

【目的】2019年末に発生した新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染症（COVID-19）の世界的流行が続いている。COVID-19症例の多くは、発熱、咳、鼻汁、咽頭熱などの軽い呼吸器症状でおさまるが、高齢者や基礎疾患を有する者などは重度のウイルス性肺炎を併発して重症化し、死に至ることも少なくない。重篤なウイルス性肺炎を呈した患者には、呼吸器症状や全身症状に応じた対処療法が行われるが、有効な治療法は確立していないのが現状である。COVID-19重症例の肺では大量の免疫細胞の浸潤が認められ、病態の増悪に寄与することが示唆されているが詳細については不明である。SARS-CoV-2の感染部位における炎症進展ならびに組織障害のメカニズムを解明するためには、感染から重症化に至るまでの感染個体の体内で起きている様々な生理学的事象を可視化して解析する必要がある。私たちはこれまでに、2光子励起顕微鏡を用いた生体イメージングシステムを開発したことで感染動物の肺を高解像度で観察し定量化解析が可能な実験系を確立してきた。本研究では、SARS-CoV-2感染肺における免疫細胞の役割について、生体肺イメージングシステムを用いて解析し、COVID-19肺炎の病態を解明することを目指した。

【方法】本研究ではSARS-CoV-2に高い感受性を示すヒトアンジオテンシン変換酵素2（hACE2）発現トランスジェニック（Tg）マウスに蛍光レポーターSARS-CoV-2を感染させ生体イメージング解析に供した。肺の血流と好中球ならびに血小板を可視化するために蛍光Dextran、蛍光標識抗Ly-6G抗体ならびに抗CD41抗体を経静脈的に投与した。感染マウスは麻酔下で管理し人工呼吸器で補助しながら開胸し、露出させた肺を肺吸引保定器で保持した。感染肺の病態生理学的な変化を、顕微鏡を用いてタイムラプス像として撮影し、画像解析ソフトを用いて定量化解析を行った。

【結果】蛍光レポーターSARS-CoV-2に感染したhACE2 Tgマウスの肺を観察すると、Venus陽性のI型肺胞上皮細胞とII型肺胞上皮細胞が観察され、これらの肺胞上皮細胞種がSARS-CoV-2に感染することが示された。蛍光標識DextranをhACE2 Tgマウスの血管内に投与すると血流が可視化され、Dextranの分子量を選択することで血管の透過性を評価することが可能である。血中アルブミン（66 kDa）とほぼ同程度の分子量の蛍光標識Dextran（70 kDa）を投与すると、蛍光レポーターSARS-CoV-2に感染したhACE2 Tgマウスの肺ではDextranの肺胞腔への漏出が認められた。その一方で、非感染マウスでは肺毛細血管からの蛍光標識Dextranの漏出は認められなかった。また、SARS-CoV-2に感染したhACE2 Tgマウスの肺では、肺毛細血管中の好中球の数が感染経過に従って増加し、その移動速度が低下することが示された。さらに、SARS-CoV-2感染肺において好中球は血小板との複合体からなる微小血栓様の凝集塊が形成されることが明らかとなった。

SARS-CoV-2に感染したマウス肺の生体イメージング

