、[Bianca Nogrady](#) による無症候性感染に関する解説記事 <sup>1)</sup>を紹介します。

SARS-CoV-2 に感染しても全く症状も出ないのは何人なのか？とか、これらの人々が COVID-19 を広める上での役割は？といったことは、爆発的感染拡大の初期からの重要な疑問であった。

現在、いろいろな証拠が、感染者のおよそ 5 人に 1 人は全く症状が出ないことを示唆している。そして、これらの人は、症状のある人より、ウイルスを伝播することが少ないのである。しかし、研究者の間では、無症候性感染者の爆発的感染拡大における“静かな影響者 (silent driver)”としての役割については意見が分かれている。

無症候性感染者に関する理解が深まってきたとはいえ、社会的な距離やマスクをつけるといったことは、症状のあるなしにかかわらず感染防止策として継続すべきであると研究者たちは考えている。

無症候性感染者の割合を信頼できる形で出す場合に問題となるのは、無症候性と発症前とを区別することである、とカリフォルニアのスタンフォード大学医学部の感染症研究の [Krutika Kuppalli](#) は言う。「無症候者とは、その病期全般にわたって全く症状の出ない人であり、発症前者とは症状が発現する前に軽い症状が出る人である」と Kuppalli は述べる。標準化され受け入れられている定義は存在しないのである、と彼女は言う。

爆発的感染拡大の初期における研究では、無症候性感染者の割合は 81%にも及んだが、先月発表された、13 の研究と 21,708 人を対象としたメタアナリシスの研究 <sup>2)</sup>では、無症候性感染者の割合は 17%であった。この研究では、無症候性感染者とは、経過観察をした全期間を通じて主たる COVID-19 の症状を認めなかった人であった。著者らは、少なくとも経過観察が 7 日以上の研究だけを含めている。大半の患者は 7 日から 13 日の間に症状が出ることがわかっている、と筆頭著者である、オーストラリア ゴールドコースト ボンド大学の生物医学研究の Oyungerel Byambasuren は言う。



## 静かなる保有者

Byambasuren の総説は、無症候性感染者は、症状のある者よりも 42%感染させる率が少ないということを発見した。

無症候性患者がどうやって感染させるのかを科学者たちが知りたい理由は、多くの感染が検知されないうちに広まるからである。多くの国における検査対象は有症状者である。

スイスジュネーブにおける大規模の住民検査の一部として、研究者は、同居者における感染拡大を研究した。今月の medRxiv に投稿された論文<sup>3)</sup>では、家庭内で無症候性患者がウイルスを伝播する危険性は、有症状者の 1/4であるという。無症候性患者のウイルス伝播の危険性は低いものの、彼らは家に隔離されずにむしろ地域に出ていくことが多いので公衆衛生上のリスクとなりうる、というのは、メリーランド州バルチモアのジョンズホプキンズ大学ブルームバーグ公衆衛生大学院の疫学者である Andrew Azman である。「実際の公衆衛生上の負荷である無症候性感染者との地域での接触が示唆することは、把握できる感染は無症候性感染者からの伝播であるということだ」と彼は言う。

しかし、他の研究者は、地域での感染における無症候性患者の果たす役割の程度については懐疑的である。もし、感染伝播のリスクが少ないということが事実であるとしても、これらの人々は爆発的感染拡大の密かな影響者ではない、と Byambasuren は言う。彼らは、「咳や鼻をすすることがあまりないので、有症状者と比べると、おそらくはさほど表面を汚染しない」。

イギリスのセントアンドリュース大学の感染症研究の Muge Cevik は、多くの人は症状があるので、それらの人を同定することに集中すればおそらく多くの感染事例を排除できると指摘する。

## ウイルスの動態

症状がない患者に何が起きているのかを理解するために、Cevik らはウイルスの動態と SARS-CoV-2 の感染性に関する SSRN(social-sciences preprint server) に投稿された 79 の研究のシステミックレビューとメタアナリシス<sup>4)</sup>を主導した。この中の研究の幾つかは、症状のある患者の初期咽頭ウイルス量は無症状の患者と同程度であることを示していた。しかし、無症状患者はウイルスをより早く消し去るので、感染力のある期間は短いようだ。

