

# 単球/マクロファージ制御による致死性急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) の治療

青柳 哲史<sup>1,5)</sup>・佐藤由紀夫<sup>1,2)</sup>・川上 和義<sup>3,5)</sup>・賀来 満夫<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup> 東北大学大学院医学系研究科内科病態学講座総合感染症学分野\*

<sup>2)</sup> 仙台画像検診クリニック

<sup>3)</sup> 東北大学大学院医学系研究科感染分子病態解析学分野

<sup>4)</sup> 東北医科薬科大学感染症学

<sup>5)</sup> 東北大学大学院医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク寄付講座

受付日：2020年4月8日 受理日：2020年6月4日

過去20年を振り返ると、新興・再興呼吸器ウイルス感染症は人類に対する脅威である。高病原性インフルエンザ、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (SARS-CoV) や中東呼吸器症候群コロナウイルス (MERS-CoV) による感染症の重症例で、急速進行性の多臓器不全を伴う致死性の急性呼吸窮迫症候群 (acute respiratory distress syndrome: ARDS) を認める。これらウイルス感染症による致死性 ARDS 症例では共通して、二次性の血球貪食症候群 (hemophagocytic syndrome: HPS) /血球貪食リンパ組織球症 (hemophagocytic lymphohistiocytosis: HLH) を特徴とするサイトカインストームと単球/マクロファージの活性化を認める。しかし、感染症による HPS/HLH は、疾患の重症度と高い死亡率に関与することが報告されているが、認識はまだ低い。そして、感染症による HPS/HLH の確立した診断クライテリアは存在しないが、本病態を早期に認識することがその後の治療オプションの可能性を高めると考える。殺細胞性のある etoposide (ET) と強力な抗炎症効果を有する corticosteroid (CS) は、これまで一次性および二次性 HPS/HLH やマクロファージが活性化されるような病態において使用されている。しかし、二次性 HPS/HLH を伴う ARDS における臨床効果について、基礎的・臨床的に検討が行われていない。著者らは、高サイトカイン血症および血球貪食を伴う重度の肺傷害を呈する致死性 ARDS 動物モデルの作成に成功した。本モデル動物を用いて、ET と CS の併用療法はサイトカイン産生抑制を介してではなく、単球/マクロファージを直接の標的とし、致死性 ARDS のアウトカムを改善させることを確認した。よって ET および CS を含む HPS/HLH の特異的な治療方法は、二次性 HPS/HLH を伴う致死性 ARDS の治療選択肢になりうると思われる。感染症による致死性 ARDS の患者ケアおよびアウトカムを改善するためにも、さらなる臨床研究や ARDS のメカニズムの解明と新たな治療標的を見つける基礎的研究が求められる。

**Key words:** acute respiratory distress syndrome, hemophagocytic syndrome/hemophagocytic lymphohistiocytosis, monocytes/macrophages, targeting therapy

## はじめに

2019年12月初旬に中華人民共和国 (中国) 湖北省武漢市で原因不明の肺炎が報告され<sup>1)</sup>、2020年1

月7日に新型コロナウイルス (2019-nCoV 正式名称 severe acute respiratory syndrome coronavirus-2: SARS-CoV-2) が原因であると報告された<sup>2)</sup>。のちに SARS-CoV-2 による感染症である COVID-19

\*宮城県仙台市青葉区星陵町2-1

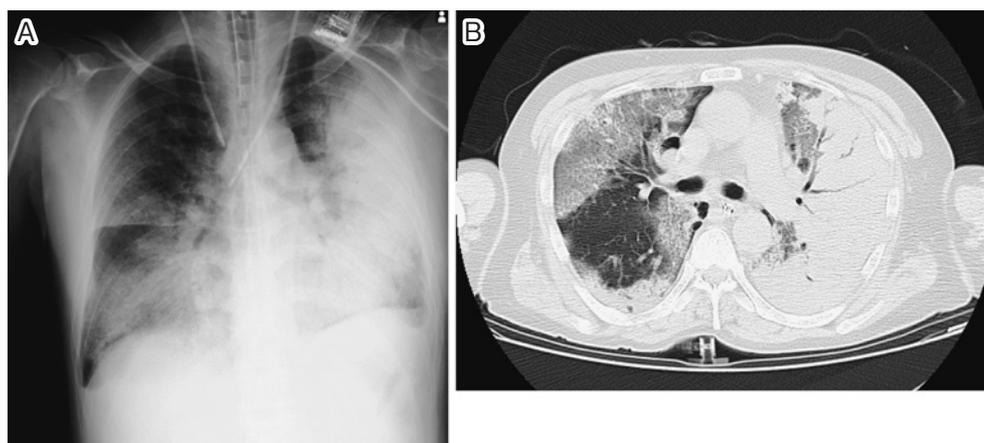


Fig. 1. Plain chest radiography and chest computed tomography of a patient with acute respiratory distress syndrome (ARDS) caused by *Streptococcus pneumoniae*  
 (A) Plain chest radiograph showing diffuse bilateral pulmonary infiltrates. (B) Chest computed-tomographic image showing asymmetric lung injury with dense infiltrates in the left base and patchy ground-glass infiltrates throughout the right lung.

と命名された。2020年3月27日の時点で中国のみならず世界各国に広がっており、感染者数は50万人を超え死亡者数は2万人を超える。SARS-CoV-2による肺炎の臨床スペクトルは幅が広く、無症候例から人工呼吸器管理を要する重症例まで存在する<sup>3,4)</sup>。ICU (intensive care unit) 管理を要する症例の中に、肺炎発症後数日以内の経過で急性呼吸窮迫症候群 (acute respiratory distress syndrome: ARDS) を合併し、1~2週間以内に死亡の転帰をとる例も多い<sup>4,5)</sup>。過去20年を振り返ると、1997年に香港で初めて鳥インフルエンザ H5N1 のヒト感染例が報告され<sup>6)</sup>、2003~2008年に中国以外にベトナム、インドネシアやエジプトでも報告例が増加した<sup>7)</sup>。2009年にパンデミック 2009H1N1pdm インフルエンザ感染症が猛威をふるい世界的流行を認めた<sup>8)</sup>。2013年には新型の鳥インフルエンザ H7N9 の感染事例が中国で報告され<sup>9)</sup>、その後2018年にかけて症例数が増加傾向にあった。一方、SARS-CoV-2以外のコロナウイルス感染症では、2002年に中国で発生した重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (severe acute respiratory syndrome coronavirus: SARS-CoV) 感染症<sup>10)</sup>、2012年にサウジアラビアで中東呼吸器症候群コロナウイルス (middle east respiratory syndrome coronavirus: MERS-CoV) 感染症が報告され、2015年には韓国でもアウトブレイク事例が報告されている<sup>11)</sup>。このように、日本を含

む東アジアは常に新興・再興呼吸器ウイルス感染症の脅威に晒されていることを忘れてはならない。これまで問題となってきた新興・再興呼吸器ウイルス感染症の重症度・死亡率は、ウイルスの種類により異なるが、重症例に共通してみられる臨床経過がある。肺炎発症から急速進行性 (数日から1週間) にARDSを合併し、人工呼吸器管理を含むICU管理が必要となり、死亡率が高いという点である<sup>4,12~14)</sup>。

