

厚生労働行政推進調査事業費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
 遺体における新型コロナウイルスの感染性に関する評価研究
 分担研究報告書

病理・法医解剖における各種検体の感染病理学的解析
 及び COVID-19 遺体へのネクロプシーの応用

研究分担者	鈴木忠樹	国立感染症研究所 感染病理部
研究協力者	平田雄一郎	国立感染症研究所 感染病理部
研究協力者	飯田俊	国立感染症研究所 感染病理部
研究協力者	新城雄士	国立感染症研究所 感染病理部
研究協力者	中島典子	国立感染症研究所 感染病理部
研究協力者	片野晴隆	国立感染症研究所 感染病理部
研究協力者	佐藤由子	国立感染症研究所 感染病理部
研究協力者	飛梅実	国立感染症研究所 感染病理部
研究協力者	高橋健太	国立感染症研究所 感染病理部
研究分担者	槇野陽介	東京大学大学院医学系研究科法医学
研究協力者	中嶋 信	東京大学大学院医学系研究科法医学
研究協力者	吉良 圭	東京大学大学院医学系研究科法医学
研究分担者	秋富慎司	日本医師会総合政策研究機構
研究分担者	永澤明佳	千葉大学大学院医学研究院附属法医学教育研究センター
研究代表者	斉藤久子	千葉大学大学院医学研究院法医学教室

研究要旨

感染症に対する治療薬やワクチンの開発には病態への理解が不可欠であるが、特に病原体の局在(どの臓器・組織に病原体が感染しているか)や組織変化(どの臓器・組織にどのような障害が生じているか)を明らかにすることが重要である。しかし、呼吸器検体等のウイルス遺伝子検査やウイルス抗原検査、胸部 CT では病原体の体内局在や組織変化を詳細にとらえることは不可能であり、新型コロナウイルス感染症の発病機構および重症化機構を理解するためには患者の組織検体を用いた病理学的な解析が必須である。そこで本分担研究課題では、新型コロナウイルス感染症の感染病理学的解析手法を整備した。また、感染防護その他の理由から剖検ができない事例において剖検を代替する手法として挙げられるネクロプシーについて、その妥当性の評価を行った。その結果、左右肺 5 葉など、複数の肺組織検体を用いて組織評価及びウイルス遺伝子検索を実施し、これらを合わせて評価することで正確な病態評価が可能となることが示唆された。

A. 研究目的

現在、新型コロナウイルス感染症に対する治療薬・ワクチンの開発が進められているが、感染症に対する効果的な治療法・予防法の開発には、その病態への十分な理解が必須である。とりわけ、臓器・組織における病原体の局在の解明により病原

体と病態との因果関係を明らかにすることや、病変部に生じた形態学的変化の解析を通じて発病や重症化の機序を理解することが重要である。しかし、ウイルス学的検査や画像診断では、病原体の体内局在や組織変化を詳細にとらえることは不可能であるため、感染症の病態解明には患者の組織検体

を用いた病理学的な解析が不可欠である。そこで本分担研究課題では、新型コロナウイルス感染症の感染病理学的解析手法を整備することを目的とした。

また、剖検実施に当たっては剖検時における感染防護が問題となるが、感染防護具のキャパシティー不足により実施が回避される傾向にある。この解決として、ネクロプシー；死後針生検が挙げられる。そこで上記感染病理学的解析に当たって剖検とともにネクロプシーを実施し、その妥当性を評価した。

B. 研究方法

1. 新型コロナウイルス感染患者遺体の病理解剖で得られた組織検体を用いて、各種抗体を用いた免疫組織化学、in situ hybridization 法、ウイルス遺伝子検査、ウイルス遺伝子配列解析を実施した。
2. 病理解剖の実施に先立ち、ネクロプシー；針生検による検体採取を行った。これにより得られた組織検体を用いて剖検時に得られた検体と同様に免疫組織化学、in situ hybridization 法、ウイルス遺伝子検査を施行し、ネクロプシーによる COVID-19 評価の妥当性について評価を行った。

