

新闻稿

发布记者俱乐部:文部科学记者会、科学记者会

各位新闻工作者

2020年10月12日

东京医科大学

東京慈恵会医科大学

国際太空医疗株式会社

利用液体活检鉴定 COVID-19 重症化预测因子

-不仅能预测重症,还有望能用于开发新型治疗法和调查病理-

【概要】

东京医科大学医学综合研究所的落谷孝广教授与东京慈恵会医科大学外泌体药物研发研究讲座的藤田雄讲师、内科学讲座呼吸器官内科的桑野和善教授、传染病科的保科齐生讲师、美国加利福尼亚大学旧金山分校的松崎润太郎博士后(东京医科大学医学综合研究所外来研究员)以及国际太空医疗株式会社(代表:宫户Mitsuru)等组成的联合研究团队,通过分析血液中的外泌体与核酸,也就是在癌症诊断等方面所使用的液体活检法,鉴定出新的COVID-19重症化预测因子。鉴定的外泌体与血液核酸不仅能发挥预测性生物标志物的作用,还有望能用于开发新型治疗法和调查病理。

【研究的背景】

液体活检是指通过分析血液中流动的脱氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)和外泌体等物质,以微创方式对癌症进行超早期诊断,对于抗癌剂的选择也有帮助。有报告指出,不仅是癌症患者,传染病患者血液中的这些信息也从早期阶段开始就显示出与健康正常人之间的差异,因此我们认为,通过分析血液中外泌体与核酸的差异,应该能预测COVID-19是否会发展成重症。目前已得知,血液中的核酸通常有一部分包含在细胞分泌的稳定的囊泡中,也就是外泌体内。各种不同的细胞会分泌出大小在100nm左右的磷脂双分子层,而外泌体则是由这些磷脂双分子层包围起来的囊泡,目前已知外泌体在细胞之间的相互作用中扮演着重要的角色。特别是感染了细菌和病毒的细胞,会通过外泌体对周围的细胞产生影响,例如将病毒包裹在外泌体中并排到细胞外,会更有利于病毒的扩散,这一点在许多报告中都有提及。这被认为是病情加重的主要原因,而另一方面,这也有可能是反映身体战胜病毒的正常反应。也就是说,通过对已感染新型冠状病毒的患者的外泌体与核酸进

行分析,就有可能快速发现病情加重时的相关人体反应。在本项研究中,我们的目标是利用液体活检对已感染新型冠状病毒的患者住院时的血液进行分析,鉴定新的COVID-19重症化预测因子。

【本项研究中取得的结果与发现】

此次,联合研究团队以2020年3月到5月因新型冠状病毒PCR检测呈阳性而在东京慈惠会医科大学附属医院住院治疗的42名COVID-19患者为对象。从中剔除了住院时根据WHO的疾病严重程度分类被划入重症的9名患者,将其余31名住院时为轻症的患者作为对象并进行分析,对照样本采用10名健康正常人的血清(大宫City Clinic、代表:中川良),总计分析了41例样本。31名COVID-19患者中,有9名在住院后发展成重症,需要使用人工呼吸机进行集中治疗,其余22名患者则一直为轻症,直至出院。研究团队利用这31名(轻症22名+重症9名)COVID-19患者在住院时的血液样本和10名健康正常人的血清,重点关注其血液中RNA及外泌体蛋白质,分别通过二代测序※1)以及质量分析(LC-MS)※2)进行了全面分析。根据这些分析结果,有如下不同的3组可作为COVID-19患者病情严重程度的早期预测性生物标志物。