## 1. 呼吸器感染症における ARDS

### 1. ARDS とは

ARDSは、急性の肺の炎症と血管透過性亢進を特徴とし、その結果、肺におけるガス交換の障害を呈する疾患である。臨床的には、生命を脅かす低酸素血症を伴う急性呼吸不全を呈し、画像で心原性肺水腫、胸水、肺虚脱では説明できない両側性の浸潤陰影を認める (Fig. 1)<sup>15)</sup>。また、ARDSの病態を示す肺における病理像の主体は、びまん性肺胞傷害 (diffuse alveolar damage: DAD) であり、滲出期には炎症性細胞の集積と硝子膜形成を認める。全世界でARDSは1年間に300万人が罹患し、10%がICUでの治療を必要とし、ICUでは24%が人工呼吸器管理となる<sup>16)</sup>。ARDSは肺炎や胃内容物の誤嚥による直接的肺傷害と、敗血症や腭炎や重症外傷などの全身性疾患に伴う間接的肺傷害に分けられるが、直接的ARDSは間接的ARDSと比べ予後が悪い<sup>17)</sup>。ARDSに対する治療法は限られており、依然死亡

率も 40% 前後と高い<sup>18)</sup>。ARDS に対して多くの基礎的・臨床的研究が行われているが、呼吸管理を除いて薬物による治療方法は確立されていない。理由として、ARDS はさまざまな原因により引き起こされる低酸素血症であるが、現在使用されている ARDS のクライテリアおよび重症度評価は呼吸状態に対する評価であり、背景となる疾患の重症度、その原因および病態生理が考慮されていない点がある。そのため、同一の原因疾病による動物実験で得られた成果が、実臨床に反映されにくいことがある。また、ヒトにおける ARDS の病態生理を反映した動物モデルが限られている点にも問題がある<sup>19)</sup>。

## 2. 新興・再興呼吸器ウイルス感染症による致死性 ARDS の特徴

2つのコロナウイルス (SARS-CoV, MERS-CoV) および3つのインフルエンザウイルス (H5N1, H7N9, 2009H1N1pdm) による感染症の重症例に共通した臨床的な特徴として、①ウイルス性肺炎から急速進行性に ARDS を合併し死亡率が高く、剖検例の肺病理所見で DAD を認めること、②ARDS に加えて腎臓、肝臓、凝固異常など多臓器不全を合併すること、③末梢血液中のリンパ球減少を認めること、④サイトカインストーム (血液あるいは肺胞洗浄液中の炎症性サイトカインの上昇) を認めることがあげられる<sup>12, 20-23)</sup>。1997 年の香港における鳥インフルエンザ H5N1 感染例の剖検例で、最も共通してみられる所見として血球貪食症候群 (hemophagocytic syndrome : HPS)/血球貪食リンパ組織球症 (hemophagocytic lymphohistiocytosis : HLH) があげられると最初に報告された<sup>24)</sup>。これらの患者では多臓器不全を認めるが、肺以外の臓器からウイルスは検出されず、血液中の soluble interleukin (IL)-2 receptor (sIL-2R), IL-6, interferon (IFN)- $\gamma$  の上昇、末梢血リンパ球数の低下を認めた。その後も、鳥インフルエンザ H5N1 感染で 2003 年に香港で成人<sup>25)</sup>、2004 年にタイで小児<sup>26)</sup>のそれぞれ剖検例において、リンパ節や骨髄でマクロファージによる血球貪食像の所見を認めたとの報告が続いた。また基礎的な検討では、鳥インフルエンザ H5N1 感染剖検例の肺内単球/マクロファージに tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , IL-6, C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10)/interferon  $\gamma$  induced protein 10 (IP-10)

などのサイトカイン/ケモカインが高発現していることも確認されている<sup>27)</sup>。その他、鳥インフルエンザ H7N9<sup>28)</sup>、2009H1N1pdm インフルエンザ<sup>29, 30)</sup>による感染剖検例でも肺、リンパ節、骨髄、肝臓などで血球貪食像の所見を認めている。さらに、2003 年の台湾における SARS-CoV 感染剖検例の肺病理所見で、ARDS に特徴的な DAD の所見以外にも血球貪食像を認め、二次性 HPS/HLH の頻度と血液中の IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  の濃度に相関関係を認めたとの報告がある<sup>20, 31)</sup>。前述した新興・再興呼吸器ウイルス感染症による致死性 ARDS の特徴である②~④は、HPS/HLH で一般に認められる臨床所見でもある。以上より、ウイルス感染症による致死性 ARDS の重症化メカニズムに、微生物に対する宿主免疫応答の結果生じる二次性 (反応性) HPS/HLH の存在があることを示唆している。加えて、現在世界的な脅威となっている SARS-CoV-2 による ARDS 症例でも、血液中の炎症性サイトカイン (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2 など) の上昇や<sup>5)</sup>、死亡例で有意にフェリチン値の上昇を認めている<sup>32)</sup>ことから、重症化の背景に二次性 HPS/HLH が存在している可能性がある。

## II. 感染性疾患における重症化要因としての HPS/HLH

### 1. HPS/HLH とは

HPS/HLH は骨髄など網内系組織の中で炎症性サイトカインにより活性化された組織球が増殖し、それら組織球が自己の血球 (赤血球, 白血球, 血小板) を貪食している像が組織学的に認められる病態である。HPS/HLH は小児だけでなく、あらゆる年齢においても認められ、患者は繰り返す発熱、血球減少、肝機能障害、さらに急速に進行する多臓器不全を呈する敗血症様の臨床像を示す<sup>33, 34)</sup>。HPS/HLH は、先天的異常によるもの (一次性) と後天的な何らかの病態に伴うもの (二次性) の 2 つに分けられる。二次性 HPS/HLH は一次性 HPS/HLH と比較し成人例に多く認められ、その原因も感染症、悪性腫瘍 (多くは悪性リンパ腫)、自己免疫疾患、その他臓器移植後などによる。このうち自己免疫疾患に伴う二次性 HPS/HLH は、その病態の中心にマクロファージの異常活性化が存在することからマクロファージ活性化症候群 (macrophage activation syndrome : MAS) とも呼ばれる。

感染性疾患における二次性 HPS/HLH の原因として、ウイルス、抗酸菌やスピロヘータなどを含めた細菌、寄生虫、真菌などが知られている。2009H1N1pdm インフルエンザ感染症の ICU 管理が必要な症例の中で、36% が二次性 HPS/HLH クライテリアを満たし死亡率が 89% と高く二次性 HPS/HLH クライテリアを満たさない例では 25% の死亡率であった<sup>35)</sup>。その他、肺病変を伴う二次性 HPS/HLH の特徴として、肺以外にも臓器障害を合併し ICU 管理の必要性が有意に高く、60% 以上で呼吸器感染症が原因である<sup>36)</sup>。また、ICU 管理を必要とする敗血症(血液疾患を除く)に加え原因のはっきりしない血小板数減少を認めた症例に骨髄穿刺を施行すると 40% で血球貪食像を認め、その原因も 70% 以上が細菌感染症(60% 以上でグラム陰性菌が検出)であったとの報告もある<sup>37)</sup>。ICU 管理を要する敗血症例においてフェリチン値の上昇と予後不良が相関することが知られている<sup>37, 38)</sup>。敗血症と HPS/HLH は、臨床徴候が非常に類似しており厳密に区別することは不可能である。近年、敗血症症例の中に持続するコントロール不能のマクロファージによる過剰炎症を伴う病態を伴う症候群として、sepsis-HLH overlap syndrome (SHLHOS) が提唱されている<sup>39)</sup>。以上より、ICU 管理を必要とする呼吸器感染症をはじめとする重症感染症における病態の一部に、マクロファージの活性化による二次性 HPS/HLH の存在があり、重症化あるいは予後不良に関与している可能性がある。

