

2. 新型コロナウイルスと自然免疫応答

高島 謙, 押海 裕之

熊本大学大学院生命科学研究部免疫学講座

はじめに

2019年の12月末に中国の湖北省の武漢市で初めて報告された新型コロナウイルス感染症 (coronavirus disease 2019: COVID-19) は、翌月の2020年1月5日にはNCBIのGenBankにその原因となるウイルスのゲノム配列が登録され¹⁾, Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) とその後に命名された。当初は武漢市の華南海鮮市場が発生源とされたが、2020年の1月の調査で、2019年の12月の10日前後に発症した最初と2番目の患者は華南海鮮市場を訪れておらず²⁾, 発生源は現在も不明である。

SARS-CoV-2ウイルスの遺伝的な解析からは、コウモリのSARS様コロナウイルスのSL-CoV ZC45株が最も類縁であると当初報告された³⁾。Hu Dらによると、このウイルス株は中国浙江省舟山市で2017年の2月17日(金)に捕獲したキクガシラコウモリ (*R. sinicus*) から単離された⁴⁾。このウイルス株はVero E6細胞には感染しないことからヒトを含む霊長類への感染性はないと考えられるが、生後3日のBALB/cマウスへ脳から感染させることで、脳や肺や腸管で炎症が生じ感染が成立する。その後の遺伝的な解析からはZhou Pらが以前に雲南省で捕獲したナカキクガシラコウモリ (*R. affinis*) から単離されたBat CoV RaTG13株や⁵⁾、マレーセンザンコウから単離されたウイルス株と遺伝的に最も近い⁶⁾。そのため、コウモリやセンザンコウなどの動物からヒトへ感染したことがCOVID-19の始まりであると推測される。

SARS-CoV-2は飛沫感染などにより上気道や下気道など

の粘膜組織に感染する^{7,8)}。感染したCOVID-19患者の血液中でウイルスRNAが観察されており^{9,10)}、ウイルスは呼吸器系のみならず様々な臓器や組織に感染する。また、腸細胞などへのSARS-CoV-2の感染や¹¹⁾、或いは、まれではあるが胎盤を通じた胎児への感染の報告もある¹²⁾。

SARS-CoV-2のウイルス感染粒子は、ヒト細胞に発現するACE2分子を受容体として細胞へ結合することや⁵⁾、ヒトのセリンプロテアーゼであるTMPRSS2分子によりスパイクタンパク質が切断され開裂することで細胞へ感染することは広く知られているが^{13,14,15)}、一方で、レクチンなどの他の受容体を介した感染も示唆されており¹⁶⁾、今後の研究により感染様式の全容が解明されると期待される。

このACE2分子は様々な細胞で発現しており、気道や肺での粘膜上皮細胞にも発現している。興味深いことに、鼻粘膜の杯細胞と線毛細胞でACE2とTMPRSS2分子の発現が非常に高く、これらの細胞が感染経路としてどのような位置付けになるのかは今後の研究課題である¹⁷⁾。これら鼻粘膜上皮での発現に加えて消化管での発現が高く、粘膜上皮だけでなく内皮細胞でも発現することは¹⁸⁾、患者の全身の臓器や組織でウイルスが検出されることを説明できる。このような性質は2002年から流行が始まった重症呼吸器感染症 (SARS) と同様である¹⁹⁾。

自然免疫応答はウイルス感染初期の生体防御に必須であり、パターン認識受容体がウイルス由来の核酸を認識し強い抗ウイルス作用を示すI型やIII型のインターフェロン(IFN)や、その他の炎症性サイトカイン産生を誘導する。産生されたI型IFNはIFN誘導遺伝子の発現を上昇させ、PKRやRNaseLなどの活性化を導きウイルスを排除する²⁰⁾。さらに、未熟樹状細胞の成熟化を促すことで、ナイーブT細胞のプライミングなどを介して獲得免疫系を惹起する²⁰⁾。このような基本的なウイルスに対する自然免疫応答が、SARS-CoV-2の感染に対してどのように働くのかについて明らかとなってきた。