無症候性患者の免疫機構は、ウイルスをより早く中和することができる、と

Cevik は言う。しかし、かれらの免疫がより強く、反応も耐えうるということではない。重症 COVID-19 患者においても免疫反応は実質的であり、中和抗体の反応も長期間継続するのである、と彼女は言う。

無症候性感染と COVID-19 の伝播の理解は深まったが、無症候性感染者であっても先に述べた感染防止策を継続すべきであると Cevik は言う。

#### 文献

- 1) Nogrady B. What the data say about asymptomatic COVID infections.  
Nature 18 Nov. 2020 doi: 10.1038/d41586-020-03141-3
- 2) Byambasuren, O. et al. Estimating the extent of asymptomatic COVID-19 and its potential for community transmission: systematic review and meta-analysis.  
J. Assoc. Med. Microbiol. Infect. Dis. Can. doi: 10.3138/jammi-2020-0030(2020)
- 3) Bi Q, et al. Transmission of SARS-CoV-2: insights from a population-based serological survey. medRxiv 2020 doi: 10.1101/2020.11.04.20225537
- 4) Cevik, M, et al. Preprint at SSRN doi: 10.2139/ssrn.3677918(2020)

#### 4 4 I型インターフェロン病が原因の COVID-19 関連筋疾患

ハーバード大学ブリガムアンドウイメンズ病院の Amato ら<sup>1)</sup>による COVID-19 関連筋疾患の報告です。

COVID-19 の症状の中には筋肉痛があり、およそ 1/3 の患者で血中のクレアチニンキナーゼ(CK)の値が上昇する。この CK の上昇が筋肉へのウイルス感染のためなのか、サイトカインの中毒症状なのか、あるいは他の原因によるものなのかは明らかではない。COVID-19 患者の筋肉生検の報告は少ない。我々は、筋疾患をともなう COVID-19 患者が筋肉生検を受けた結果、ウイルスに誘発された I 型インターフェロン病と考えられた症例を報告する。

最近明らかな病歴や内服歴のない 38 歳の男性が、脱力感、筋肉痛、そして発熱を主訴に来院した。彼は、全身の筋力低下があり、それは遠位より近位で顕著であり、歩行したり、肩関節を外転したり、重力に抗して臀部を屈曲することが困難だった。ヘリオトロープ疹、ゴットロン兆候や丘疹、爪床の変化はみられなかった。胸部レントゲン写真では、両側下肺野の浸潤影があり、SARS-CoV-2 の RNA 検査(RT-PCR)が陽性であった。血清 CK 値は 29,800 U/L (正常値：39-308)、高感度トロポニン T は 3,157 ng/L (正常値：0-14)、CRP は 55 mg/L (正常値：<10)であり、ミオグロビン尿はなかった。心電図、心臓超音波、心臓 MRI 検査では異常がなかった。

左三角筋の筋生検の結果は、弱い血管周囲の細胞浸潤が少数の血管で見られ、壊死性や再生線維はなく筋膜周囲の萎縮もなかった。免疫組織化学的検討では、筋鞘や筋形質に **MHC ClassI** の発現が見られ、**ミクソウイルス耐性タンパク質 A (MxA)** の異常発現が筋繊維と毛細血管に見られた。SARS-CoV-2 は筋肉内には同定されなかった。

患者は、レムデシビルの静注を受けた (初回 200mg, その後 100mg 4 日間)。さらにメチルプレドニゾロンの静注 (1 日 1g を 3 日間)、プレドニンの内服 (1 日 60mg) をうけた。発症から 14 日で退院となったが、その時には歩行も可能で、CK 値は 5,130 U/L であった。

MxA はウイルス感染に伴い I 型インターフェロンにより誘導されるもので、SARS-CoV-2 でも報告されている。このタンパクの筋肉および毛細血管への沈着は、皮膚筋炎の初期像であり、筋膜周囲の萎縮の前にみられる。われわれの