## 2. 感染性疾患における HPS/HLH 診断クライテリア

一次性的あるいは二次性 HPS/HLH の診断に広く用いられているクライテリアを Table 1 に示す。HLH-2004 ガイドライン<sup>34)</sup>は、HPS/HLH の診断基準として国際的に広く使用されている。本ガイドラインは、一次性的(遺伝性)HLH においてみられる既知の遺伝子異常が確認されれば HLH の診断となり、遺伝子異常がない場合は、8 項目の臨床症状・検査項目のうち 5 項目を満たせば HLH の診断となるため病理学的に血球貪食像を認めなくても診断が可能となる。しかし、これは主に小児の一次的 HLH を念頭につくられたものである。成人に HLH-2004 を適応する場合、悪性腫瘍が除外されていること、成人で高トリグリセライド血症・低フィブリノゲン

血症を認めにくいことから HLH-2009 ガイドライン<sup>40)</sup>(HLH-2004 改訂版)が作成された。小児の自己免疫疾患に関連して発症する二次性 HPS/HLH の中で、全身型若年性特発性関節炎(systemic juvenile idiopathic arthritis : sJIA) の頻度が高い。その病態にマクロファージの活性化が深く関与していることから、Ravelli らは sJIA に伴う MAS クライテリアを作成した<sup>41)</sup>。また、Fardet らは二次性 HPS/HLH クライテリア (H-Score)<sup>42)</sup>を作成した。これは、3 つの臨床項目、5 つの採血項目、1 つの病理組織学的項目をスコア化し、その程度に応じて診断確率を決めるものである。これまで、ウイルス感染症をはじめとする感染性疾患による二次性 HPS/HLH の明確な診断基準はない。米国の単一施設における研究<sup>30)</sup>であるが、2009H1N1pdm インフルエンザ感染症の剖検例での検討において、剖検を施行した 16 例すべてで病理組織学的に骨髄、脾臓あるいはリンパ節において血球貪食像を認めた。その中で、MAS クライテリアを満たした例は 14/16 (88%) であったが、その他 3 つのクライテリア(HLH-2004, HLH-2009, H-Score)を満たした例は 50% にも満たなかった。HPS/HLH の診断に特異的なバイオマーカーは存在せず、本疾患を疑うことから始まる。そこで、いくつかのクライテリアで使用されている臨床項目(発熱、肝脾腫)、検査項目(血球減少、フェリチン上昇、sIL-2R 上昇、トリグリセリド上昇など)から本疾患を疑い、可能であれば骨髄穿刺による病理組織学的な確定診断を行った後、原疾患の治療に加え後述する二次性 HPS/HLH に対する治療の選択肢を検討することになると考える。

## 3. 感染性疾患における HPS/HLH メカニズム

HPS/HLH や MAS の本態は、何らかの原因による生体の恒常性維持にかかわる宿主免疫応答の破綻であり、活性化されたリンパ球やマクロファージ・単球を中心とした免疫応答の制御不能な状態であると理解されている(Fig. 2A~C)。一次的 HPS/HLH はパーフォリンに関与する遺伝子異常に伴う natural killer (NK) 細胞、CD8+ 細胞障害性 T 細胞(cytotoxic T lymphocytes : CTLs)、NK T 細胞などの機能不全による家族性 HLH や先天性免疫異常による(Fig. 2B)。感染症による HPS/HLH の中で遭遇頻度の高い Epstein-Barr virus (EBV) では、リンパ球機能に関与する遺伝子異常が知られている。X

Table 1. Diagnostic criteria for hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) and macrophage activation syndrome (MAS)

Primary HLH		Secondary HLH and MAS criteria	
HLH-2004 criteria Henter JI. et.al. (ref. 34)	Proposed HLH diagnostic criteria, 2009 Filipovich AH. (ref. 40)	PRINTO criteria Ravelli A. et.al. (ref. 41)	H-Score Fardet L. et.al. (ref. 42)
1. Molecular diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) 2. Diagnostic criteria for HLH fulfilled (five out of the eight criteria below) • Fever (>7 days) • Splenomegaly • Cytopenias (affecting $\geq 2$ of 3 lineages in the peripheral blood) - Hemoglobin < 90 g/L - Platelets < $100 \times 10^9/L$ - Neutrophils < $1.0 \times 10^9/L$ • Hypertriglyceridemia (fasting serum triglycerides $\geq 3.0$ mmol/L or 265 mg/dL) and/or hypofibrinogenemia ( $\leq 1.5$ g/L) • Hemophagocytosis in bone marrow, spleen, or lymph nodes; no evidence of malignancy • Serum ferritin $\geq 500$ mg/L • Low or absent NK cell activity (according to the local laboratory reference) • Serum soluble CD25 (i.e., soluble IL-2 receptor) > 2,400 U/mL	1. Molecular diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) or X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP). 2. Or at least 3 of 4: a. Fever b. Splenomegaly c. Cytopenias (minimum of 2 cell lines reduced) d. Hepatitis 3. And at least 1 of 4: a. Hemophagocytosis b. $\uparrow$ Ferritin c. $\uparrow$ sIL2a (age based) d. Absent or very decreased NK function 4. Other results supportive of HLH diagnosis: a. Hypertriglyceridemia b. Hypofibrinogenemia c. Hyponatremia	A febrile patient with known or suspected systemic juvenile idiopathic arthritis is classified as having MAS if the following criteria are met: Serum ferritin > 684 ng/mL and any 2 of the following -Platelet count $\leq 181 \times 10^9/L$ -Serum aspartate aminotransferase > 48 U/L -Serum triglycerides > 156 mg/dL -Serum fibrinogen $\leq 360$ mg/dL	Known underlying immunosuppression -0 (No) or 18 (Yes) Temperature ( $^{\circ}C$ ) -0 (<38.4), 33 (38.4-39.4), or 49 (>39.4) Organomegaly -0 (No), 23 (Hepatomegaly or splenomegaly), or 38 (Hepatomegaly and splenomegaly) No. of cytopenias Defined as a hemoglobin level of $\leq 9.2$ mg/dL and/or a leukocyte count of $\leq 5,000/mm^3$ and/or a platelet count of $\leq 110,000/mm^3$ . -0 (0-1 lineage), 24 (2 lineages), or 34 (3 lineages) Serum ferritin (ng/mL) -0 (<2,000), 35 (2,000-6,000), or 50 (>6,000) Serum triglyceride (mmol/L) -0 (<1.5), 44 (1.5-4), or 64 (>4) Serum fibrinogen (gm/L) -0 (>2.5) or 30 (<2.5) Serum aspartate aminotransferase (IU/L) -0 (<30) or 19 (>30) Hemophagocytosis -0 (No) or 35 (Yes) Best cutoff value = 169

連鎖リンパ球増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome : XLP-1 と XLP-2) はリンパ球における SAP あるいは XIAP の遺伝子異常であるが、特に EBV 感染後に致死性の HPS/HLH に進展する<sup>43)</sup>。別の原因として、EBV が CTLs に感染し増殖することで、EBV に特異的な CTLs が十分に産生されずウイルス排除が遅延する。その結果、感染細胞から産生される IFN- $\gamma$  をはじめとする炎症性サイトカインがマクロファージを活性化させることで、全身炎症反応の進展、HPS の病態形成に関与すると考えられる<sup>44)</sup>。

しかし、その他の病原微生物による二次性 HPS/HLH の病態メカニズムは不明な点が多い。2009H1N1pdm インフルエンザ感染で二次性 HPS/

HLH を認めた 16 症例の中で、一次性 (遺伝性) HPS/HLH に認められる遺伝子異常を有していたのは 5 例であり、そのうち 2 例が NK 細胞の機能に関与する遺伝子 (*PRF1*) 異常を有していたとの報告がある<sup>30)</sup>。EBV 以外の微生物においても二次性 HPS/HLS を引き起こす可能性のある遺伝子異常を有する人が一定数存在すると考えられるが、それだけでは説明のつかない部分が多い。