新型コロナウイルス感染後の自然免疫応答

実験室でよく用いられているHeLa細胞やA549細胞に

連絡先

〒860-8556

熊本県熊本市中央区本荘1-1-1

熊本大学大学院生命科学研究部・免疫学講座

TEL: 096-373-5135

FAX: 096-373-5138

E-mail: oshiumi@kumamoto-u.ac.jp

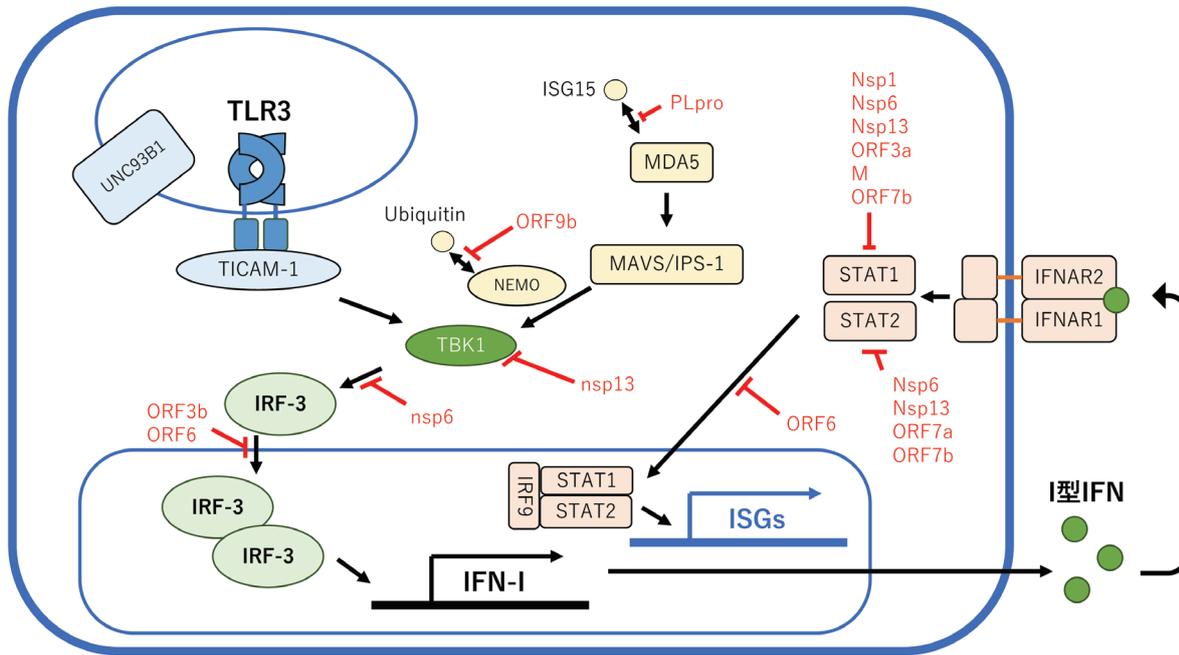


図1 SARS-CoV-2 に対する自然免疫応答とウイルスタンパク質による抑制

SARS-CoV-2 感染に対する I 型 IFN 応答として MDA5 依存的な経路と TLR3 依存的な経路が働く。一方でウイルスのタンパク質はこれらの経路に関与する分子の活性化、翻訳後修飾、核移行などを阻害することで自然免疫応答を抑制する。

は SARS-CoV-2 は、あまり感染せず、ヒト肺上皮細胞の Calu-3 細胞に効率良く感染する¹³⁾。A549 や HeLa 細胞に ACE2 遺伝子を過剰発現させることで SARS-CoV-2 が感染できるようになるため、ACE2 分子の発現の低さがその原因と考えられる^{5, 21)}。SARS-CoV-2 感染後の Calu-3 細胞のサイトカイン産生を調べると、I 型と III 型 IFN の発現が低いにも関わらず、IL-6 などの炎症性サイトカインの産生は高い²¹⁾。これは初代培養のヒト肺上皮細胞でも同様の傾向が観察される²¹⁾。これらのことから、SARS-CoV-2 は I 型 IFN 産生を抑制すると推測される。

SARS-CoV-2 はマウスには感染しないが、ハムスター、フェレット、カンクイザルには実験室条件下で感染する。ヒト培養細胞で観察される IFN 産生が他の炎症性サイトカインと比較して弱い傾向は、動物実験でも同様である。ハムスターを用いた場合は 10 個程度の少ない数のウイルス感染粒子数でも下気道への感染が成立し、IFN 誘導遺伝子の発現が上気道で観察されたのち、数日遅れて下気道でもその発現が観察される²²⁾。一方で、IFN 誘導遺伝子の発現が観察されるものの、I 型 IFN そのものは上気道で感染 1 日後に一過的に観察されるのみであり、下気道では発現が殆ど観察されない²²⁾。感染 24 時間前に I 型 IFN を経鼻投与することで、SARS-CoV-2 のウイルス量を大きく減少させることができることから²²⁾、SARS-CoV-2 感染では感染初期の I 型 IFN 産生が十分でないため、I 型 IFN を補うことでウイルス感染を大きく抑制できると考えられ

る。カンクイザルを用いたモデルでは若い個体では感染後に I 型 IFN 応答が確認できるのに対し、高齢の個体では I 型 IFN 産生は殆ど生じない²³⁾。

フェレットを用いた実験では 5×10^6 個程度のウイルス感染粒子を経鼻投与することで感染が成立するが、 5×10^2 個では 6 匹中の 1 匹しか症状を示さないことから他の動物モデルと比較するとやや感染しにくい²⁴⁾。 5×10^6 個のウイルス感染粒子の場合は、下気道でもウイルス RNA が検出されるが 5×10^2 個程度の場合は上気道のみでウイルス RNA が検出され肺では検出されない²⁴⁾。よく知られる通り、SARS-CoV-2 はマウスには感染しないが、ヒト ACE2 遺伝子を発現させることで感染が成立する。ヒト ACE2 遺伝子をアデノウイルスベクターによりマウスに発現させる実験系では、感染後に I 型 IFN 誘導遺伝子の発現上昇が確認され、転写因子である IRF3 や I 型 IFN の受容体を欠損させることで骨髄系細胞やリンパ球の集積が減少する²⁵⁾。

