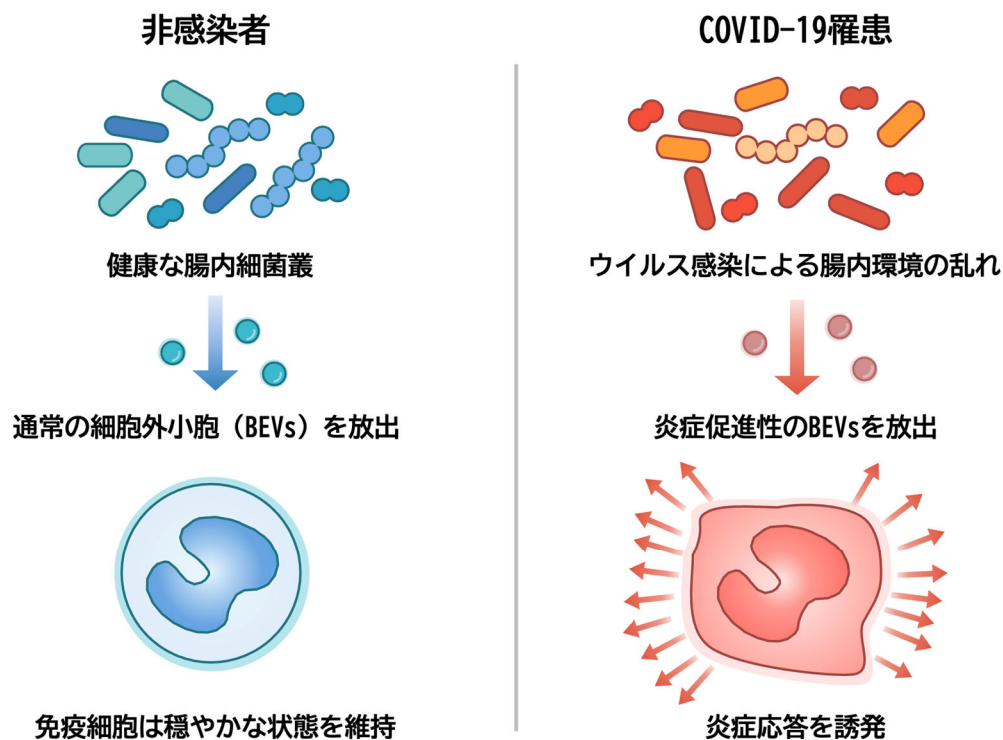


腸内細菌由来の細胞外小胞（BEVs）が COVID-19 の免疫応答に変調をもたらすことを解明
 ～腸内フローラの乱れが「BEVs」を介して全身の炎症や後遺症に関与する可能性を示唆～

【発表（または研究成果）のポイント】

- 新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染により腸内細菌のバランスが崩れると、腸内細菌から放出される細胞外小胞（BEVs）の組成が変化することを発見しました。
- COVID-19 罹患者の便から精製した BEVs には、ウイルスに感染していない人由来のものとは異なり、ヒトの免疫細胞（単球系細胞株や末梢血単核球）に対して強く炎症性サイトカイン（特に IL-8 など）の産生を変動させる効果が明らかになりました。
- COVID-19 回復後の解析において、炎症を引き起こす能力を持ち続ける BEVs と、正常化する BEVs の2つのパターンが存在することが分かり、これが「後遺症」の病態にも関与している可能性が示唆されました。



概念図 腸内細菌叢の乱れに起因する細菌由来細胞外小胞の変化が炎症応答を誘発する

【概要】

国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 エイズ研究センター 石坂彩主任研究員（東京大学医科学研究所附属病院感染免疫内科客員研究員兼任）、山本浩之センター長、検査診断技術研究部 水谷壮利主任研究員（エイズ研究センター兼任）、同機構 四柳宏理事らは、東京大学国際高等研究所 新世代感染症センター(UTOPIA) 感染症研究分野 古賀道子教授（東京大学医科学研究所附属病院感染免疫内科特任教授兼任）、東京大学医科学研究所 ワクチン科学分野 石井健教授、林智哉助教との共同研究により、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 患者の腸内環境において、腸内細菌から放出される直径 80～400nm 程度のナノ粒子である「細菌由来細胞外小胞 (BEVs) ^{注1}」が、私たちの体の免疫応答に直接的な影響を与えることを、COVID-19 をモデルとした腸内細菌叢研究によって明らかにしました。