*In vitro* の研究で、インフルエンザウイルスが直接 NK 細胞に感染し増殖することで、感染細胞をアポトーシスに誘導し、NK 細胞の数および機能が低下しウイルス排除が抑制されることが報告されている<sup>45)</sup>。また、鳥インフルエンザ H5N1 において、H5 ヘマグルチニン蛋白による CTLs の直接的な作

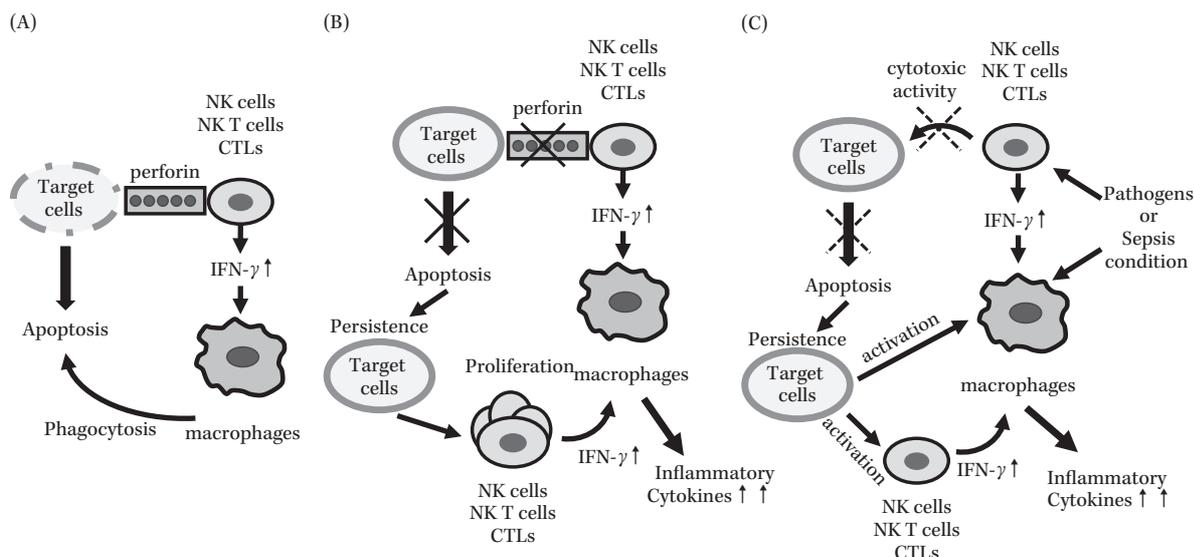


Fig. 2. Pathogenic schema of primary and secondary hemophagocytic syndrome (HPS) and hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH)  
 (A) Normal immune responses against the invading target. (B) Primary HPS/HLH: Dysfunction of perforin-mediated cytotoxicity exerted by cytotoxic T lymphocytes (CTLs), natural killer (NK) cells and NK T cells lead to impaired eradication of target cells, and instead, continuous secretion of inflammatory cytokines, especially interferon (IFN)- $\gamma$ . Monocytes/macrophages are activated by IFN- $\gamma$ . (C) Hypothesis for pathogenesis of secondary HPS/HLH: Pathogens and/or a septic state impair the cytotoxicity exerted by CTLs, NK cells and NK T cells. The persisting target cells enhance secretion of inflammatory cytokines, which activate lymphocytes and macrophages. Moreover, pathogens and/or a septic state can also activate lymphocytes and macrophages directly.

用によりパーフォリンの発現が抑制されることも報告されている<sup>46)</sup>。CTLsやNK細胞におけるウイルス排除の機能低下により感染した細胞が存在し続けることで、二次的にCTLs、NK細胞、NK T細胞および単球/マクロファージを活性化させる可能性がある (Fig. 2C)。その他、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18など炎症性サイトカインが病態メカニズムの中心を形成する液性因子である。敗血症など生体ストレスがかかることで炎症性サイトカインが上昇しヘルパー T細胞を活性化させ、活性化された T細胞がIFN- $\gamma$ を介して単球/マクロファージを活性化させる (Fig. 2C)。加えて小児のウイルス感染によるHPS/HLH例において、血清中のIFN- $\gamma$ とTNF- $\alpha$ 濃度が予後と相関するとの報告もある<sup>44,47)</sup>。以上より、感染病態において直接あるいは間接的にリンパ球が活性化され、活性化されたリンパ球が単球/マクロファージの異常な活性化を誘導することでHPS/HLHの病態形成に関与すると考えられる。

#### 4. 呼吸器感染症による二次性 HPS/HLH をターゲットにした治療

抗ウイルス薬の存在するインフルエンザウイルス感染症においても、抗ウイルス薬投与は発症後早期でのみしか有効性を認めないことから、病態が進んだ状態での抗ウイルス薬投与の効果は限定的であると考えられ、微生物に対する免疫応答を主眼とした治療法が考慮される。EBV感染症<sup>48,49)</sup>、骨髄移植<sup>50)</sup>など二次性HPS/HLHに対して、HLH-1994/2004ガイドラインに記載されているetoposide (ET)とcorticosteroid (CS)の併用が有用であることが知られている。ETは、トポイソメラーゼIIを阻害しアポトーシスを誘導し抗癌剤として広く使用されている。また、殺細胞性のあるETはマクロファージや単球の数を減少させる効果も知られている<sup>51)</sup>。呼吸器ウイルス感染症における病態の増悪にHPS/HLHの関与が示唆されていることから、複数の研究者が高病原性鳥インフルエンザやMERS-CoV感染症による二次性HPS/HLHを合併する重症例に対し、ETおよびCS投与を推奨している<sup>52-54)</sup>。しかし、臨床症例では、2009年にH1N1pdmインフ

ルエンザウイルスの感染によりARDSを発症し、extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)、腎代替療法を必要とする患者が、HLH-2004クライテリアを満たしETおよびCS投与で救命できたとの症例報告があるのみである<sup>55)</sup>。これまでARDSに対するETおよびCS投与の基礎研究が行われておらず、HPS/HLHを合併するARDS動物モデルでの検討が優先される<sup>54)</sup>。

### III. HPS/HLHを伴うARDS動物モデルの作成と治療方法の可能性

これまで、高病原性鳥インフルエンザ<sup>56,57)</sup>、SARS-CoV<sup>58,59)</sup>、MERS-CoV<sup>60)</sup>を使用したARDS動物モデルが作成され、病態メカニズムの解明や治療薬剤の効果などが試みられている。しかし、これらARDS動物モデルで二次性HPS/HLHに言及した研究はなく、バイオハザードの観点からも高病原性の微生物を使用した感染実験を行うことは一般的に困難である。ARDS動物モデルにおいて、lipopolysaccharide (LPS)を気管内あるいは全身投与したモデルが広く使用されているがLPSを気管内投与したARDS動物モデルは、一時的な肺への好中球浸潤とそれに伴った肺傷害を認めるのみで致死率も低く<sup>61)</sup>、致死性ARDSの病態解明には不十分である。そこで、著者らは自然免疫細胞の一つであるNK T細胞に着目し、事前に肺内のNK T細胞を $\alpha$ -galactosylceramideで活性化させた状態で、LPSを再度気管内投与することによりHPS/HLHを伴った致死性ARDS動物実験モデルの作成に成功した<sup>62)</sup>。本モデルの特徴は、①LPS投与後72時間以内に致死的な状態となり、②肺の病理所見で好中球だけでなく単球/マクロファージの肺内浸潤、肺胞出血、硝子膜形成を伴ったDADを認め、③骨髄の病理所見で血球貪食像を認め、④肺内のサイトカインストーム(LPS単独投与と比較し、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、MCP-1が2.5~10倍上昇)を認める。病原微生物を用いてはいないが、これまでヒトで報告された呼吸器ウイルス感染症による致死性ARDSの病態・病理を反映する動物モデルといえる。また、本モデルの重症化病態メカニズム<sup>62,63)</sup>として、①IFN- $\gamma$ 依存性であること、②単球/マクロファージがIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ など炎症性サイトカインの産生細胞であり、単球/マクロファージの異常な活性化(肺内iNOSの上昇)を確認していること、③好中球をター

