COVID-19感染症患者の重症化に関わる 宿主遺伝子因子の検討

大段秀樹¹、谷峰直樹¹、田邊和照²、小林剛¹、田中友加¹、竹井大祐¹ 築山尚史¹、好中久晶¹、竹元雄紀¹、杉山文³、 秋田智之³、田中純子³

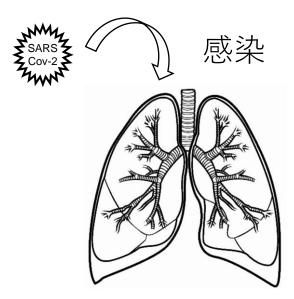
Firoshima University

1:広島大学大学院医系科学研究科 消化器・移植外科学 2:広島大学大学院医系科学研究科 周術期・クリティカル開発学 3:広島大学大学院医系科学研究科 疫学・疾病制御学

SARS-Cov-2によるCOVI-19感染と発症・重症化

病原体因子

宿主因子

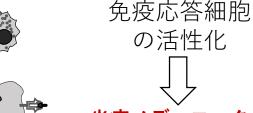


組織への**侵入** + ウイルス**増殖**





免疫反応



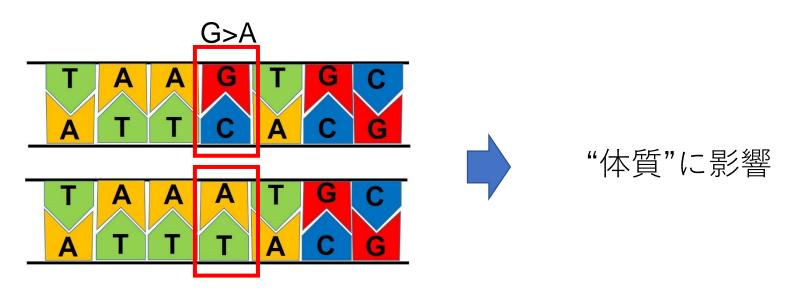
炎症メディエーター サイトカイン

生体防御反応 免疫反応の暴走

感冒症状 ~ 重症呼吸不全

遺伝子多型:1%以上の受け継がれる遺伝子変異型

一塩基多型(Single nucleotide polymorphism, SNP) 全塩基配列中に200万か所



マイクロサテライト多型 全塩基配列中に約**10**万か所

候補遺伝子アプローチ Candidate gene approach



(網羅的遺伝子検索アプローチ)