これらのヒト培養細胞や動物モデルを用いた実験からも SARS-CoV-2 の感染初期には I 型 IFN 産生がウイルスにより抑制されると考えられる。実際にヒトの COVID-19 患者でも TNF- α や IL-8 などの炎症性サイトカイン産生はインフルエンザの患者と変わらないのに対し、感染初期では I 型 IFN 産生が低いままである²⁶⁾。COVID-19 患者へ IFN- β 1 を投与することで回復期間が短縮されることが報告されており²⁷⁾、感染初期の自然免疫応答としての I 型 IFN は SARS-CoV-2 の排除に有効であるものの、I 型 IFN

の産生が十分でないために重症化している可能性が考えられる²⁸⁾。

パターン認識受容体による SARS-CoV-2 の認識

ヒトの COVID-19 の重症例の患者のゲノム解析からは自然免疫に関わる TLR3, UNC93B1, TICAM-1 (別名 TRIF), TBK1, IRF3, IRF7, IFNAR1, IFNAR2 のアミノ酸変異を引き起こす遺伝子変異が、重症化した患者で発見されている²⁹⁾。これらの分子の多くはウイルス由来の二重鎖 RNA を認識する TLR3 経路や I 型 IFN によるシグナルを増幅する経路の分子群である (図 1)。

TLR3 は一部の細胞では細胞表面での発現が観察されるが、マクロファージや樹状細胞では主にエンドソーム膜上に存在するためエンドサイトーシスなどで侵入したウイルス由来の RNA を認識する^{30, 31)}。このエンドソームへの TLR3 の局在には UNC93B1 が必要であり、UNC93B1 は TLR3 のみならず TLR7, 8, 9 の適切な細胞内局在にも必須である³²⁾。TLR3 はウイルス由来の二重鎖 RNA と結合する^{30, 33)}。一本鎖の RNA でも部分的な二重鎖を形成する場合には TLR3 によって認識される³⁴⁾。TLR3 は TICAM-1 (別名 TRIF) をアダプター分子として用い^{35, 36)}、TBK1 を介して転写因子の IRF3 依存的な I 型 IFN 産生を誘導する³⁷⁾。ウイルス RNA の認識に関与する TLR7 や TLR8 遺伝子の変異は上記の論文では報告されていないが、TLR7 と TLR8 の下流で活性化する IRF-7 の変異が観察されていることから、TLR7 と TLR8 が共に一本鎖 RNA を認識するため、単独の変異ではお互いが欠損を補えるため遺伝的変異として発見されていない可能性が考えられる。

RIG-I 様受容体の RIG-I や MDA5 は TLR3 とは異なり細胞質内のウイルス由来の二重鎖 RNA を認識する^{38, 39)}。RIG-I は 1 kbp 以下の比較的短い二重鎖 RNA を認識し、ウイルス RNA の 5' 末端に 3 リン酸や 2 リン酸が結合した構造が必要となるのに対し、MDA5 はウイルス RNA 末端の構造にはあまり依存せず、1 kbp 以上の長い二重鎖 RNA が存在すると活性化する⁴⁰⁾。RIG-I と MDA5 の活性化には翻訳後修飾が重要である^{41, 42, 43)}。RIG-I と MDA5 はミトコンドリア外膜上の MAVS タンパク質 (別称 IPS-1 など) をアダプター分子とし^{44, 45, 46, 47)}、MAVS 分子が活性化しプリオン様の凝集体を形成すると⁴⁸⁾、TRAF3 や NEMO などの分子を介して^{49, 50)}、TBK1 や TBK1 や IKK- ϵ / ι などのリン酸化酵素を活性化し、転写因子の IRF-3 をリン酸化する^{37, 51)}。リン酸化された IRF-3 は二量体となり核へ移行し I 型インターフェロンの産生を誘導する。また転写因子の NF- κ B が活性化すると IL-6 などの炎症性サイトカインが産生される³⁸⁾ (図 1)。

SARS-CoV-2 の感染では MDA5 依存的に I 型 IFN 産生が誘導されることが報告されているが^{43, 52)}、RIG-I 依存的に I 型 IFN 産生が誘導されるとする報告もある⁵³⁾。Yin