ゲットとした治療(好中球エラスターゼ阻害薬や抗Ly-6G抗体を用いた好中球除去)が奏功しないことから、単球/マクロファージの異常な活性化が致死性ARDSにおける病態の中心にあると考えられた。

そこで、著者らの確立した致死性ARDS動物モデルを用いてHPS/HLHの治療薬であるETおよびCSの生存率に及ぼす効果を検討した。ETまたはCSの単独投与ではLPS投与後の生存率を改善させないが、ETとCSの併用療法では著明な生存率の改善効果を認めた(Fig. 3A)。また、ETとCSの併用療法はコントロールと比較し、病理組織学的に肺への炎症細胞の浸潤抑制、肺うっ血の改善、肺胞壁浮腫の改善を認めた(Fig. 3B)。本邦から、インフルエンザウイルス感染に伴ったHPS/HLH症例において、大量ステロイド療法が奏功したとの報告がある<sup>64,65)</sup>。しかし、ARDSに対して大量ステロイド投与による有効性が証明できていないこと、大量ステロイド投与によってウイルス排除を遅延させること、また著者らの作成したHPS/HLHを合併する致死性ARDS動物モデルにおいても大量ステロイド投与の有効性を証明できなかったことから、ウイルス感染症によるHPS/HLHを合併するARDS症例に対してステロイド大量療法は推奨できないと考える。以上より、HPS/HLHを伴うARDS症例において、ETおよびCSの併用療法は薬物治療における選択肢の一つとして考慮できる。

### IV. その他の薬物治療の可能性

近年、敗血症におけるIL-1アンタゴニスト(IL-1Ra; anakinra)の有用性を検討した研究のサブ解析で、MASを伴う敗血症症例にIL-1Ra投与による死亡率改善効果が認められたとの報告がある<sup>66)</sup>。このように、重症感染症における二次性HPS/HLHの原因となる炎症性サイトカインを標的とした生物学的製剤の有効性も報告されるようになった。しかし、これまで成人の二次性HPS/HLHを対象とした治療薬剤の大規模臨床研究は少なく、前述したETおよびCSの併用療法に関しても治療のタイミング、投与量などに関する情報は限られる。現在、感染症を含めた二次性HPS/HLHあるいはMASに対して、IL-1Ra (ClinicalTrials. Gov identifier NCT02780583, NCT03332225)、Janus kinase (JAK) 阻害薬 (NCT02400463)、ETおよびCSに加えIL-6受容体抗体 (NCT02385110) やJAK阻害薬

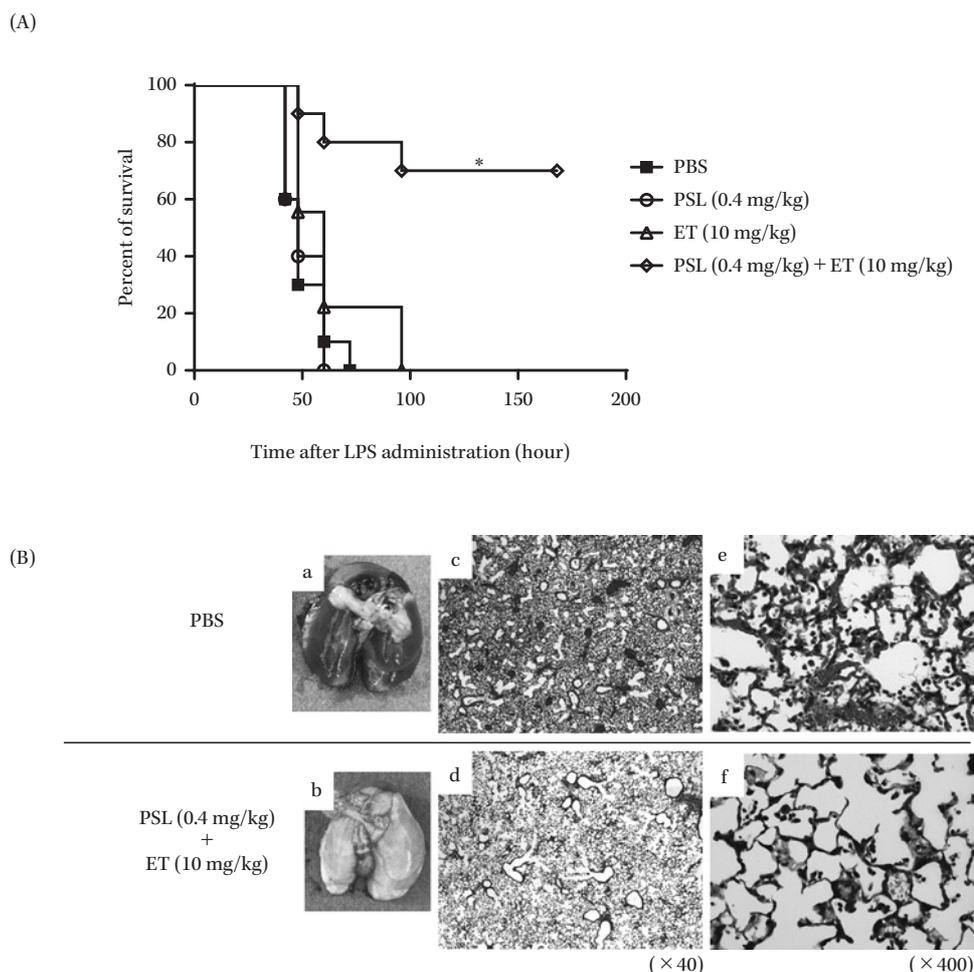


Fig. 3. Treatment with etoposide plus a corticosteroid decreased mortality in fatal acute respiratory distress syndrome (ARDS) mice and attenuated lung injury  
Mice, administered  $\alpha$ -galactosylceramide and lipopolysaccharide (LPS) intratracheally, were treated with PBS, PSL (0.4 mg/kg), ET (10 mg/kg), or PSL (0.4 mg/kg) + ET (10 mg/kg) at 0 h and 24 h after LPS administration. (A) Survival rates. \* $p < 0.001$  compared with PBS-treated groups. (B) Representative images of PBS- (a, c, e) or PSL + ET (b, d, f)-treated mice are shown at  $\times 40$  (c, d) and  $\times 400$  (e, f) magnification. PSL: prednisolone; ET: etoposide. (cited by ref. 63)

(NCT035533790) の併用療法などの臨床治験が海外で進行中である。このような臨床試験の結果、感染症領域においても二次性 HPS/HLH に対する免疫制御による新たな治療法の確立が期待される。

#### V. COVID-19 重症例における二次性 HPS/HLH の可能性

COVID-19 重症例において ARDS を合併し、人工呼吸器管理を必要とする症例の死亡率は 25% を超え<sup>67,68)</sup>、ウイルス性肺炎から急速進行性に ARDS を合併し剖検例の肺病理所見で DAD を認め<sup>69)</sup>、ARDS に加えて心臓、腎臓、凝固異常など多臓器不全を合併し、血液中のリンパ球減少、炎症性サイ