生体反応に重要な分子の抽出



遺伝子多型による生体反応の相違

Candidate Gene approachにより 14分子、33遺伝子多型を抽出・検討した

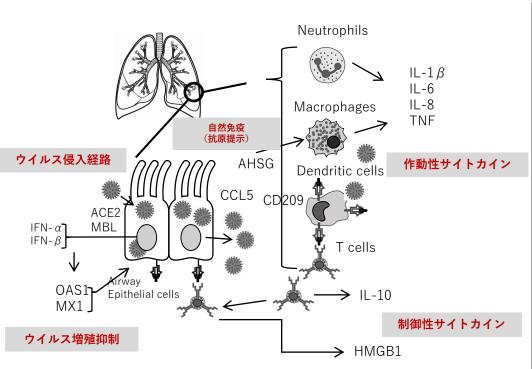


図1:Covid-19感染に伴う生体防御機構および関連分子

表 1	Candidate Gene	Annroach L	110	て抽出給計し	た遺伝子多刑

Molecule	CND -:	Major	Minor	Variation	Minor allele	Gene locus
Molecule	SNP site	allele	allele	Variation	frequency*	(GRCH38.12p)
1. ウイルス・	侵入経路関連分子					
ACEI	Alu repeat Insertion/Deletion	I	D	Intron	-	chr17q21 Intron16
ACE2	rs2285666	С	Т	Intron	0.41	Chr.X: 15592225 (GRCh38. p12)
ACE2	rs2074192	С	Т	Intron	0.32	chrX:15564667 (GRCh38.p12)
ACE2	rs4646174	С	G	Intron	0.27	chrX:15570148 (GRCh38.p12)
MBL	rs1800450	С	Т	Promoter	0.15	Chr10:52771475 (GRCh38.p12)
MBL	rs11003125	G	С	Promoter	0.45	chr10:52772254 (GRCh38.p12)
MBL	rs7096206	G	С	Promoter	0.45	chr10:52771925 (GRCh38.p12)
2. ウイルス:	增殖抑制					
OAS1	rs1131454	Α	G	Exon	0.41	chr12:112911065 (GRCh38.p12)
OAS1	rs2660	Α	G	Exon	0.26	chr12:112919637 (GRCh38.p12)
Mx1	rs17000900	С	Α	Promoter	0.15	chr21:41426103 (GRCh38.p12)
Mx1	rs2071430	G	Т	Promoter	0.3	chr21:41426138 (GRCh38.p12)
3. 自然免疫	関連分子					
AHSG	rs2248690	Α	Т	Promoter	0.16	Chr.3: 186612299 on GRCh38
CD209	rs4804803	Α	G	Promoter	0.07	Chr.19: 7747847 on GRCh38
CCL5	rs2280788	С	G	Promoter	0.1	Chr.17: 35880401 on GRCh38
4. 免疫制御	調整サイトカイン					
HMGB1	rs2249825	G	С	Intron	0.17	chr13:30463766 (GRCh38.p12)
HMGB1	rs1045411	С	Т	3 Prime UTR	0.23	chr13:30459095 (GRCh38.p12)
HMGB1	rs1412125	Т	С	Intron	0.31	chr13:30467458 (GRCh38.p12)
HMGB1	rs1360485	G	Α	3 Prime UTR	0.26	chr13:30457747 (GRCh38.p12)
IL-10	rs3024496	Α	G	3 Prime UTR	0.03	chr1:206768519 (GRCh38.p12)
IL-10	rs1800872	Т	G	2KB Upstream	0.32	chr1:206773062 (GRCh38.p12)
5. 免疫作動	サイトカイン					
TNFα	rs1800629	G	Α	Promoter	0.09	chr6:31575254 (GRCh38.p12)
TNFα	rs361525	G	Α	Promoter	0.06	chr6:31575324 (GRCh38.p12)
TNFα	rs1799724	С	Т	Promoter	0.1	chr6:31574705 (GRCh38.p12)
TNFα	rs1799964	Т	С	Promoter	0.22	chr6:31574531 (GRCh38.p12)
IL-6	rs1818879	G	Α	3' UTR	0.21	chr7:22733108 (GRCh38.p12)
IL-6	rs1800795	G	С	Intron	0.14	chr7:22727026 (GRCh38.p12)
IL-6	rs1800797	G	Α	Intron	0.14	chr7:22726602 (GRCh38.p12)
IL-8	rs4073	Α	Т	Upstream	0.48	chr4:73740307 (GRCh38.p12)
IL-8	rs2227306	С	Т	Intron	0.26	chr4:73741338 (GRCh38.p12)
IL-8	rs2227307	Т	G	Intron	0.42	chr4:73740952 (GRCh38.p12)
IL-1β	rs16944	A	G	Promoter	0.49	chr2:112837290 (GRCh38.p12)
IL-1β	rs1143634	G	A	Promoter	0.13	chr2:112832813 (GRCh38.p12)
IL-1β	rs1143627	G	A	5 Prime UTR	0.48	chr2:112836810 (GRCh38.p12)
	.000 data baseからea					(2

広島県の新型コロナウイルス感染者の臨床情報を用いた疫学的検討

対象

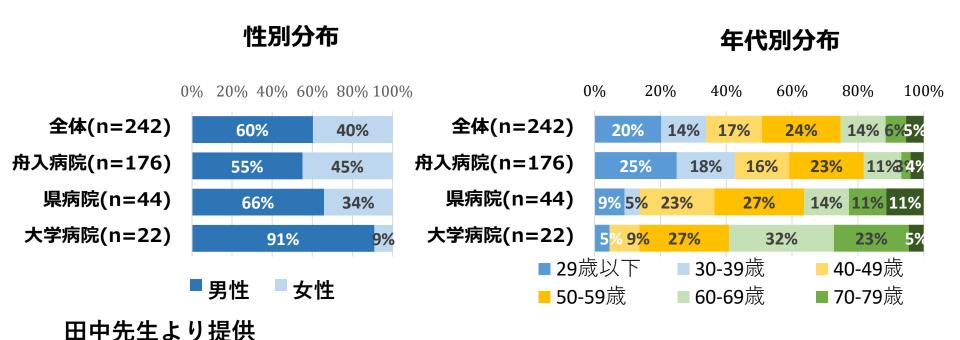
COVID19-指定病院に入院した患者 242人

①舟入病院:176人(2020年3月7日-5月4日、2020年8月18日-2021年1月28日までの期間に入院)

②県病院: 44人*(2020年9月11日-12月12日までの期間に入院)