これまでの研究で、COVID-19 患者の腸内細菌叢の乱れ（ディスバイオシス^{注2}）と病態の重症化に関連があることは知られていましたが、その具体的なメカニズムは不明でした。本研究では、細菌が放出する「メッセージ物質」とも言える BEVs に着目し、患者の便からこれらを精製して解析を行いました。

その結果、COVID-19 患者から分離した BEVs は、特定のサイトカイン^{注3}といった炎症性因子の産生を強力に促すことが確認されました。また、特定の細菌種が放出する BEVs が、それぞれ異なる方法でヒトの免疫細胞の遺伝子発現を変動させることも突き止めました。本知見は、腸内細菌叢の変化がなぜヒトの免疫に影響を及ぼすのかという疑問への理解につながります。また今後、さらなる研究により将来、腸管の BEVs の制御によって COVID-19 の重症化予防や、回復後も一部の患者で続く後遺症に対する新たな治療法・診断法の開発に貢献することが期待されます。

【発表内容（または研究の背景）】

1. 背景

腸内細菌は、ヒトの栄養代謝や免疫恒常性の維持に重要な役割を担っており、これは感染症の病態にも関係しています。COVID-19 の発症後、腸内細菌の多様性が変化し、腸内環境の維持に貢献する菌が減少するなどの異常が生じることが報告されていました。しかし、腸内の細菌がどのようにして遠く離れた組織や全身の免疫系

に影響を及ぼすのか、その橋渡しをする具体的な因子の解明が求められていました。そこでこの免疫を制御する因子の候補として、細菌が分泌する BEVs に着目しました（図1）。

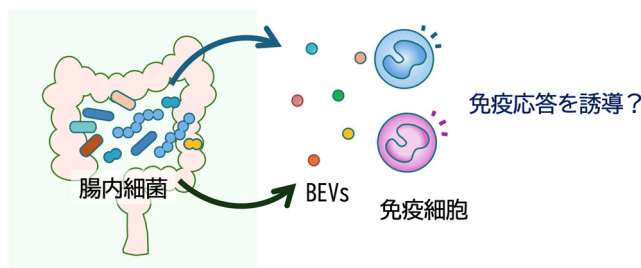


図1 本研究の目的
COVID-19の発症に伴う腸内細菌叢の変化が、BEVsの分泌を介してヒトの免疫応答に影響している可能性があるのかを明らかにする

2. 便からの BEVs の精製と解析

研究グループは、17名のCOVID-19患者と20名の健康な被験者の便サンプルを使用しました。超遠心分離法と分子サイズでふるい分ける分離法を組み合わせることで、不純物を除いた高純度なBEVsを分離精製しました(そこに含まれるヒト細胞由来の細胞外小胞は1%未満で、SARS-CoV-2ウイルスは検出限界以下でした)。さらにナノ粒子を計測および可視化する顕微鏡による観察の結果、精製されたBEVsは多様なサイズ(80～400nm)を持つ不均一な粒子集団であることが確認されました。また、これらの粒子のうち約5%に細菌由来のDNAが含まれているBEVsであることを確認しました。

3. COVID-19 における BEV 組成の変化

次世代シーケンサー^{注4}（細菌が保有する 16S rRNA 遺伝子解析）により、BEVs に含まれる DNA を解析することで分泌元の細菌を同定することが可能です。その解析結果から COVID-19 の発症によるディスバイオシスに伴う腸内の細菌自体の組成比率の変化とは異なって、放出される BEVs の組成が変化していることが判明しました。これは、特定の細菌がストレス環境下で BEVs の放出割合を変化させている可能性を示唆しています。