X らはヒトの iPS 細胞由来の肺上皮細胞を用いて、SARS-CoV-2 感染により I 型 IFN 産生が誘導されることを示し、MDA5 分子をノックアウトしたヒト肺上皮細胞由来の Calu-3 細胞株で、SARS-CoV-2 由来の RNA に対する応答が著しく低下することを示した⁵²⁾。Calu-3 細胞株を用いた MDA5 依存的な SARS-CoV-2 の認識は他のグループからも報告されている⁵⁴⁾。

SARS-CoV-2 によるヒト自然免疫の抑制

ウイルスは感染初期の自然免疫を様々な方法により抑制できるように進化している⁵⁵⁾。そのため、ウイルスが自然免疫を抑制することで感染が成立するものと考えられる。例えば C 型肝炎ウイルスのプロテアーゼとして知られる NS3-4A は、本来はウイルスのポリペプチドを切断しウイルスタンパク質を成熟化させるが、ミトコンドリア外膜上に存在するヒトの MAVS タンパク質を切断することで RIG-I 依存的な I 型インターフェロン産生を阻害する⁴⁷⁾。この他にも C 型肝炎ウイルスのコアタンパク質が I 型インターフェロン産生に重要な DDX3 分子の機能を抑制することも報告されている^{56, 57, 58)}。また A 型インフルエンザウイルスの NS1 タンパク質は RIG-I の活性化に必須のユビキチンリガーゼの機能を阻害することで I 型インターフェロンの産生を抑制する^{59, 60)}。このことから SARS-CoV-2 のウイルスタンパク質も自然免疫で働く分子を抑制する機能があると考えられる。

SARS-CoV-2 のパライン様プロテアーゼの PLpro はウイルスのポリペプチドを切断する酵素であるが、ISG15 を切断する活性を有しており、IRF3 に結合した ISG15 を除去し I 型 IFN 産生を抑制する⁶¹⁾。また、MDA5 に結合した ISG15 も除くことで I 型 IFN 産生を抑制する⁴³⁾。さらに、ORF9b タンパク質は RLRs の経路の分子の中では MAVS と NEMO に結合し、NEMO の活性化に必要なポリユビキチン修飾を阻害し、I 型インターフェロン産生を抑制する⁵³⁾。SARS-CoV-2 のみならず SARS 様コロナウイルスの ORF3b や ORF6 が I 型インターフェロン産生を抑制することが報告されており^{62, 63)}、この他にも SARS-CoV-2 の ORF7a が I 型インターフェロンの産生を抑制することが報告されていることに加え⁶⁴⁾、ウイルスの NSP1, NSP3, NSP6, NSP12, NSP13, NSP14, M などの分子も自然免疫を抑制する^{65, 66)}。これらのウイルスタンパク質の標的分子について報告されているものについて図 1 にまとめた。このようにウイルスの様々なタンパク質が宿主の RLR 依存的な I 型インターフェロン産生を抑制していることが、SARS-CoV-2 感染初期に I 型 IFN が効率よく産生されない原因の一つになっていると考えられる。

COVID-19 と「サイトカインストーム」

COVID-19 の急性期の患者では末梢血中の樹状細胞に加

えNK細胞やT細胞の数が減少し、一方で抗体産生が早期に誘導された場合でも抗原特異的なT細胞の活性化が遅れる⁶⁷⁾。COVID-19患者から単離した白血球についての網羅的な解析からI型IFNの発現低下に加えてHLA-DRの発現が減少していることが示されている⁶⁸⁾。実際にCOVID-19患者から単離した樹状細胞は機能そのものが低下しており、患者から単離した樹状細胞を試験管内でTLRのリガンドに対する応答を調べるとI型IFN産生だけでなくTNF- α などの炎症生サイトカインの産生も低下しており、樹状細胞そのものの機能が低下している⁶⁸⁾。この他にもSARS-CoV-2による免疫への影響については多くの研究が報告されている。

重症化するウイルス感染症では「サイトカインストーム」という用語がよく用いられるが、上記のようにウイルス感染後には免疫抑制も生じている。「サイトカインストーム」は、古くは1993年に造血幹細胞を移植する際の移植片対宿主病に関連した用語として用いられたが⁶⁹⁾、スペイン風邪の原因となったH1N1のA型インフルエンザウイルスを再構築し動物に感染させたところ非常に強いサイトカイン産生が観察されたことから⁷⁰⁾、インフルエンザなどのウイルス感染症に対しても、ウイルス感染そのものではなく、感染に対する過剰な免疫応答により重症化するメカニズムを説明する言葉として用いられた⁷¹⁾。そのため、COVID-19でも、「サイトカインストーム」が生じていると多くの文献でも説明されているが^{72, 73)}、COVID-19でサイトカインストームが生じているとする説明は慎重であるべきであるとの指摘もある⁷⁴⁾。