トカインの上昇が報告されている<sup>5,70)</sup>。また、中国武漢における COVID-19 の 150 症例において、死亡例では有意にフェリチン値 (vs 生存例; 1,297.6 ng/mL vs 614.0 ng/mL,  $p < 0.0001$ )、IL-6 値 (vs 生存例; 11.4 ng/mL vs 6.8 ng/mL,  $p < 0.0001$ ) が上昇していることも報告され<sup>32)</sup>、サイトカインストームが死亡に関与していると考えられている。さらに小児の COVID-19 症例を中心に川崎病に似た全身性の血管炎症例の報告が増えている<sup>71,72)</sup>。SARS-CoV-2 が上皮細胞以外に血管内皮細胞にも感染し、血管の炎症を誘導し血栓形成・凝固異常を促している可能性が報告された<sup>73)</sup>。川崎病に似た血管炎も

SARS-CoV-2の血管内皮細胞への感染を契機に直接引き起こされている可能性もあるが、川崎病自体が背景にマクロファージの活性化を主体としたMASの病態があると考えられている<sup>74,75)</sup>。以上より、著者らを含め多くの研究者が疾患における重症化の背景に二次性HPS/HLHの存在について言及している<sup>70,76,77)</sup>。これまで、感染対策の観点からCOVID-19剖検例の報告は多くないが、4例のうち3例で肺および縦隔リンパ節に血球貪食像を認め、1例では脾臓に血球貪食骨髄を認めたが、骨髄にはいずれも血球貪食像を認めなかったとの報告がある<sup>78)</sup>。しかし、これら4例のうちH-Scoreで二次性HPS/HLHクライテリアを満たしたのは1例のみであった。COVID-19における二次性HPS/HLHの診断目的にH-Scoreを提唱している研究者もいるが<sup>76)</sup>、上述のように死亡例でもフェリチン値の平均が2,000 ng/mLを超えず、剖検で血球貪食像を認めている例でもH-Scoreを用いた検討でも二次性HPS/HLHを診断することが困難であることから、COVID-19における二次性HPS/HLHの診断にH-Scoreを用いることは難しいと考える。その理由の一つに、SARS-CoV-2を含め呼吸器ウイルスに対する宿主の免疫応答の場が肺であり、悪性腫瘍や自己免疫疾患にみられるような全身性のマクロファージが活性化される病態と比べて、比較的肺の中に限局した二次性HPS/HLHの可能性も考えられるが、詳細について今後の検証が必要と考える。加えて、呼吸器感染症における二次性HPS/HLHの新しいクライテリアの制定や二次性HPS/HLHを診断するためのバイオマーカーの検討も必要と考える。

これまで、H5N1インフルエンザウイルスを用いた感染実験では、TNF- $\alpha$ やIL-6などの炎症性サイトカインを抑制しても死亡率を改善せず<sup>79,80)</sup>、季節性インフルエンザウイルスを用いた感染実験ではIL-6はウイルス排除に必須なサイトカインであり、IL-6を除去すると死亡率が上昇するとの報告がある<sup>81)</sup>。このような基礎研究の結果、インフルエンザウイルス感染症の重症例において、抗サイトカイン療法は懐疑的な考え方もあった。一方、COVID-19症例に対して、二次性HPS/HLHやその結果引き起こされるサイトカインストームをターゲットにIL-6受容体抗体(tocilizumab)<sup>82)</sup>やIL-1Ra(anakinra)<sup>83)</sup>の投与が中等症から重症例において有効性を

示した報告があるが、上記のような基礎研究もあり今後慎重に結果を見極める必要があると考える。

## おわりに

本総説では、新興・再興呼吸器ウイルス感染症によるARDSにおいて重症化メカニズムの背景にマクロファージの異常な活性化による二次性HPS/HLHの可能性があること、二次性HPS/HLHを合併するARDSに対するETおよびCSの治療効果の可能性について示した。加えて、二次性HPS/HLHは敗血症と臨床徴候が非常に類似しており、敗血症の中にもマクロファージの異常活性化が病態のメインとなるグループ(SHLHOS)が存在することを忘れてはならない。二次性HPS/HLHは疑うことから始まるが、確立した診断クライテリアおよびバイオマーカーも存在しておらず、ETおよびCS以外に確立した治療法もないのが現状である。今後、感染病態における二次性HPS/HLHの基礎的・臨床的研究を進展させることで、バイオマーカー探索、微生物の種類に依存しない病態コントロールを標的とした新たな治療オプションが確立されることが期待される。

## 謝辞

本研究にかかわる研究助成として、青柳哲史は日本学術振興会 科学研究費助成(18K08424)の助成を受け得られた成果です。

利益相反自己申告：著者青柳哲史および川上和義は共生医学研究所の提供する寄付講座に所属しております。その他の著者は申告すべきものなし。

## 文献

- 1) WHO: Pneumonia of unknown cause - China, 2020 [cited 2020 Mar 27]  
<https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unknown-cause-china/en/>
- 2) WHO: Novel Coronavirus - China [cited 2020 Mar 27]  
<https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/>
- 3) Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al: Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020; 395: 507-13
- 4) Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al: Clinical course and outcomes of critically ill pa-

- tients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 475-81
- 5) Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al: Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395: 497-506
  - 6) Yuen K Y, Chan P K, Peiris M, Tsang D N, Que T L, Shortridge K F, et al: Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet* 1998; 351: 467-71
  - 7) Lai S, Qin Y, Cowling B J, Ren X, Wardrop N A, Gilbert M, et al: Global epidemiology of avian influenza A H5N1 virus infection in humans, 1997-2015: a systematic review of individual case data. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: e108-18
  - 8) Fineberg H V: Pandemic preparedness and response—lessons from the H1N1 influenza of 2009. *N Engl J Med* 2014; 370: 1335-42
  - 9) Chen Y, Liang W, Yang S, Wu N, Gao H, Sheng J, et al: Human infections with the emerging avian influenza A H7N9 virus from wet market poultry: clinical analysis and characterisation of viral genome. *Lancet* 2013; 381: 1916-25
  - 10) Lee N, Hui D, Wu A, Chan P, Cameron P, Joynt G M, et al: A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003; 348: 1986-94
  - 11) Dyer O: South Korea scrambles to contain MERS virus. *BMJ* 2015; 350: h3095
  - 12) Perez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, Hernandez M, Quiñones-Falconi F, Bautista E, et al: Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in Mexico. *N Engl J Med* 2009; 361: 680-9
  - 13) Peiris J S, Chu C M, Cheng V C, Chan K S, Hung I F, Poon L L, et al: Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet* 2003; 361: 1767-72
  - 14) Kawachi S, Luong S T, Shigematsu M, Furuya H, Phung T T, Phan P H, et al: Risk parameters of fulminant acute respiratory distress syndrome and avian influenza (H5N1) infection in Vietnamese children. *J Infect Dis* 2009; 200: 510-5
  - 15) ARDS Definition Task Force, Ranieri V M, Rubenfeld G D, Thompson B T, Ferguson N D, Caldwell E, et al: Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA* 2012; 307: 2526-33
  - 16) Fan E, Brodie D, Slutsky A S: Acute Respiratory Distress Syndrome: Advances in Diagnosis and Treatment. *JAMA* 2018; 319: 698-710
  - 17) Shaver C M, Bastarache J A: Clinical and biological heterogeneity in acute respiratory distress syndrome: direct versus indirect lung injury. *Clin Chest Med* 2014; 35: 639-53
  - 18) Bellani G, Laffey J G, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al: Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA* 2016; 315: 788-800
  - 19) Matute-Bello G, Downey G, Moore B B, Goshong S D, Matthay M A, Slutsky A S, et al: An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 44: 725-38
  - 20) Nicholls J M, Poon L L, Lee K C, Ng W F, Lai S T, Leung C Y, et al: Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003; 361: 1773-8
  - 21) Ksiazek T G, Erdman D, Goldsmith C S, Zaki S R, Peret T, Emery S, et al: A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348: 1953-66
  - 22) Chien J Y, Hsueh P R, Cheng W C, Yu C J, Yang P C: Temporal changes in cytokine/chemokine profiles and pulmonary involvement in severe acute respiratory syndrome. *Respirology* 2006; 11: 715-22
  - 23) Chi Y, Zhu Y, Wen T, Cui L, Ge Y, Jiao Y, et al: Cytokine and chemokine levels in patients infected with the novel avian influenza A (H7N9) virus in China. *J Infect Dis* 2013; 208: 1962-7
  - 24) To K F, Chan P K, Chan K F, Lee W K, Lam W Y, Wong K F, et al: Pathology of fatal human infection associated with avian influenza A H5N1 virus. *J Med Virol* 2001; 63: 242-6
  - 25) Peiris J S, Yu W C, Leung C W, Cheung C Y, Ng W F, Nicholls J M, et al: Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet* 2004; 363: 617-9
  - 26) Chokephaibulkit K, Uprasertkul M, Puthavathana P, Chearskul P, Auewarakul P, Dowell S F, et al: A child with avian influenza A (H5N1) infection. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 162-6
  - 27) Nakajima N, Van Tin N, Sato Y, Thach H N, Katano H, Diep P H, et al: Pathological study of archival lung tissues from five fatal cases of avian H5N1 influenza in Vietnam. *Mod Pathol* 2013; 26: 357-69
  - 28) Yu L, Wang Z, Chen Y, Ding W, Jia H, Chan J F, et al: Clinical, virological, and histopathological manifestations of fatal human infections by avian influenza A (H7N9) virus. *Clin Infect Dis* 2013; 57: 1449-57
  - 29) Mauad T, Hajjar L A, Callegari G D, da Silva L F, Schout D, Galas F R, et al: Lung pathology in fatal novel human influenza A (H1N1) infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 72-9
  - 30) Schulert G S, Zhang M, Fall N, Husami A, Kissell D, Hanosh A, et al: Whole-Exome Sequencing Reveals Mutations in Genes Linked to Hemophagocytic Lymphohistiocytosis and Macrophage Activation Syndrome in Fatal Cases of H1N1 Influenza. *J Infect Dis* 2016; 213: 1180-8
  - 31) Hsueh P R, Chen P J, Hsiao C H, Yeh S H, Cheng W C, Wang J L, et al: Patient data, early SARS epidemic, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 489-93
  - 32) Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J: Clinical predictors of mortality due to COVID-