4. 患者由来 BEVs による免疫細胞の活性化

放出された BEVs は細菌同士や、ヒト細胞に対するシグナル伝達分子として働くことが知られています。そこで COVID-19 発症後に放出された BEVs に備わる免疫細胞への免疫学的な刺激の存在を考えました。精製した BEVs をヒト単球系細胞株（U937 細胞株）および末梢血単核球^{注5}に 1 細胞当たり 2,000 粒子を添加し、24 時間後の細胞が分泌する免疫応答因子であるサイトカイン量を定量しました（図

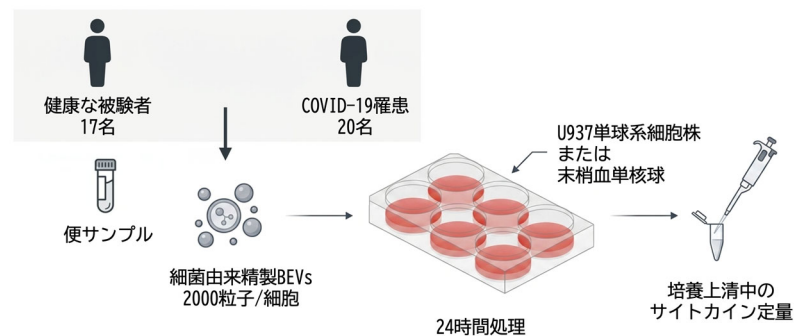


図2 実験の流れ

U937単球細胞株、または末梢血単核球に便検体から精製したBEVsを添加し、24時間後に細胞から分泌されたサイトカイン量を測定し、免疫応答を評価

2）。その結果、患者由来の BEVs は、健康な人の BEVs と比較して、IL-8、APRIL、MMP-1/2/3、IL-11 などの広範な炎症性サイトカインの産生を変化させることを確認しました（図3）。

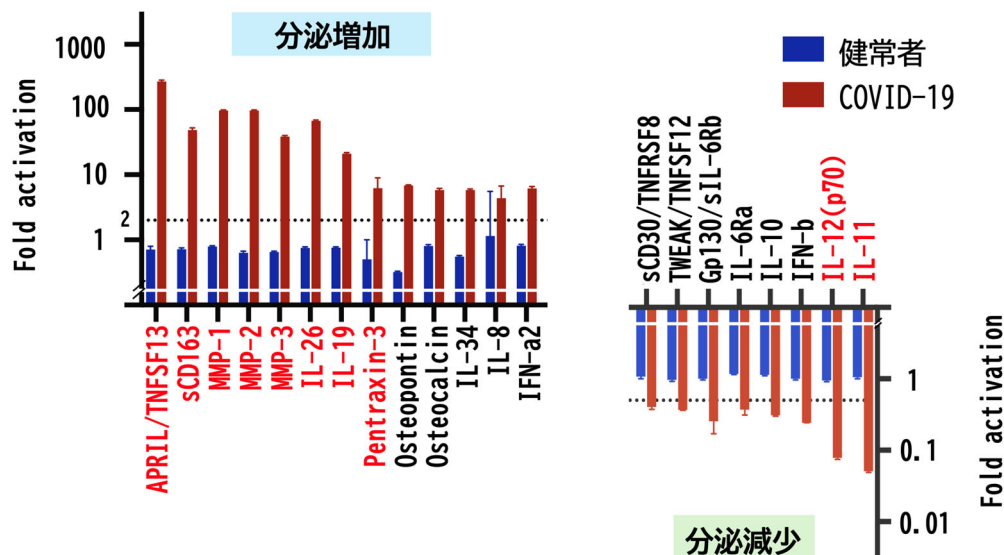


図3 COVID-19罹患時のBEVsはU937細胞株に免疫応答を誘発する

未処理のU937細胞の分泌サイトカイン量を1としたときの、U937細胞株から分泌された各サイトカインの値（赤字は10倍以上の変動したサイトカイン、点線は2倍）を示す。