その根拠の一つとして、実際にCOVID-19患者でのIL-6量を測定すると、非感染時よりは高いものの、その他の急性呼吸器窮迫症候群や敗血症などの患者などと比較すると10分の1以下や、場合によっては100分の1以下となっており、サイトカイン量が非常に多いとは表現し難く、COVID-19で炎症性サイトカインそのものが病態を悪化させることどの程度の寄与があるのかについては慎重に検討することが必要である^{75, 76)}。一方で、抗炎症薬のデキサメタゾンがCOVID-19の重症患者に対して有効であることから^{77, 78)}、過剰な免疫応答が重症化の大きな要因であることには間違いがない。炎症ではサイトカインそのものだけでなく、補体やその他のタンパク質も関与することから、これらがCOVID-19の重症化に寄与していることも推測され、「サイトカインストーム」という用語が、サイトカインが主要な原因であるとの説明であるため、インフルエンザとは異なりCOVID-19に「サイトカインストーム」という用語を用いることの是非は今後の詳細な解析が待たれる⁷⁴⁾。

考察

ウイルス感染そのものが自然免疫や獲得免疫を直接活性

化しサイトカイン産生を誘導するというモデルは、SARS-CoV-2が免疫を抑制するメカニズムを有することから、SARS-CoV-2感染により細胞死が誘導され、死細胞から放出される損傷関連分子パターン(Damage-Associated Molecular Patterns: DAMPs)が自然免疫を活性化し、それにより、抗原非特異的な自然免疫応答や、ウイルスではなく自己抗原に対する獲得免疫系が惹起されているのではないかと予想される。COVID-19患者でどのような自然免疫応答が生じているのかについては今後も慎重な解析が必要である。

COVID-19がパンデミックとなった当初にBCGワクチン接種率が高い国ではCOVID-19により死亡率が低いことが指摘され、これがBCGワクチンによる影響ではないかとの仮説が提唱された^{79, 80)}。その根底にある考え方の根拠としてBCGが抗原非特異的な防御を誘導することが以前に報告されていたことがある⁸⁰⁾。このBCGワクチンによる抗原非特異的な防御機構としてはオランダのNetea MGらが提唱した「Trained Immunity (自然免疫記憶)」によるものである⁸⁰⁾。(この「Trained Immunity」はNetea MGらが自然免疫記憶を説明する用語として提唱したが⁸¹⁾、日本語で「訓練免疫」と訳すと、意味がやや不明瞭になるため、ここでは「自然免疫記憶」とする)。この自然免疫記憶のメカニズムには、エピジェネティクスや代謝状態の変化が関与する⁸²⁾。単球やマクロファージなどの骨髄系細胞では、自然免疫活性化によりサイトカイン遺伝子のプロモーターやエンハンサー領域で転写活性化に関わるヒストン修飾(H3K27Ac)が生じクロマチン構造が開くことで遺伝子発現が速やかに誘導される。この転写調節に関わるヒストン修飾やクロマチン構造変化が維持されることで、2回目以降への応答性が変化すると考えられている⁸³⁾。そのことから、BCGワクチンは結核菌に対する抗原特異的な免疫記憶を誘導するが、抗原非特異的な自然免疫記憶も誘導し、それによりインフルエンザウイルスに対する抵抗性も備わる⁸⁴⁾。このような自然免疫記憶の誘導は、BCGのみならず、他の病原体成分でも報告されている⁸⁵⁾。しかし、この自然免疫記憶はいわゆるメモリーT細胞やメモリーB細胞などによる獲得免疫記憶が数十年にわたって持続することとは異なり、寿命の短い単球やマクロファージにより担われるために獲得免疫よりも持続期間が短く、5年以上続くとの報告もあるが多くは1年以内に消失する⁸¹⁾。この短さが自然免疫記憶(Innate immune memory)ではなく訓練された免疫(Trained Immunity)と表現される理由の一つでもある。そのため、例えBCGワクチンとCOVID-19の死亡率との統計的に優位な相関があったとしても、幼少期に受けたBCGワクチンが成人のCOVID-19への抵抗性獲得につながるとする自然免疫記憶の説明は難しい。

致死率の地域差については様々な理由が考えられ医療制

度や医療体制の違いを反映していることや、その他の文化的な差異や慣習の違いに起因する可能性もあるため、自然免疫記憶が果たす役割の程度は不明である。一方で、現段階でも日本を含むアジアでは欧米諸国と比較すると致死率が低く、その原因を解明することは新たな治療法開発の一つのアプローチとなる可能性もあり、その解明は重要である。また、自然免疫だけでなく獲得免疫の観点からは、ウイルスのスパイクタンパク質のS2領域が β コロナウイルス間で比較的保存されていることから、冬風邪の原因となるコロナウイルスのスパイクタンパク質のS2領域に対する抗体やCD4陽性T細胞の影響の可能性も考えられる。

コロナウイルス感染症は10年程度の間隔でエピデミックやパンデミックを繰り返しており、今後の対応のためにもコロナウイルスを含めた感染症の基礎研究と、その予防・診断・治療法の基盤となる基礎研究の拡充が急務である。