(1) 抗病毒反应相关外泌体蛋白质

…外泌体COPB2、PRKCB等

(2) 凝血相关外泌体蛋白质及RNA

…外泌体MFAP4、ECM1、CAPN、FGG、CD147等

…RNA方面为CDKN2B.AS1 (long-non coding RNA※3))等

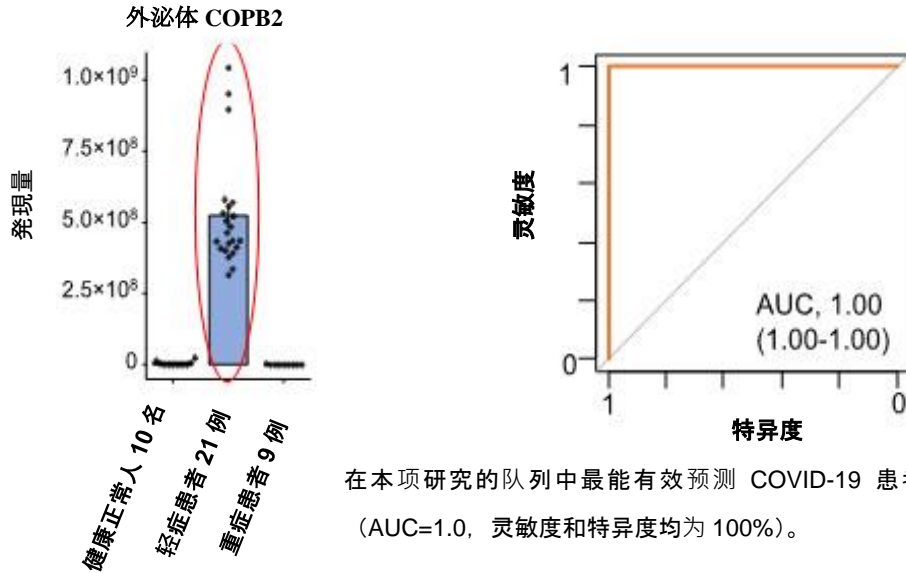
(3) 肝损伤相关RNA

…microRNA-122-5p(microRNA※4))、SNORD33 (small nucleolar RNA※5))等

以上为分析发现。在这些标志物中,抗病毒反应相关外泌体蛋白质COPB2(golgi-ER trafficking中重要的COPI vesicle的组成要素)在本项研究的队列中是最能有效预测COVID-19患者是否会发展成重症的标志物(AUC=1.0,灵敏度和特异度均为100%)。也就是说,住院时(检测新冠病毒呈阳性时),血液中的外泌体COPB2水平较高的COVID-19患者,有可能在病情不变成危重的情况下战胜疾病(图1)。

图1 利用外泌体 COPB2 早期预测 COVID-19 是否会发展成重症

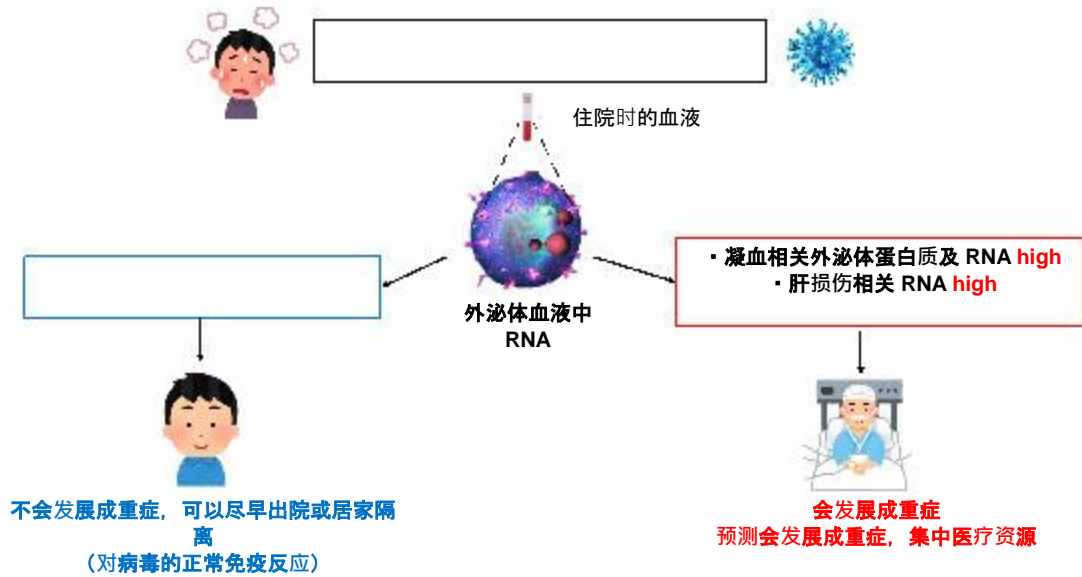
统计学上抗病毒反应相关外泌体蛋白质在轻症患者体内显著高表达的群组中, COPB2 的结果最好。