(倫理面への配慮)

本研究については、国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会により審査を行い承認後に実施した。

C. 研究結果

【感染病理学的解析手法の整備】

新型コロナウイルス感染症死亡例の病理解析に必要な免疫組織化学、in situ hybridization 法、ウイルス遺伝子検査、ウイルス遺伝子配列解析手法を開発し、これらの方法により、実際の解剖症例の解析が可能であることを確認した。具体的には、ウイルス遺伝子検査により、新型コロナウイルスの遺伝子が呼吸器検体を中心に検出され、また肺組織における免疫組織化学においては肺胞壁に形成された硝子膜や肺胞空内に脱落した肺胞上皮細胞、そしてマクロファージにウイルスの局在が確認された。その結果、新型コロナウイルス感染症における肺炎では、急性呼吸窮迫症候群 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) を反映した

組織像であるびまん性肺胞傷害 (diffuse alveolar damage, DAD) の所見が特徴的であることを明らかにした。一般的には、DAD の組織像は時間経過とともに滲出期から器質化期、更に線維化期へと変化するが、新型コロナウイルス感染症においても発症早期では滲出期が多く、発症から時間が経過した例では線維化期が多くなる傾向にあった。さらに、新型コロナウイルス感染症肺炎の大きな特徴としては、これらの病期の異なる病変が同一個体の肺葉内に同時に存在することが明らかになった。剖検肺組織においては、比較的早期の病変から後期の病変まで様々な病期の病変が観察される事が多く、肺内の全ての部位に同時にウイルス感染が起こり、病変が形成されていくわけではなく、肺内でウイルス感染が徐々に拡大していき、最終的に呼吸不全につながるような広大な病変が形成されることが示唆された。

症例によっては、心臓や肝臓など、肺以外の多数の臓器からウイルス遺伝子が検出されるものも認められた。しかしながら、血中にウイルスが移行し、これを各臓器にて検出している可能性も考えられた。検出された各臓器における組織学的所見の評価や免疫組織化学によるウイルス局在の検索を行い、今後引き続きこれら所見について正確に評価を行っていく。

【COVID-19 遺体へのネクロプシーの応用】

ネクロプシーを用いて検体を採取し、ウイルス遺伝子検査及び組織学的評価を行うことで、肺においては前項にて述べたびまん性肺胞傷害の組織像を捉えることができた。また、免疫組織化学においても肺胞壁に形成された硝子膜や脱落した肺胞上皮細胞、マクロファージにウイルスの局在が確認された。

また、一部症例においては剖検実施については遺族の許可が得られなかったものの、ネクロプシーを提案することでこちらについては同意が得られ、遺体における新型コロナウイルス感染症の病態について正確に評価することができた。

ウイルス遺伝子検査の結果については、剖検での採取検体とネクロプシーでの採取検体とで比較を実施した。肺について、1 症例当たり 5 検体 (5 葉)、14 症例の合計 70 検体について比較を行ったところ、70 検体中 57 検体で陽性・陰性が一致したが、13 検体で陽性・陰性の不一致を認めた。し

かし、肺 5 葉合わせて評価すれば、剖検検体において肺のいずれかで検出されているがネクロプシーでいずれの肺葉からも検出されない、もしくは剖検検体においていずれの肺葉からも検出されないがネクロプシーで肺のいずれかで検出されたといった症例は認められなかった。

肺組織において、検出されるウイルス量が少ない検体では免疫組織化学にて剖検検体では捉えられた陽性シグナルが、量の少ないネクロプシー検体では捉えられないこともあった。

また、肺およびその他の臓器において、剖検検体でウイルス遺伝子が検出されなかったにも関わらず、ネクロプシー検体では検出された例も認められたが、これには胸腔等を介して針を穿刺することにより、胸腔内液などからウイルス遺伝子がコンタミネーションしていることが考えられる。

これらより、5 葉など、複数の肺組織検体を用いて組織評価及びウイルス遺伝子検索を実施し、これらを合わせて評価することで正確な病態評価が可能となることが示唆された。