- 19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med* 2020; 46: 846-8
- 33) Janka G E: Hemophagocytic syndromes. *Blood Rev* 2007; 21: 245-53
- 34) Henter J I, Horne A, Aricó M, Egeler R M, Filipovich A H, Imashuku S, et al: HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48: 124-31
- 35) Beutel G, Wiesner O, Eder M, Hafer C, Schneider A S, Kielstein J T, et al: Virus-associated hemophagocytic syndrome as a major contributor to death in patients with 2009 influenza A (H1N1) infection. *Crit Care* 2011; 15: R80
- 36) Seguin A, Galicier L, Boutboul D, Lemiale V, Azoulay E: Pulmonary Involvement in Patients With Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Chest* 2016; 149: 1294-301
- 37) Grangé S, Buchonnet G, Besnier E, Artaud-Macari E, Beduneau G, Carpentier D, et al: The Use of Ferritin to Identify Critically Ill Patients With Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Crit Care Med* 2016; 44: E1045-53
- 38) Lachmann G, Knaak C, Vorderwülbecke G, La Rosée P, Balzer F, Schenk T, et al: Hyperferritinemia in Critically Ill Patients. *Crit Care Med* 2020; 48: 459-65
- 39) Raschke R A, Garcia-Orr R: Hemophagocytic lymphohistiocytosis: a potentially underrecognized association with systemic inflammatory response syndrome, severe sepsis, and septic shock in adults. *Chest* 2011; 140: 933-8
- 40) Filipovich A H: Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) and related disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 127-31
- 41) Ravelli A, Minoia F, Davi S, Horne A, Bovis F, Pistorio A, et al: 2016 Classification Criteria for Macrophage Activation Syndrome Complicating Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis: A European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology/Paediatric Rheumatology International Trials Organisation Collaborative Initiative. *Arthritis Rheumatol* 2016; 68: 566-76
- 42) Fardet L, Galicier L, Lambotte O, Marzac C, Aumont C, Chahwan D, et al: Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66: 2613-20
- 43) Chandrakasan S, Filipovich A H: Hemophagocytic lymphohistiocytosis: advances in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *J Pediatr* 2013; 163: 1253-9
- 44) Imashuku S, Hibi S, Fujiwara F, Ikushima S, Todo S: Haemophagocytic lymphohistiocytosis, interferon-gamma-naemia and Epstein-Barr virus involvement. *Br J Haematol* 1994; 88: 656-8
- 45) Mao H, Tu W, Qin G, Law H K, Sia S F, Chan P L, et al: Influenza virus directly infects human natural killer cells and induces cell apoptosis. *J Virol* 2009; 83: 9215-22
- 46) Hsieh S M, Chang S C: Insufficient perforin expression in CD8+ T cells in response to hemagglutinin from avian influenza (H5N1) virus. *J Immunol* 2006; 176: 4530-3
- 47) Ishii E, Ohga S, Aoki T, Yamada S, Sako M, Tasaka H, et al: Prognosis of children with virus-associated hemophagocytic syndrome and malignant histiocytosis: correlation with levels of serum interleukin-1 and tumor necrosis factor. *Acta Haematol* 1991; 85: 93-9
- 48) Imashuku S, Kuriyama K, Teramura T, Ishii E, Kinugawa N, Kato M, et al: Requirement for etoposide in the treatment of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2665-73
- 49) Lee J S, Kang J H, Lee G K, Park H J: Successful treatment of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 protocol. *J Korean Med Sci* 2005; 20: 209-14
- 50) Henter J I, Samuelsson-Horne A, Aricó M, Egeler R M, Elinder G, Filipovich A H, et al: Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 immunochemotherapy and bone marrow transplantation. *Blood* 2002; 100: 2367-73
- 51) Baldwin E L, Osheroff N: Etoposide, topoisomerase II and cancer. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2005; 5: 363-72
- 52) Henter J I, Chow C B, Leung C W, Lau Y L: Cytotoxic therapy for severe avian influenza A (H5N1) infection. *Lancet* 2006; 367: 870-3
- 53) Al-Ahmari A: Is secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis behind the high fatality rate in Middle East respiratory syndrome corona virus? *J Appl Hematol* 2015; 6: 1-5
- 54) Hui D S: Influenza A/H5N1 infection: other treatment options and issues. *Respirology* 2008; 13 (Suppl 1): S22-6
- 55) Henter J I, Palmkvist-Kajiser K, Holzgraefe B, Bryceson Y T, Palmér K: Cytotoxic therapy for severe swine flu A/H1N1. *Lancet* 2010; 376: 2116
- 56) Xu T, Qiao J, Zhao L, Wang G, He G, Li K, et al: Acute respiratory distress syndrome induced by avian influenza A (H5N1) virus in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 1011-7
- 57) Baranovich T, Burnham A J, Marathe B M, Armstrong J, Guan Y, Shu Y, et al: The neuraminidase inhibitor oseltamivir is effective against A/Anhui/1/2013 (H7N9) influenza virus in a mouse model of acute respiratory distress syndrome. *J Infect Dis* 2014; 209: 1343-53
- 58) Imai Y, Kuba K, Rao S, Huan Y, Guo F, Guan B, et al: Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature* 2005; 436: 112-6
- 59) Rockx B, Baas T, Zornetzer G A, Haagmans B, Sheahan T, Frieman M, et al: Early upregulation of acute respiratory distress syndrome-associated cytokines promotes lethal disease in an aged-mouse model of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J Virol* 2009; 83: 7062-74