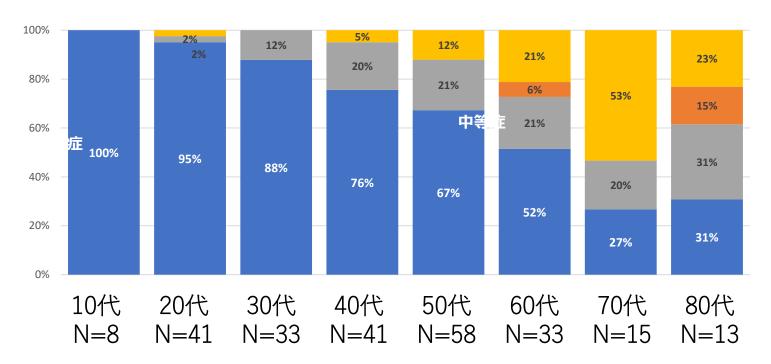
③大学病院:22人(2020年9月23日-2021年1月29日までの期間に入院)

入院患者 ・退院後フォロー患者のうち、本調査への参加同意を得られた人の匿名化後カルテ情報を解析。



広島県の新型コロナウイルス感染者の臨床情報を用いた疫学的検討

年代別_入院中の重症度分布(NIH分類)



■ 軽症 :酸素投与なし

■ 中等症:酸素投与あり

■ 重症 :陽圧換気(NPPV等)必要

■ 最重症:挿管管理必要

重症4例

最重症者28例

重症度別_入院日数・死亡数・致死率

田中先生より提供

対象:2020年3月~2021年3月までに広島大学病院、県立広島病院、舟 入市民病院にて同意を得られた230名のCovid-19感染(PCR陽性)患者。

方法:採取血液よりgDNAを分離し、Taqman SNP genotyping assay にて遺伝子型を同定した。

重症度は米国National Institutes of Healthガイドラインでの分類に基づき、軽症、中等症、重症、最重症に分類した。

ロジスティック回帰分析を用いて臨床背景因子および遺伝子多型を重症 化リスク因子として評価した。

	DISEASE SEVERITY	PANEL'S RECOMMENDATIONS (Recommendations are listed in order of preference in each category below; however, all options are considered acceptable.)
酸素投与なし	Not Hospitalized or Hospitalized but Does Not Require Supplemental Oxygen	No specific antiviral or immunomodulatory therapy recommended The Panel recommends against the use of dexamethasone (AI) See the Remdesivir section for a discussion of the data on using this drug in hospitalized patients with moderate COVID-19. ^a
酸素投与必要	Hospitalized and Requires Supplemental Oxygen (but Does Not Require Oxygen Delivery Through a High-Flow Device, Noninvasive Ventilation, Invasive Mechanical Ventilation, or ECMO)	Remdesivir 200 mg IV for one day, followed by remdesivir 100 mg IV once daily for 4 days or until hospital discharge, whichever comes first (AI) ^{b,c,d} or Remdesivir (dose and duration as above) plus dexamethasone ^o 6 mg IV or PO for up to 10 days or until hospital discharge, whichever comes first (BIII) ^t If remdesivir cannot be used, dexamethasone ^o may be used instead (BIII)
高濃度酸素必要 (NPPV, HFNC)	Hospitalized and Requires Oxygen Delivery Through a High-Flow Device or Noninvasive Ventilation	Dexamethasone ^d plus remdesivir at the doses and durations discussed above (AIII) ¹ or Dexamethasone ^{d,e} at the dose and duration discussed above (AI)
人工呼吸器 ECMO必要	Hospitalized and Requires Invasive Mechanical Ventilation or ECMO	Dexamethasone ^{d,e} at the dose and duration discussed above (AI) or Dexamethasone ^e plus remdesivir for patients who have recently been intubated at the doses and durations discussed above (CIII) ^e

https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/

人工呼吸器管理を要した最重症例では高い死亡率が確認された

	軽症 (n= 163)		中等症 (n=36)		重症 (n= 3)		最重症 (n=28)	
入院時情報								
入院時症状		(%)		(%)		(%)		(%)
37.5発熱	62	38%	21	58%	2	67%	14	50%
咳嗽	60	37%	20	56%	2	67%	10	36%
呼吸困難	8	5%	12	33%	0	0%	21	75%
その他	125	77%	29	81%	3	100%	15	54%
全経過無症状	12	7%	1	3%	0	0%	0	0%
入院時重症度(NIH分類) 軽症/中等症/重症/最重症	163/0/0/0		15/21/0/0		3/0/0/0		4/12/3/9	
入院期間 (days)	7.5 + 4.9		12.7 + 9.4		18.5 + 17.3		17.0 + 8.0	
発症-入院まで (days)	4.4 + 4.2		5.9 + 4.1		3.0+1.8		4.5 + 3.1	
死亡転帰	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	7	25.0%
入院時データ*								
白血球数	4768+1825)	4688+ 2229		6950+3248		9159+3512	
リンパ球数	1041+782		759+634		1480+2061		716 + 373	
CRP	1.06+1.60		4.70 + 3.50		2.23+2.97		7.84 + 6.57	
LDH	209+50.2		282+ 72		296+136		453+228	
Procalcitonin	0.04+0.08		0.08 + 0.11		0.06 + 0.03		0.25 + 0.43	
Feritin	295+ 313		563+519		583+320		686+686	
D-dimer	0.34 + 0.42		0.70 + 0.74		1.25 + 0.66		1.59 + 1.87	
KL-6	221/135		282+197		374+292		597+517	