利益相反

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Wu, F. *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* (2020).
- 2) Li, Q. *et al.* Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med* (2020).
- 3) Lu, R. *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* (2020).
- 4) Hu, D. *et al.* Genomic characterization and infectivity of a novel SARS-like coronavirus in Chinese bats. *Emerg Microbes Infect* 7, 154 (2018).
- 5) Zhou, P. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* (2020).
- 6) Lam, T.T. *et al.* Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* 583, 282-285 (2020).
- 7) Liu, Y. *et al.* Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. *Nature* 582, 557-560 (2020).
- 8) Zhang, R., Li, Y., Zhang, A.L., Wang, Y. & Molina, M.J. Identifying airborne transmission as the dominant route for the spread of COVID-19. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117, 14857-14863 (2020).
- 9) Di Cristanziano, V. *et al.* Detection of SARS-CoV-2 viremia before onset of COVID-19 symptoms in an allo-transplanted patient with acute leukemia. *Bone Marrow Transplant* 56, 716-719 (2021).
- 10) Cao, W. & Li, T. COVID-19: towards understanding of pathogenesis. *Cell Res* 30, 367-369 (2020).
- 11) Lamers, M.M. *et al.* SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science* 369, 50-54 (2020).
- 12) Vivanti, A.J. *et al.* Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nature communications* 11, 3572 (2020).
- 13) Hoffmann, M. *et al.* SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 181, 271-280 e278 (2020).
- 14) Matsuyama, S. *et al.* Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117, 7001-7003 (2020).
- 15) Glowacka, I. *et al.* Evidence that TMPRSS2 activates the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for membrane fusion and reduces viral control by the humoral immune response. *Journal of virology* 85, 4122-4134 (2011).
- 16) Gao, C. *et al.* SARS-CoV-2 Spike Protein Interacts with Multiple Innate Immune Receptors. *bioRxiv* (2020).
- 17) Sungnak, W. *et al.* SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature medicine* 26, 681-687 (2020).
- 18) Hikmet, F. *et al.* The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol* 16, e9610 (2020).
- 19) Gu, J. *et al.* Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *The Journal of experimental medicine* 202, 415-424 (2005).
- 20) Iwasaki, A. & Pillai, P.S. Innate immunity to influenza virus infection. *Nature reviews. Immunology* 14, 315-328 (2014).
- 21) Blanco-Melo, D. *et al.* Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell* 181, 1036-1045 e1039 (2020).
- 22) Hoagland, D.A. *et al.* Leveraging the antiviral type I interferon system as a first line of defense against SARS-CoV-2 pathogenicity. *Immunity* 54, 557-570 e555 (2021).
- 23) Rosa, B.A. *et al.* IFN signaling and neutrophil degranulation transcriptional signatures are induced during SARS-CoV-2 infection. *Commun Biol* 4, 290 (2021).
- 24) Ryan, K.A. *et al.* Dose-dependent response to infection with SARS-CoV-2 in the ferret model and evidence of protective immunity. *Nature communications* 12, 81 (2021).
- 25) Israelow, B. *et al.* Mouse model of SARS-CoV-2 reveals inflammatory role of type I interferon signaling. *The Journal of experimental medicine* 217 (2020).
- 26) Galani, I.E. *et al.* Untuned antiviral immunity in COVID-19 revealed by temporal type I/III interferon patterns and flu comparison. *Nature immunology* 22, 32-40 (2021).
- 27) Monk, P.D. *et al.* Safety and efficacy of inhaled nebulised interferon beta-1a (SNG001) for treatment of SARS-CoV-2 infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Respir Med* 9, 196-206 (2021).
- 28) Carvalho, T., Krammer, F. & Iwasaki, A. The first 12 months of COVID-19: a timeline of immunological insights. *Nature reviews. Immunology* 21, 245-256