5. COVID-19 回復後の BEVs 動態と「後遺症」への関わり

患者の経過を追跡した解析では、発症から3週間以上経過して症状が回復した後は、BEVsによるサイトカイン誘導能が健康な人と同じレベルまで正常化していました。一方で、一部の患者では炎症を誘導する性質を持つBEVsが放出され続けていました（図4）。これが示す因果関係の詳細は今後の解明が待たれますが、回復期における病態管理や正常化においては、腸内におけるBEVsの組成（構成バランス）が重要なカギを握っている可能性を示しています。

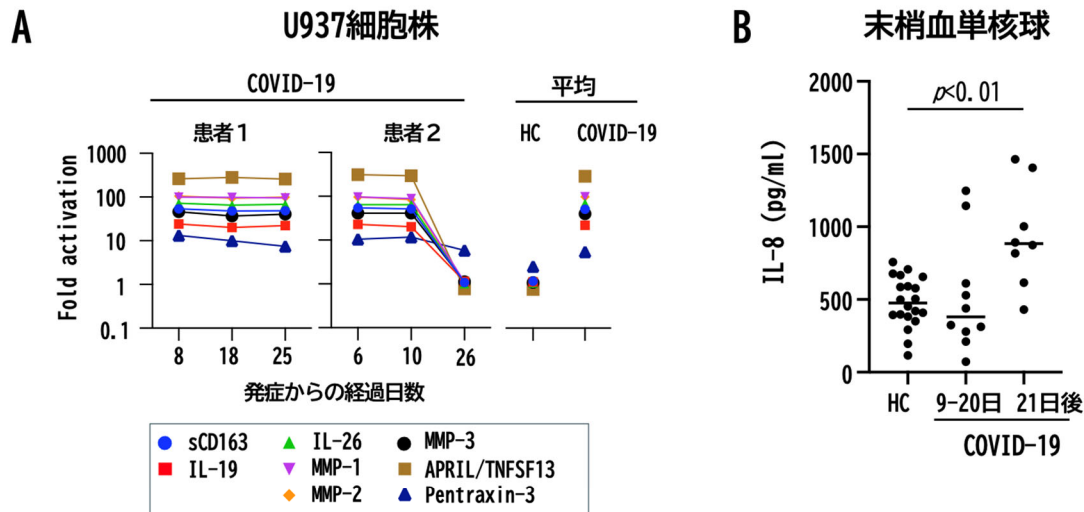


図4 回復後も継続するBEVsの炎症誘導能

COVID-19回復期の便検体由来BEVsの添加による、U937細胞のサイトカイン誘導（A）および末梢血単核球のIL-8分泌誘導（B）。未処理時のサイトカイン量を1とした相対値で示した。患者1では回復後もBEVsによる炎症誘導能が持続していたのに対し、患者2では健康者（HC）と同等レベルにまで減衰していた。この炎症の持続傾向は、末梢血単核球におけるIL-8分泌においても同様に観察された。日には発症からの経過日数を示す。

【社会的意義・今後の展望】

本研究により、腸内細菌が単なる「同居人」ではなく、BEVsというナノ粒子を介して全身の免疫バランスを調整している「能動的なプレーヤー」であることが鮮明になりました。今後は、以下の展開が期待されます。

1. 診断への応用: 便中のBEVsのプロファイルを解析することで、COVID-19の重症化リスクや後遺症の予後を予測するバイオマーカーとしての活用。
2. 新薬開発: 炎症を誘導する特定のBEVsの放出を抑制したり、逆に抗炎症作用を持つBEVsを投与したりする、整腸の視点からの治療法の開発。
3. 腸内環境の最適化: 食事やプロバイオティクスを通じて、適切なBEVsが放出されるような腸内環境を整えることが、感染症に強い体づくりにつながる可能性の明示。

【発表者・研究者等情報】

国立健康危機管理研究機構

四柳 宏 理事（研究当時 東京大学医科学研究所附属先端医療研究センター 感染症分野教授）

国立感染症研究所 エイズ研究センター

石坂 彩 主任研究員（東京大学医科学研究所附属病院 感染免疫内科 客員研究員 兼務）、
（研究当時 東京大学医科学研究所附属先端医療研究センター 感染症分野 助教）