患者では、皮膚筋炎に特徴的な症状は認められず、他の特徴である毛細血管での細胞膜障害性複合体も認めなかったため、SARS-CoV-2とは別に皮膚筋炎を発症していたとは考え難い。組織でのI型インターフェロンの過剰発現は、他のタンパクの発現を増し、血管内皮、筋肉、そして肺に対して組織障害を及ぼす。今回の筋肉生検の結果から、SARS-CoV-2による筋症は、I型インターフェロン病によるものと考えられた。

#### 解説

I型インターフェロン：インターフェロンのうち、インターフェロン $\alpha$  (INF $\alpha$ )とインターフェロン $\beta$  (INF $\beta$ )などを含めた総称で、ウイルス感染で誘導される抗ウイルス系のサイトカイン。後から感染させたウイルスの増殖を抑制する（ウイルス干渉）ことから発見された。主な働きとしては、

- 1) ウイルス複製を抑制することで、細胞のウイルス抵抗性を増す
- 2) ウイルス非感染細胞のMHC Class I分子の発現を増加し、NK細胞からの攻撃から保護
- 3) NK細胞を活性化させてウイルス感染細胞を除去する

このようにして、病的（ウイルス感染や自己免疫疾患など）にI型インターフェロンの産生が亢進する病態をI型インターフェロン病と呼んでいる。

#### 文献

- 1) Manzano GS, Woods JK, Amato AA. COVID-19-associated myopathy by Type I interferonopathy. N Engl J Med 2020 doi: 10.1056/NEJMc2031085

#### 4 5 TNF $\alpha$ と INF $\gamma$ 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研究病院の Kanneganti らのグループは、サイトカインの中でも TNF $\alpha$ と INF $\gamma$ 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 $\alpha$ と INF $\gamma$ 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 $\gamma$ , IL-15, TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , TNF $\beta$ , IL-1 $\beta$ , 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 $\alpha$ と INF $\gamma$ 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 $\alpha$ , INF $\gamma$  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 $\alpha$  と INF $\gamma$  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*<sup>-/-</sup>, *Nos2*<sup>-/-</sup>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 $\alpha$  と INF $\gamma$  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 $\alpha$  と INF $\gamma$  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*<sup>-/-</sup>, *Apaf1*<sup>-/-</sup>それぞれ単独では変化がなかったが、*Ripk3*<sup>-/-</sup>*Casp8*<sup>-/-</sup>のダブルノックアウトで細胞死が起こらなかった。
- 6) PANoptosis を抑制することで、TNF $\alpha$  と INF $\gamma$  によるマウスのショック死が回避される  
*Stat1*<sup>-/-</sup>および *Ripk3*<sup>-/-</sup>*Casp8*<sup>-/-</sup>マウスでは TNF $\alpha$  と INF $\gamma$  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。
- 7) TNF $\alpha$  と INF $\gamma$  の中和抗体によるサイトカINSTORM の治療実験はマウスの死亡率を低下させた  
TNF $\alpha$  と INF $\gamma$  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 $\alpha$  と INF $\gamma$  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 $\alpha$  + 抗 IFN $\gamma$  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- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  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

## 4 6 SARS-CoV-2 感染後に突然発症した ACPA 陽性関節リウマチ

COVID-19 後に発症した関節リウマチの 1 例を、フランスマルセイユの聖マルゲリート病院の Balandraud ら<sup>1)</sup>が世界で初めて報告しています。

関節リウマチは多因子により発症する疾患で、最も一般的なのは慢性炎症性関節リウマチ病である。多くの患者で、関節リウマチ発症には 2 つのことが中心的な役割を果たす。1 つは、シトルリン残基に対する自己抗体 (抗シトルリンペプチド抗体, ACPAs) の存在であり、これは発症前 15 年に遡って血中で検出が可能である。もうひとつがヒト白血球抗原(HLA)DR アリルであり、これは共有エピトープ(shared epitope)といって関節リウマチを発症する危険が高いことと関連する。なぜこのようなエピトープをもった特定のヒトに臨床的な多発関節炎が生じるのかは明らかになっていないが、外的要因である **ウイルス感染** が引きがねになっている可能性がある。ウイルスと自己反応性の誘導との間の明確な機序が明らかになっているとはとても言えないが、幾つかのヒトや動物に関する研究により、ウイルスが自己免疫疾患を宿主に起こしたり、逆に守ったりすることがわかっており、それは幾つかの因子、すなわち遺伝的背景、感染に対する免疫反応、ウイルス株、ウイルス量、感染の時期などに依存している。