- (2021).
- 29) Zhang, Q. *et al.* Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science* **370** (2020).
 - 30) Matsumoto, M. *et al.* Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *Journal of immunology* **171**, 3154-3162 (2003).
 - 31) Johnsen, I.B. *et al.* Toll-like receptor 3 associates with c-Src tyrosine kinase on endosomes to initiate antiviral signaling. *The EMBO journal* **25**, 3335-3346 (2006).
 - 32) Caetano, B.C. *et al.* Requirement of UNC93B1 reveals a critical role for TLR7 in host resistance to primary infection with *Trypanosoma cruzi*. *Journal of immunology* **187**, 1903-1911 (2011).
 - 33) Alexopoulou, L., Holt, A.C., Medzhitov, R. & Flavell, R.A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* **413**, 732-738 (2001).
 - 34) Tatematsu, M., Nishikawa, F., Seya, T. & Matsumoto, M. Toll-like receptor 3 recognizes incomplete stem structures in single-stranded viral RNA. *Nature communications* **4**, 1833 (2013).
 - 35) Oshiumi, H., Matsumoto, M., Funami, K., Akazawa, T. & Seya, T. TICAM-1, an adaptor molecule that participates in Toll-like receptor 3-mediated interferon-beta induction. *Nature immunology* **4**, 161-167 (2003).
 - 36) Yamamoto, M. *et al.* Cutting edge: a novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN-beta promoter in the Toll-like receptor signaling. *Journal of immunology* **169**, 6668-6672 (2002).
 - 37) Fitzgerald, K.A. *et al.* IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. *Nature immunology* **4**, 491-496 (2003).
 - 38) Yoneyama, M., Onomoto, K., Jogi, M., Akaboshi, T. & Fujita, T. Viral RNA detection by RIG-I-like receptors. *Curr Opin Immunol* **32**, 48-53 (2015).
 - 39) Onomoto, K., Onoguchi, K. & Yoneyama, M. Regulation of RIG-I-like receptor-mediated signaling: interaction between host and viral factors. *Cellular & molecular immunology* **18**, 539-555 (2021).
 - 40) Kato, H. *et al.* Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *The Journal of experimental medicine* **205**, 1601-1610 (2008).
 - 41) Takashima, K., Oshiumi, H., Takaki, H., Matsumoto, M. & Seya, T. RIG-I-Mediated Phosphorylation of MDA5 Interferes with Its Assembly and Attenuates the Innate Immune Response. *Cell reports* **11**, 192-200 (2015).
 - 42) Wies, E. *et al.* Dephosphorylation of the RNA sensors RIG-I and MDA5 by the phosphatase PP1 is essential for innate immune signaling. *Immunity* **38**, 437-449 (2013).
 - 43) Liu, G. *et al.* ISG15-dependent activation of the sensor MDA5 is antagonized by the SARS-CoV-2 papain-like protease to evade host innate immunity. *Nat Microbiol* (2021).
 - 44) Seth, R.B., Sun, L., Ea, C.K. & Chen, Z.J. Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kappaB and IRF 3. *Cell* **122**, 669-682 (2005).
 - 45) Kawai, T. *et al.* IPS-1, an adaptor triggering RIG-I and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nature immunology* **6**, 981-988 (2005).
 - 46) Xu, L.G. *et al.* VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN-beta signaling. *Mol Cell* **19**, 727-740 (2005).
 - 47) Meylan, E. *et al.* Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature* **437**, 1167-1172 (2005).
 - 48) Hou, F. *et al.* MAVS forms functional prion-like aggregates to activate and propagate antiviral innate immune response. *Cell* **146**, 448-461 (2011).
 - 49) Zhao, T. *et al.* The NEMO adaptor bridges the nuclear factor-kappaB and interferon regulatory factor signaling pathways. *Nature immunology* **8**, 592-600 (2007).
 - 50) Oganessian, G. *et al.* Critical role of TRAF3 in the Toll-like receptor-dependent and -independent antiviral response. *Nature* **439**, 208-211 (2006).
 - 51) Hemmi, H. *et al.* The roles of two IkappaB kinase-related kinases in lipopolysaccharide and double stranded RNA signaling and viral infection. *The Journal of experimental medicine* **199**, 1641-1650 (2004).
 - 52) Yin, X. *et al.* MDA5 Governs the Innate Immune Response to SARS-CoV-2 in Lung Epithelial Cells. *Cell reports* **34**, 108628 (2021).
 - 53) Wu, J. *et al.* SARS-CoV-2 ORF9b inhibits RIG-I-MAVS antiviral signaling by interrupting K63-linked ubiquitination of NEMO. *Cell reports* **34**, 108761 (2021).
 - 54) Rebendenne, A. *et al.* SARS-CoV-2 triggers an MDA5-dependent interferon response which is unable to control replication in lung epithelial cells. *Journal of virology* (2021).
 - 55) Chan, Y.K. & Gack, M.U. Viral evasion of intracellular DNA and RNA sensing. *Nature reviews. Microbiology* **14**, 360-373 (2016).
 - 56) Oshiumi, H. *et al.* Hepatitis C virus core protein abrogates the DDX3 function that enhances IPS-1-mediated IFN-beta induction. *PLoS One* **5**, e14258 (2010).
 - 57) Soulat, D. *et al.* The DEAD-box helicase DDX3X is a critical component of the TANK-binding kinase 1-dependent innate immune response. *The EMBO journal* **27**, 2135-2146 (2008).
 - 58) Szappanos, D. *et al.* The RNA helicase DDX3X is an essential mediator of innate antimicrobial immunity. *PLoS pathogens* **14**, e1007397 (2018).
 - 59) Gack, M.U. *et al.* Influenza A virus NS1 targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by the host viral RNA sensor RIG-I. *Cell host & microbe* **5**, 439-449 (2009).
 - 60) Rajsbaum, R. *et al.* Species-specific inhibition of RIG-I ubiquitination and IFN induction by the influenza A virus NS1 protein. *PLoS pathogens* **8**, e1003059 (2012).