^{*}最重症症例データの多くは重症症例受け入れ機関転院時データを含む

年齢・性別・肥満係数・糖尿病・高血圧の併存を 最重症化の臨床的説明因子とした

	軽症 (n= 163)		中等症 (n=36)		重症 (n= 3)		最重症 (n=28)		最重症 vs その他 T test (p value)
患者基本情報									
年齢	53.1 ± 16.3		59.7+ 12.7		67.7+13.3		64.2+13.3		
年齢<65/≥65*	147/16		25/11		2/1		12/16		< 0.0001
性別(男性/女性)*	85/78		24/12		2/1		23/5		0.0042
BMI	23.4+ 3.46		25.2+ 5.3		23.5 + 1.0		27.6+4.9		
BMI < 25/ ≥25*	104/42		22/14		2/1		10/18		0.0006
生活歴・既往歴									
現在喫煙	43	26%	3	8%	0	0%	0	0%	0.0015
過去喫煙歴	84	52%	19	53%	1	33%	12	43%	0.5364
糖尿病*	16	10%	7	19%	0	0%	14	50 %	< 0.0001
高血圧*	23	14%	12	33%	2	67%	20	71 %	< 0.0001
慢性呼吸器疾患	9	6%	0	0%	0	0%	1	4%	0.8133
心筋梗塞	4	2%	0	0%	0	0%	4	14%	0.0077
心不全	1	1%	0	0%	0	0%	1	4%	0.1923
脳梗塞	1	1%	0	0%	0	0%	2	7 %	0.0264
慢性腎臓病	0	0%	1	3%	0	0%	2	7 %	0.0264
悪性腫瘍	3	2%	0	0%	0	0%	0	0%	0.3736
臓器移植	1	1%	1	3%	0	0%	0	0%	0.4680
ステロイド内服	0	0%	1	3%	0	0%	1	4%	0.1923

年齢・性別・肥満係数・糖尿病・高血圧の併存を 最重症化の臨床的説明因子とした

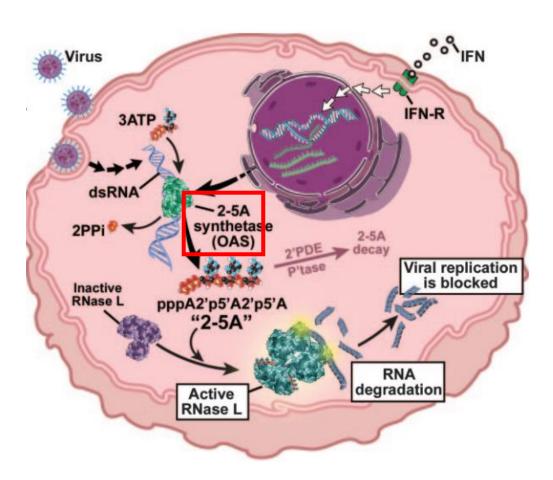
	軽症 (n= 163)	中等症 (n=36)	重症 (n= 3)	最重想 (n=28		最重症 vs その他 T test (p value)
患者基本情報 年齢 年齢<65/≥65* 性別(男性/女性)* BMI	53.1 ± 16.3 147/16 85/78 23.4+ 3.46	59.7+ 12.7 25/11 24/12 25.2+ 5.3	67.7+13.3 2/1 2/1 23.5+1.0	64.2+13.3 12/16 23/5 27.6+4.9	}	<0.0001 0.0042
BMI < 25/ ≥25* 生 活歴・既往歴 現在喫煙		22/14 末説明因子解析			0%	0.0006 0.0015
過去喫煙歴 糖尿病* 高血圧*	因子 年齢65歳以上	4.6 (1.	5%信頼区間) .4- 15.1)	p value 0.0126	43% 50% 71%	< 0.0001
慢性呼吸器疾患 心筋梗塞 心不全	男性 BMI 25以上	•	.73- 9.3) .97- 8.6)	0.143 0.0576	4% 14% 4%	0.8133 0.0077 0.1923
脳梗塞 慢性腎臓病 悪性腫瘍	糖尿病併存 高血圧併存	•	.7- 14.4) .2- 13.3)	0.0037 0.0199	7% 7% 0%	0.0264 0.0264 0.3736
臓器移植 ステロイド内服			3% 0 3% 0	0% 0 0% 1	0% 4%	0.4680 0.1923