2019 年にはじまった COVID-19 の爆発的感染は SARS-CoV-2 ウイルスによって引き起こされるが、これはさまざまなインフルエンザ様の症状である、嗅覚異常、下痢、骨関節疾患、また重症例ではおそらくはサイトカインストームを引き起こす。われわれは、SARS-CoV-2 感染直後に発症した ACPA 陽性の関節リウマチの一例を報告し、SARS-CoV-2 が臨床的な関節リウマチの活性化因子として働く可能性につき議論する。

明らかな既往歴のない、それまでは健康で BMI が 20 kg/m<sup>2</sup> のフランスマルセイユ在住の 60 歳女性が、2020 年 4 月 27 日、すなわち COVID-19 患者がフランスで多発していた頃に、普通でない脱力感、筋肉痛、腹痛、頭痛をともなう咳嗽を訴えた。2020 年 5 月 1 日に、患者はフランスマルセイユの大学病院の感染症科を受診した。RT-PCR 検査は陽性で、胸部 CT では、胸膜下の病変を主としたすりガラス様陰影と結節影が認められ、軽症の SARS-CoV-2 感染と診断された。患者は ヒドロキシクロロキンとアジスロマイシンを 5 日間、グルコン酸亜鉛を 10 日間投与された。患者の容体は 5-6 日のうちに改善し、繰り返し行



われた（発症から 11 日目）PCR 検査は陰性であった。

2020 年 5 月 21 日、最初の感染から 25 日後に、患者は右手、とくに小指の中指指節関節ならびに指骨間関節、に腫脹をともなう痛みを感じた。3-5 日後には関節炎は左第 1 指、さらには右の 2,3 指に及んだ。さらに患者は手に持続する朝のこわばりを自覚した。疼痛が続くので、2020 年 6 月に患者はマルセイユの聖マルゲリート病院リウマチ科を受診し、諸検査を受けた。

2020 年 5 月 1 日の血中抗環状シトルリン化(CCP)2 抗体は測定限界よりわずかに高かった(20 relative units [RU]/ml)が、2020 年 7 月 15 日には 76 RU/ml に上昇した。また、抗 CCP3 抗体は陽性で、5 月 1 日には 450 RU/ml (検出限界は 20 RU/ml)であったが、7 月 15 日には 625 RU/ml に上昇した。また、リウマチ因子は陰性で、その後も検出限界付近を維持した。また、IL-6 値は 5 月 1 日の検出限界 (2 pg/ml) から 7 月 15 日には 31 pg/ml にまで上昇した。

患者の抗核抗体は 1/1280 で、スペックルパターンを呈した (6/8 および 7/15)。また、抗 DNA 抗体は 17 IU/ml (検出限界 : 15 IU/ml) であった (7/15)。抗シェーグレン症候群関連抗原(SSA) および B は 7 月 15 日に陽性であった。また、抗ペプチディルアルギニンデアミナーゼ (抗 PAD) 4 抗体と抗 PAD3 IgG 抗体は 5 月 1 日以降陽性であった。しかしながら、抗 PAD2 あるいは抗 PAD4 の IgM は陰性であった。

患者の ESR は 97mm(7/15)、CRP は正常から(5/1)18.5mg/L(7/15)へと上昇した。電気泳動ではポリクローナルな免疫グロブリンの増加が見られた。HLA の遺伝子型は古典的な共有エピトープを持っていなかった。

T 細胞の反応を見る検査では、PAD4(7/15)は反応したが PAD2 は反応しなかった。この反応はシトルリン化フィブリノーゲンにみられたが、ナイーブなフィブリノーゲンではみられなかった。フローサイトメトリーでは、PAD4 に特異的な CD4+T 細胞と、PAD4, PAD4 由来ペプチド 8, PAD2 による増殖反応が見られた。