- 61) Shin, D. *et al.* Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity. *Nature* **587**, 657-662 (2020).
- 62) Kimura, I. *et al.* Sarbecovirus ORF6 proteins hamper induction of interferon signaling. *Cell reports* **34**, 108916 (2021).
- 63) Konno, Y. *et al.* SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant. *Cell reports* **32**, 108185 (2020).
- 64) Kouwaki, T., Nishimura, T., Wang, G., Nakagawa, R. & Oshiumi, H. Ubiquitin ligase RIPLET mediates polyubiquitination of RIG-I and LGP2 and regulates the innate immune responses to SARS-CoV-2 infection. *bioRxiv* (2021).
- 65) Lei, X. *et al.* Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2. *Nature communications* **11**, 3810 (2020).
- 66) Xia, H. *et al.* Evasion of Type I Interferon by SARS-CoV-2. *Cell reports* **33**, 108234 (2020).
- 67) Zhou, R. *et al.* Acute SARS-CoV-2 Infection Impairs Dendritic Cell and T Cell Responses. *Immunity* **53**, 864-877 e865 (2020).
- 68) Arunachalam, P.S. *et al.* Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science* **369**, 1210-1220 (2020).
- 69) Ferrara, J.L., Abhyankar, S. & Gilliland, D.G. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplant Proc* **25**, 1216-1217 (1993).
- 70) Kash, J.C. *et al.* Genomic analysis of increased host immune and cell death responses induced by 1918 influenza virus. *Nature* **443**, 578-581 (2006).
- 71) Salomon, R., Hoffmann, E. & Webster, R.G. Inhibition of the cytokine response does not protect against lethal H5N1 influenza infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**, 12479-12481 (2007).
- 72) Mulchandani, R., Lyngdoh, T. & Kakkar, A.K. Deciphering the COVID-19 cytokine storm: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Invest* **51**, e13429 (2021).
- 73) de la Rica, R., Borges, M. & Gonzalez-Freire, M. COVID-19: In the Eye of the Cytokine Storm. *Frontiers in immunology* **11**, 558898 (2020).
- 74) Schultze, J.L. & Aschenbrenner, A.C. COVID-19 and the human innate immune system. *Cell* **184**, 1671-1692 (2021).
- 75) Sinha, P., Matthay, M.A. & Calfee, C.S. Is a "Cytokine Storm" Relevant to COVID-19? *JAMA Intern Med* **180**, 1152-1154 (2020).
- 76) Monneret, G. *et al.* COVID-19: What type of cytokine storm are we dealing with? *J Med Virol* **93**, 197-198 (2021).
- 77) Group, R.C. *et al.* Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med* **384**, 693-704 (2021).
- 78) Group, W.H.O.R.E.A.f.C.-T.W. *et al.* Association Between Administration of Systemic Corticosteroids and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19: A Meta-analysis. *JAMA* **324**, 1330-1341 (2020).
- 79) Gursel, M. & Gursel, I. Is global BCG vaccination-induced trained immunity relevant to the progression of SARS-CoV-2 pandemic? *Allergy* **75**, 1815-1819 (2020).
- 80) O'Neill, L.A.J. & Netea, M.G. BCG-induced trained immunity: can it offer protection against COVID-19? *Nature reviews. Immunology* **20**, 335-337 (2020).
- 81) Netea, M.G. *et al.* Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nature reviews. Immunology* **20**, 375-388 (2020).
- 82) Bekkering, S., Dominguez-Andres, J., Joosten, L.A.B., Riksen, N.P. & Netea, M.G. Trained Immunity: Reprogramming Innate Immunity in Health and Disease. *Annual review of immunology* **39**, 667-693 (2021).
- 83) Netea, M.G. *et al.* Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science* **352**, aaf1098 (2016).
- 84) Moorlag, S., Arts, R.J.W., van Crevel, R. & Netea, M.G. Non-specific effects of BCG vaccine on viral infections. *Clin Microbiol Infect* **25**, 1473-1478 (2019).
- 85) Tan, A.C. *et al.* Intranasal administration of the TLR2 agonist Pam2Cys provides rapid protection against influenza in mice. *Molecular pharmaceutics* **9**, 2710-2718 (2012).

The innate immune response to SARS-CoV-2

Ken TAKASHIMA and Hiroyuki OSHIUMI

Department of Immunology, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University

The innate immune system is the first line of defense against viral infection. Recent studies revealed the roles of Toll-like receptors and RIG-I-like receptors in the innate immune responses to SARS-CoV-2, including type I interferon expression. However, several viral proteins of SARS-CoV-2 have the abilities to attenuate host innate immune responses. Viral PL_{pro} protease as well as ORF3b and 6 are reported to attenuate type I interferon expression. These mechanisms are expected to underlie the attenuated type I interferon expression in COVID-19 patients.