- 60) Cockrell A S, Yount B L, Scobey T, Jensen K, Douglas M, Beall A, et al: A mouse model for MERS coronavirus-induced acute respiratory distress syndrome. *Nat Microbiol* 2016; 2: 16226
- 61) Matute-Bello G, Frevert C W, Martin T R: Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: L379-99
- 62) Aoyagi T, Yamamoto N, Hatta M, Tanno D, Miyazato A, Ishii K, et al: Activation of pulmonary invariant NKT cells leads to exacerbation of acute lung injury caused by LPS through local production of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  by Gr-1<sup>+</sup> monocytes. *Int Immunol* 2011; 23: 97-108
- 63) Aoyagi T, Sato Y, Toyama M, Oshima K, Kawakami K, Kaku M: Etoposide and Corticosteroid Combination Therapy Improves Acute Respiratory Distress Syndrome in Mice. *Shock* 2019; 52: 83-91
- 64) Asai N, Ohkuni Y, Matsunuma R, Iwama K, Otsuka Y, Kawamura Y, et al: A case of novel swine influenza A (H1N1) pneumonia complicated with virus-associated hemophagocytic syndrome. *J Infect Chemother* 2012; 18: 771-4
- 65) Ando M, Miyazaki E, Hiroshige S, Ashihara Y, Okubo T, Ueo M, et al: Virus associated hemophagocytic syndrome accompanied by acute respiratory failure caused by influenza A (H3N2). *Intern Med* 2006; 45: 1183-6
- 66) Shakoory B, Carcillo J A, Chatham W W, Amdur R L, Zhao H, Dinarello C A, et al: Interleukin-1 Receptor Blockade Is Associated With Reduced Mortality in Sepsis Patients With Features of Macrophage Activation Syndrome: Reanalysis of a Prior Phase III Trial. *Crit Care Med* 2016; 44: 275-81
- 67) Richardson S, Hirsch J S, Narasimhan M, Crawford J M, McGinn T, Davidson K W, et al: Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA* 2020; 323: 2052-9
- 68) Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, Antonelli M, Cabrini L, Castelli A, et al: Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA* 2020; 323: 1574-81
- 69) Schaller T, Hirschtbühl K, Burkhardt K, Braun G, Trepel M, Märkl B, et al: Postmortem Examination of Patients With COVID-19. *JAMA* 2020; 323: 2518-20
- 70) Liu B, Li M, Zhou Z, Guan X, Xiang Y: Can we use interleukin-6 (IL-6) blockade for coronavirus disease 2019 (COVID-19)-induced cytokine release syndrome (CRS)? *J Autoimmun* 2020; 111: 102452
- 71) Viner R M, Whittaker E: Kawasaki-like disease: emerging complication during the COVID-19 pandemic. *Lancet* 2020; 395: 1741-3
- 72) Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A, Martelli L, Ruggeri M, Ciuffreda M, et al: An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *Lancet* 2020; 395: 1771-8
- 73) Varga Z, Flammer A J, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel A S, et al: Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet* 2020; 395: 1417-8
- 74) Wang W, Gong F, Zhu W, Fu S, Zhang Q: Macrophage activation syndrome in Kawasaki disease: more common than we thought? *Semin Arthritis Rheum* 2015; 44: 405-10
- 75) Han S B, Lee S Y: Macrophage activation syndrome in children with Kawasaki disease: diagnostic and therapeutic approaches. *World J Pediatr* 2020. doi: 10.1007/s12519-020-00360-6
- 76) Mehta P, McAuley D F, Brown M, Sanchez E, Tattersall R S, Manson J J, et al: COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* 2020; 395: 1033-4
- 77) McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C: The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease. *Autoimmun Rev* 2020; 19: 102537
- 78) Prilutskiy A, Kritselis M, Shevtsov A, Yambayev I, Vadlamudi C, Zhao Q, et al: SARS-CoV-2 Infection Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: An autopsy series with clinical and laboratory correlation. *medRxiv* 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.07.20094888>
- 79) Salomon R, Hoffmann E, Webster R G: Inhibition of the cytokine response does not protect against lethal H5N1 influenza infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 12479-81
- 80) Szretter K J, Gangappa S, Lu X, Smith C, Shieh W J, Zaki S R, et al: Role of host cytokine responses in the pathogenesis of avian H5N1 influenza viruses in mice. *J Virol* 2007; 81: 2736-44
- 81) Yang M L, Wang C T, Yang S J, Leu C H, Chen S H, Wu C L, et al: IL-6 ameliorates acute lung injury in influenza virus infection. *Sci Rep* 2017; 7: 43829
- 82) Xu X, Han M, Li T, Sun W, Wang D, Fu B, et al: Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117: 10970-5
- 83) Cavalli G, De Luca G, Campochiaro C, Della-Torre E, Ripa M, Canetti D, et al: Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol* 2020; 2: E325-31

## Targeted therapy against macrophages/monocytes in fatal acute respiratory distress syndrome

Tetsuji Aoyagi<sup>1,5)</sup>, Yukio Sato<sup>1,2)</sup>, Kazuyoshi Kawakami<sup>3,5)</sup> and Mitsuo Kaku<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup> Tohoku University of Graduated Medicine, Internal Medicine, Department of Infectious Diseases, 2-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai, Japan

<sup>2)</sup> Sendai Medical Imaging Clinic

<sup>3)</sup> Tohoku University of Graduated Medicine, Medical Microbiology, Mycology and Immunology

<sup>4)</sup> Tohoku Medical and Pharmaceutical University, Division of Infectious Diseases and Infection Control

<sup>5)</sup> Tohoku University of Graduated Medicine, Intelligent Network for Infection Control

The emergence of novel, as well as re-emergence of serious respiratory viral diseases in the current decade is of particular concern. Fatal acute respiratory distress syndrome (ARDS) with rapid deterioration of vital organ functions has been observed in some patients infected with the highly pathogenic influenza virus strains, severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV), and middle east respiratory syndrome corona virus (MERS-CoV). The common manifestations of virus-induced fatal ARDS are cytokine storm and activation of monocytes/macrophages, characterized as secondary hemophagocytic syndrome (HPS)/hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH). However, infection-induced HPS/HLH is likely to be under-recognized, which could contribute to the serious progression and high mortality. Since there are no established criteria for the diagnosis of infection-induced HPS/HLH, early recognition is crucial for any reasonable attempt at curative treatment. Etoposide (ET), a cytotoxic agent, and corticosteroids (CS), with their strong anti-inflammatory activities, have been used to treat other diseases with similar pathophysiology, namely, cytokine-activated macrophages and hemophagocytic activity, but it remains unknown whether these agents can also influence the clinical outcomes in patients with fatal ARDS and secondary HPS/HLH. We established an animal model of fatal ARDS, with severe lung injury, hypercytokinemia, and hemophagocytosis. Using this animal model, we demonstrated that combined therapy with ET plus CS, targeting monocytes/macrophages, but not inflammatory cytokines, had the potential to attenuate the severity of fatal ARDS. Specific treatment against HPS/HLH, including combined ET plus CS therapy, could be considered in patients with fatal ARDS complicated by secondary HPS/HLH. To improve the outcomes in patients with infection-induced fatal ARDS, clinical and basic science studies are needed in the future to elucidate the mechanisms underlying the pathogenesis of ARDS and identify new treatment targets.