山本 浩之 センター長

国立感染症研究所 検査診断技術研究部・エイズ研究センター（兼任）

水谷 壮利 主任研究員

東京大学

国際高等研究所 新世代感染症センター(UTOPIA) 感染症研究分野

古賀 道子 教授（東京大学医科学研究所附属病院 感染免疫内科 特任教授 兼務）

（研究当時 東京大学医科学研究所附属先端医療研究センター 感染症分野 講師）

医科学研究所 感染・免疫部門 ワクチン科学分野

石井 健 教授

林 智哉 助教

【論文情報】

雑誌名：*Journal of Extracellular Vesicles*

題 名：Gut Microbiota-Derived Bacterial Extracellular Vesicles in COVID-19: Their Signature and Immunological Impact

著者名：Aya Ishizaka, Michiko Koga, Tomoya Hayashi, Ken J Ishii, Hiroyuki Yamamoto, Hiroshi Yotsuyanagi[¶] and Taketoshi Mizutani[¶] [¶]:責任著者

〈DOI〉 10.1002/jev2.70341

〈URL〉 <https://doi.org/10.1002/jev2.70341>

【研究助成】

本研究は、山口育英奨学会、大樹生命厚生財団、持田記念医学薬学振興財団、OTC セルフメディケーション推進財団、武田科学振興財団、日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究 C）の助成、および日本医療研究開発機構（AMED）の以下に掲げる事業からの支援を受けて実施されました。

- エイズ対策実用化研究事業「腸内細菌由来細胞外小胞が及ぼす HIV 感染者の慢性炎症の分子基盤の理解とその制御による機能的治癒を目指した研究」
- SCARDA ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業（東京大学国際高等研究所新世代感染症センター／東京フラッグシップキャンパス）
- 革新的先端研究開発支援事業「生体ナノ粒子多次元解析による新規診断・治療効果評価法の開発」
- ワクチン・新規モダリティ・治療薬等研究開発事業「革新的アジュバント・ワクチンキャリアの開発と技術支援ならびにデータベースの構築」および「100 日でワクチンを提供可能にする革新的ワクチン評価システムの構築」。

【用語解説】

- ・注1) **細菌由来細胞外小胞 (BEVs: Bacterial Extracellular Vesicles)** : 細菌が細胞外に放出する、脂質二重膜に包まれたナノサイズの粒子。タンパク質、DNA、RNA、代謝物などを内包し、細菌間や細菌-宿主間のコミュニケーションツールとして機能する。
- ・注2) **ディスバイオシス (Dysbiosis)** : 腸内細菌叢の多様性が低下し、細菌の種類や数のバランスが崩れた状態。様々な病気との関連が指摘されている。
- ・注3) **炎症性サイトカイン (IL-8 など)** : 免疫細胞から分泌され、体内に炎症反応を引き起こすシグナルタンパク質。通常はウイルスを排除するために働くが、過剰に分泌されると自身の組織を傷つけ、全身の強い炎症や後遺症の原因になる。本研究で注目した「IL-8」は、主に好中球（免疫細胞の一種）を炎症部位に呼び寄せる強力な作用を持つ。
- ・注4) **次世代シーケンサー** : 大量の塩基配列を同時に解読する装置。本研究では腸内細菌ゲノム配列の解析に使用した。
- ・注5) **末梢血単核球** : 血液から赤血球などを除いた免疫細胞（リンパ球や単球）の集団。

【問い合わせ先】

《研究に関すること》

国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 検査診断技術研究部・エイズ研究センター（兼任）
水谷 壮利

《取材に関すること》

国立健康危機管理研究機構 危機管理・運営局 広報管理部

<https://www.jihs.go.jp/index.html>

東京大学 新世代感染症センター(広報)

<https://www.utopia.u-tokyo.ac.jp/contact>

東京大学医科学研究所 プロジェクトコーディネーター室（広報）

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/>