患者の手、手関節、足のレントゲン写真では関節破壊の所見はなかった(7/15)。超音波では、冷滑膜炎がところどころで見られたがドップラー信号は確認でき、びらの所見はなかった。これらの所見から、患者は ACPA 陽性関節リウマチと診断され、これはアメリカリウマチ学会およびヨーロッパ対リウマチ連合の診断基準を満たしていた。患者は、メトトレキサート(10 mg/week)による治療を言い渡され(7/20)、治療効果は良好であった。一連の経過から、SARS-CoV-2

感染が関節リウマチの発症に関与しているのではないかと考えている。

SARS-CoV-2 感染後の一過性の関節炎の症例は、これまでも報告がある。この患者は、HLA-B27 の遺伝子型を持ち、高尿酸血症もなく、リウマチ因子や APCA が血清中で認められていない。APCA 陽性の関節リウマチ例の報告もあるが、この例では関節症状出現前の自己抗体を測定していない。

今回、われわれは SARS-CoV-2 の感染時から関節炎発症時までの自己抗体を注意深く経過観察した。注目すべきことは、SARS-CoV-2 陽性時にはすでに患者の ACPA は検出されたことである。しかし、患者が関節炎を発症した時にはその数値は実質的に上昇した。感染性のある病原体が関節リウマチの突然の発症をきたすことが知られている。確かに、全身性の炎症反応が炎症性マーカーの増加をきたした可能性は否定できない（例えば、IL-6 や ESR）。しかしながら、ACPA 価の上昇は、関節炎の発症前にエピトープが広がったことを示しており、SARS-CoV-2 感染は、この患者の関節リウマチの突然の発症を早めたと考えられる。

SARS-CoV-2 陽性 2 例の報告では、*HLA-DRB1\*15:01* と *HLA-DQB1\*06:02* との関連を指摘しており、これらがウイルス陽性になりやすい傾向から、防御的 T 細胞の反応に必要なウイルスペプチドの提示が不完全であることを示唆している。同様に、今回の患者では、*HLA-DRB1\*15:01* と *HLA-DQB1* のホモアレルなので、SARS-CoV-2 感染に反応する細胞性免疫の質に影響を与えた可能性もある。また、患者は PAD4 と PAD4 由来のペプチド 8 に対する抗体反応と T 細胞反応性を有していたので、関節リウマチのハプテンキャリアーモデルを支持するものである。

知り得る限りでは、今回の症例は SARS-CoV-2 感染後に発症した ACPA 陽性関節リウマチの初めての報告であり（関節炎発症前後の検体があるという意味で）、感染がエピトープの拡散の引き金になり、臨床的な関節リウマチ症状を引き起こした。

#### 文献

- 1) Perrot L, et al. First flare of ACPA-positive rheumatoid arthritis after SARS-CoV-2 infection. Lancet 2020 doi: 10.1016/S2665-9913(20)30396-9

おわりに

新型コロナウイルス感染症に関する新しい知見について、連載後に明らかになったことを中心に述べたいと思います。

新型コロナウイルスが、どこからやってきたかはまだ明らかになっていません。WHOによる中国の視察が行われましたが、何分にも最初の報告から（それが本当として）すでに一年以上が経過しており、あらたな発見はもたらされなかったようですが、少なくとも中国政府は当初隠蔽に走ったことは事実のようです。

また、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は「コウモリ」由来であることがわかっています。コウモリのことをよく知らなかったのですが、寿命は41年以上あり、超音波などを駆使した飛行など卓越した能力を持っていることが知られています。飛行時には体温は41度以上に上昇し、心拍数も毎分1,000回程度の状態を維持できるのです。また、さまざまなウイルスと共存していることも脅威です。ヒトであれば免疫反応をはじめ、いろいろと不都合な反応が起こるところをうまく具合に制御しているようであり、この辺の詳細がわかれば、ヒトでの治療にも役立つのではないかと思います。

最近の検査では、唾液によるPCRも行われていることが多いと思います。しかし、高齢者では口が渴いているなどの理由でうまく容器に唾液を集められないこともあり、鼻咽頭からのサンプルをとることになります。さらに、発熱している患者であれば、多くは誤嚥性肺炎や尿路感染などの可能性が高いわけですが、除外診断としてSARS-CoV-2抗原検査をすることも必要になります。