33遺伝子多型の中から3つの遺伝子多型が 独立した最重症化リスク因子となることが判明した

			Additive model		Dominant n	nodel	Re	Recessive model		
Gene	SNP site		adjusted OR	p value	adjusted OR	p value		adjusted OR	p value	
		AA	(reference)							
OAS-1	rs1131454 (A>G)		` , ,		GG (1.8- 27.6)	0.0048	G allele	2.1 (0.63- 6.8)	0.23	
		GG	7.4 (1.6- 34.6)	0.011						
		GG	(reference)							
IL-1b	rs16944	GA	1.5 (0.3-6.4)	0.61	AA (1.3-17.0)	0.021	G allele	2.2 (0.58-8.63)	0.25	
		AA	6.1 (1.1-16.2)	0.037						
		AA	(reference)							
IL-1b	rs1143627	AG	1.5 (0.3-6.4)	0.61	$GG \frac{4.6}{(1.3-17.0)}$	0.021	A allele	2.23 (0.57-8.64)	0.24	
		GG	6.1 (1.1-33.3)	0.037						

ロジスティック回帰分析 年齢>65, 性別、BMI>25, 糖尿病の併存、高血圧の併存を説明変数として調整

OAS-1はウイルスRNAを直接認識し、 ウイルス増殖を阻害する

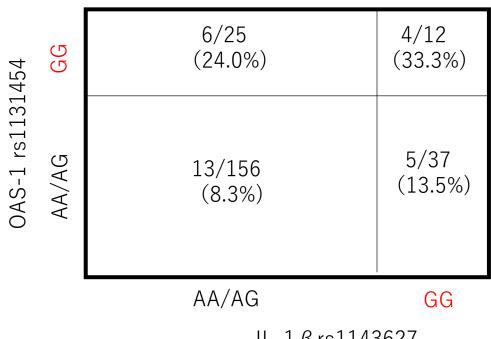


Shilver H, et al. Hournal of Virology. 2007

同定された単一遺伝子解析により、**4-7**倍の重症化リスクが示唆された。

⇒遺伝子間の相互作用 病態フェーズをまたいだ相乗効果

遺伝子リスク多型区分別最重症化頻度



全体最重症化率 28/230 (12.2%)

IL-1 β rs1143627

遺伝子別リスク多型頻度

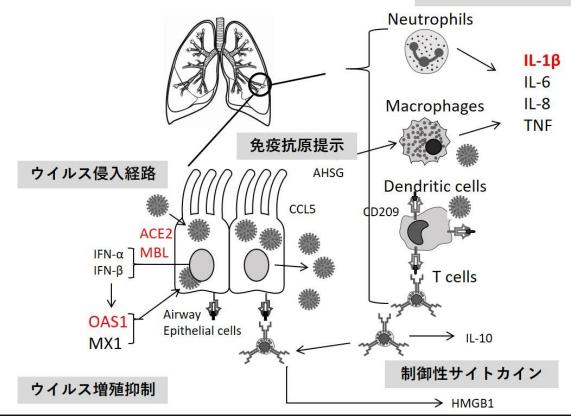
Gene	SNP	Major allele		Major homo		Hetero		Minor homo	
OAS-1	rs1131454	Α	G	90	39.1%	103	44.8%	37	16.1%
IL-1b	rs1143627	Α	G	70	30.4%	111	48.3%	49	21.3%
IL-1b	rs16944	G	A	69	30.0%	111	48.3%	50	21.7%

MDR解析による遺伝子間高次元相互作用の検討

作動性サイトカイン

MDR:

Multifactor
Dimensionality
Reduction



		Best model of	candidate		Testing accuracy	CV consistency	P value
1	OAS1 rs1131454				0.62	10/10	0.0018
2	ACEI Alu repeat I/D	MBL rs11003125			0.63	3/10	0.0102
3	IL-1β rs1143627	ACE2 rs2074192	OAS1 rs1131454		0.67	3/10	0.0007
4	IL-1β rs1143627	ACE2 rs2074192	MBL rs11003125	OAS1 rs1131454	0.74	9/10	< 0.0001

臨床背景因子とは独立した重症化リスク遺伝子群による重症化リスク分類の確立



組み合わせによる個別の重症度リスク判定法の開発