在本项研究的队列中最能有效预测 COVID-19 患者是否会发展成重症 (AUC=1.0, 灵敏度和特异度均为 100%)。

另一方面, 关于(2)凝血相关标志物和(3)肝损伤相关RNA, 此前的研究中也有许多报告显示, 凝血能力与肝损伤程度可作为COVID-19的重症化预测因子。也就是说, 本次的分析结果反映了此前的COVID-19患者的临床背景。不仅如此, 即使与临床现场测量的反映凝血功能的D-二聚体和肝转氨酶ALT相比, 凝血相关外泌体蛋白质以及RNA和肝损伤相关RNA也都具有优异的预测能力。

如上所述, 通过液体活检早期预测COVID-19患者是否会发展成重症的研究表明, 外泌体COPB2等(1)抗病毒反应相关外泌体蛋白质水平较高的患者不会发展成重症, 而(2)凝血相关外泌体蛋白质及RNA和(3)肝损伤相关RNA水平较高的患者可能会发展成重症(图2)。以上结果表明, 功能性外泌体成分有望成为COVID-19发展成重症的病因中的潜在原因及缓解剂。



【今后的研究开展及溢出效应】

根据本项研究的结果, 目前正以不同的患者群为对象进行验证分析。利用液体活检预测 COVID-19 是否会发展成重症的方式, 与以往的血液标志物、细胞因子及趋化因子等体液因子的检测方式相比, 有望能带来完全不同的局面。重点是外泌体在血液中循环、接收并被细胞摄取以调控基因。实际上, 已有报告指出上述分子中的一部分是 SARS-CoV-2 的治疗靶向分子或与病情相关。也就是说, 这次发现的因子不仅能作为血液生物标志物, 也有可能参与了 COVID-19 病情发展成重症的重要机制, 因此补充或去除这些外泌体和 RNA, 与 COVID-19 的新疗法开发息息相关, 有望能发挥作用。目前, 我们正在开发针对外泌体 COPB2 的诊断试剂盒。

【术语说明】

※1) 二代测序: 一种高精度的分析方法, 可以同时数千到数百万个基因的排列进行测序。目前能对下列各种RNA的表达进行分析。

※2) 质量分析: 一种全面分析样本中蛋白质的方法。

※3) long-non coding RNA: 在未翻译成蛋白质的non-coding RNA中, 长度为200个碱基或更长的RNA。

※4) microRNA: 在未翻译成蛋白质的non-coding RNA中, 长度为20~25个碱基的微小RNA的功能性核酸。

※5) small nucleolar RNA: 被称为小核仁RNA的一种non-coding RNA。

○本项研究相关咨询窗口

东京医科大学 医学综合研究所 分子细胞治疗研究部门 教授
落谷孝广

E-mail: tochiya@tokyo-med.ac.jp

东京慈惠会医科大学 外泌体药物研发研究讲座 讲师
藤田雄

E-mail: yuugot@jikei.ac.jp

国际太空医疗株式会社 董事长 会士

宫户 Mitsuru

E-mail: miyato@ism.bio

○新闻稿相关咨询窗口

东京医科大学 总务部 宣传与社会合作推进课

TEL: +81-3-3351-6141 (总机)

学校法人慈惠大学 经营企划部 宣传课

TEL: +81-3-3433-1111 (总机)

E-mail: koho@jikei.ac.jp

国际太空医疗株式会社 宣传课

TEL: +81-3-4216-0238 (总机)

E-mail: info@ism.bio

TEL: +81-90-1842-7113 (直线: 宫户)

以上