さらに、感染性の話題では、変異株の問題（変異するということは、感染に優位な株が生まれる一方で、弱毒株が生まれる可能性もあるということです）や、鼻咽頭でのウイルス量の問題もあります。実際、長期にわたりmRNAが検出される問題は、持続感染なのかどうかかわからないので、検出方法の改善（サブジェノミックRNAの検出など）も必要でしょうし、感染力があるウイルスかどうかの検査も、現在のVero細胞（アフリカミドリ猿の腎臓由来）以外の方法も考案する必要があります。さらに、ウイルスRNAが逆転写によりヒトゲノムに挿入されるという驚くべき報告もあり、これがウイルスゲノムPCRでの陽性所見が長期化する原因かもしれません。

感染様式では、スーパースプレッダーの存在が示唆され、少数により多くの

感染が起こることがわかっています（20%が80%を感染させる）。多くは飛沫感染で接触感染は少ないと考えられており、一部の空気感染が問題です。いずれにせよ、人が多い場所で長時間マスクを外す行動は慎んだ方が良さそうです。

遺伝的な問題では、重症化因子としてネアンデルタール人由来の第3染色体領域があげられましたが、最近になり、予後が良くなる領域として第12染色体領域も明らかになっています。いずれにせよ、これまでと同様、人類は感染症との戦いを続け、その記録は遺伝子に刻まれるのです。

病態では、免疫反応の異常からサイトカインストームが生じるのみならず、細胞死がおこることがわかってきました。また、後遺症も含めて自己免疫疾患に類似した病態も明らかになっています。

新規の治療薬はなかなか出てきませんが、最近のウイルスと宿主のタンパク相互関係から導かれた eEF1A 阻害剤である Plitidepsin はかなり有望です。また、ウイルスのタンパク分解酵素阻害剤も開発されており、年内には治験が開始されます。

さて、ワクチンですが、各国で接種が始まっていますが、急性期の副反応（おそらくはポリエチレングリコールが原因）はさほど顕著ではないものの、はたして日本人でも感染を防げるのか、かかっても軽く済むのかなどの検証はこれからです。また、もう一つ重要なのが、他人に感染させることを減らせるかということであり、血中の抗体価は確かに増えても、鼻粘膜にまでは反映されない場合もあるので注意が必要です。日本でも、ワクチン開発が進んでおり、従来の不活化ワクチン、生ワクチンなどが期待されます。

いずれにせよ、この感染症の1日も早い収束を願ってやみません。

令和3年3月5日

川崎高津診療所

松井英男

## 著者紹介

### 松井英男（まつい ひでお）

医療法人社団ビジョナリー・ヘルスケア理事長、専門は消化器外科学。大学病院勤務を経て2010年より川崎市高津区に川崎高津診療所を開設し、高齢者への訪問診療を開始する。1960年東京都生まれ。1986年慶應義塾大学医学部卒業。1996年米国テネシー大学リウマチ内科、分子生物学、医療工学でアンドリュー・カーン教授に師事。同時にメンフィス在郷軍人医療センター勤務。この間に、遺伝子発現の転写調節機構の研究をおこなう。1998年帰国後に名古屋の藤田保健衛生大学（現藤田医科大学）勤務、宇山一朗講師（現教授）と共に腹腔鏡下胃切除術の開発と普及に努める。また、この間に同総合医科学研究所黒澤良和教授に師事し、人工抗体ライブラリーの研究に取り組む。2006年より東海大学消化器外科准教授。

## 著書

「腹腔鏡下胃切除術」第2版 医学書院 2010年

「人生をわが家で終える」2011年 日本経済新聞出版社

「Laparoscopic Gastrectomy for Cancer」Springer 2012年

## 新型コロナウイルス感染症 最新の研究

---

2021年3月6日 初版 v1.1

2021年5月9日 第1版 v1.2

著者：松井英男

発行者：今井邦彦

発行所：ビジョナリー・ヘルスケア出版

〒213-0001 神奈川県川崎市高津区溝口 4-1-3-4F

電話 044-829-0103（代）<http://www.kt-clinic.jp>

---

Published on line in Japan ©Hideo Matsui, 2021 All rights reserved