D. 考察

2019 年 12 月に中国・武漢から流行が始まった新型コロナウイルス感染症は、当初「原因不明の肺炎」として報告されたが、その後の研究により SARS-CoV-2 が原因病原体であることが解明された。更に研究が進むにつれ、肺炎以外にも血栓症、腎機能障害、心筋障害を始め、全身の諸臓器に様々な病態を呈するが明らかになりつつある。しかし、肺炎以外の病態にウイルスが直接関与しているのか否かについては議論が分かれており、詳細な病態の解明には更なる研究が必要と考えられる。病理解剖には死因の解明、臨床診断の妥当性や治療効果の確認といった診療上の意義だけではなく、病理解析によって得られた知見が疾患の病態解明に直結するという側面を有する。今後、本研究班を通じて安全な病理解剖、もしくはネクロプシーの実施が促進されることにより、日本人における新型コロナウイルス感染症の病態解明が一層進み、有効性の高い治療薬やワクチンの開発への進展が期待される。

E. 結論

本分担研究課題では、新型コロナウイルス感染症の感染病理解析手法を整備した。さらに、

病理解剖の代替手段としてのネクロプシーの有用性の評価を行った。今後、剖検により得られた検体の精査を引き続き行い、新型コロナウイルス感染症の全身病態を正確に評価することを目指す。また、様々な理由から剖検が困難な事例において、ネクロプシーによる検索を、その注意すべき点とともに提案していく。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照。

G. 研究発表 (2020/8/5～2021/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) Tsukamoto T, Nakajima N, Sakurai A, Nakajima M, Sakurai E, Sato Y, Takahashi K, Kanno T, Kataoka M, Katano H, Iwata M, Doi Y, Suzuki T. Lung Pathology of Mutually Exclusive Co-infection with SARS-CoV-2 and Streptococcus pneumoniae. Emerg Infect Dis. 2021 Jan 14;27(3). doi: 10.3201/eid2703.204024
- 2) 飯田俊, 鈴木忠樹. 新型コロナウイルスの感染と病態. Pharma Medica 39(1): 21-25 2021
- 3) 飯田俊, 鈴木忠樹. SARS-CoV-2 3. COVID-19 の病態・免疫. ウイルス 70(2) 2020
- 4) 中島 典子, 鈴木 忠樹, 足立 拓也, 鄭 子文. 疾患Globalization 本邦では少ないが、知っておくべき疾患2020(第6回) COVID-19. 病理と臨床 38(9) 845 - 851 2020.

2. 学会発表

- 1) 鈴木忠樹, COVID-19 の病理解析と剖検時の感染予防策, 第 88 回日本病理学会関東支部学術集会, 2020/10/10, 国内, 口頭.
- 2) 鈴木忠樹, Pathological approach for COVID-19 vaccine research. 第 9 回織田記念国際シンポジウム. 2020/11/10. 国内, 口頭.
- 3) 鈴木忠樹, 令和2年度 希少感染症診断技術研修会 新型コロナウイルス感染症 COVID-19 抗原検出検査について. 2020/12/22, 国内, 口頭.
- 4) 鈴木忠樹, COVID-19 の抗原検査, 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会, WEB 開催(国内), 2021/ 1/29, 口頭.
- 5) 鈴木忠樹, 病理医として:COVID-19 の病理解析による病態形成機構の理解, 第 40 回日

本画像医学会学術集会 WEB 開催(国内),
2021/2/25, 口頭.

the UK Covid-19 and Global Health .
2021/3/9. 国内. 口頭.

- 6) 鈴木忠樹. 病理学的アプローチによる新型コロナウイルス感染症ワクチンの開発. 第 3 回 Translational and Regulatory Sciences Symposium. 2021/1/18. 国内. 口頭.
- 7) Tadaki Suzuki, ~ COVID-19 and Laboratory research ~ Pathological investigation and immunological analysis of COVID-19. The Nagasaki University WISE Programme Live/Online Symposium between Japan and

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし