

血清亜鉛値と COVID-19 重症化との 連関分析

COVID-19 の治療過程において重症化する患者の 判別予測を可能とする因子の解析

安井裕之●

●京都薬科大学薬学部 代謝分析学分野

要約

COVID-19の入院患者の一部は重症化し、ICUに移行する重症例での死亡率は非常に高い。今後の感染による入院患者を考慮し、経過中に重症化する患者を入院時に判別予測するため、予測的中率が高い入院時の基礎的および臨床的因子を探索調査した。重症化のリスク因子として報告された項目に加え、易感染性や炎症状態との関係が深い低亜鉛血症にも注目した。

2020年3月24日より5月24日まで、堺市立総合医療センターへ入院したCOVID-19患者の62名を調査対象とし、その内で血清亜鉛を測定した29名をサブグループとした。入院後に気管挿管を必要とした症例を重症化症例とし、21の臨床的因子について統計学的解析を実施した。

重症化に関わる因子は、65歳以上、糖尿病、心血管疾患、高血圧、高LDH、高フェリチン、低亜鉛血症であり、連続変数では年齢、HbA1c値、LDH値、フェリチン値、および血清亜鉛値であった。交絡性を確認し、実年齢、HbA1c値、LDH値、血清亜鉛値に集約できた。ロジスティック回帰分析から、62名の全体群では実年齢とLDH値の2因子で正判別率85.2%、AUC0.849のROC曲線で重症化を予測できた。一方、血清亜鉛を測定した29名のサブグループでは血清亜鉛値とLDH値の2因子で正判別率89.7%、AUC0.942のROC曲線で重症化を予測でき、サブグループでの予測結果は、患者全体群の結果を顕著に上回った。

今回のCOVID-19入院患者の血清亜鉛値からは、重症化患者の86%が低亜鉛血症を示し、重症化のリスク因子となることが示唆された。今後の入院患者を考慮すると、今回の予測結果を適切に運用することで、安全な医療体制の整備と維持に貢献することが可能であると結論した。

KEY WORDS

COVID-19の重症化、血清亜鉛値、予測因子解析、ロジスティック回帰分析

背景

COVID-19の入院患者は、一定の割合で重症化することが報告されており¹⁾、ICUに入院するような重症例での死亡率は32-72%と非常に高いことが明らかになっている^{2,3)}。今後の感染による入院患者の経過観察を考慮すると、COVID-19の患者を治療する医療機関の現場ニーズとして、入院後に軽症から重症化（気管挿管やECMO使用に

至る）へと移行する患者を、入院時に有する複数の基礎因子からある程度まで判別することが予測できれば、ICUの確保や事後の判断が事前に行うため影響が大きい。これが実現できれば、予め重症化しそうな患者を選別し、早めに見極めておくことで早期からの治療も専念できる。そこで、入院直後の患者が治療経過中に、軽症から中程度までで治まるのか、重症化するのかを判別予測するための、予測的中率が高い臨床的因子を調査することは重要と考えられた。

堺市立総合医療センターは、感染症病床を有する第一種感染症（大阪府内に3施設）および第二種感染症（大阪府内に5施設）の指定医療機関の1つであり、りんくう総合医療センターと共に関西国際空港に隣接した指定病院となっている。堺市立総合医療センターでは、COVID-19患者の入院時診療に際し、重症化に関するこれまでの主に海外からの報告^{4~6)}をもとに、「年齢65歳以上、肥満（BMI \geq 25）、高血圧の既往、呼吸器疾患の既往、糖尿病の既往、心血管障害の既往、LDH $>$ 445 IU/L⁵⁾」を重症化のリスク因子として治療に当たっている。加えて、フェリチン、KL-6、CRP、d-dimerも当初から観察項目としている。今回、感染の初期症状として発熱・倦怠感・咳などのほかに嗅覚異常や味覚異常を感じる症例が一定数以上で観察されたため、味覚異常の発症と深く関与することが報告されている低亜鉛血症が起こっている可能性が想定された⁷⁾。低亜鉛血症における易感染性や炎症状態の惹起も報告されているため⁷⁾、COVID-19患者の血清中亜鉛濃度（血清亜鉛）を途中から測定する追加項目とした。

亜鉛は、人間の身体にとって必要不可欠な「必須ミネラル」の1つである。さまざまな原因により体内の亜鉛が不足している状態を低亜鉛血症と呼ぶ。低亜鉛血症の症状には、味覚障害、食欲不振、皮膚炎、脱毛、貧血、口内炎等がある。日本臨床栄養学会では血清亜鉛の正常レベルの基準値を80~130 μ g/dLとし、60~80 μ g/dL未満で潜在性亜鉛欠乏症、60 μ g/dL未満で亜鉛欠乏症と評価することを推奨している⁷⁾。一方、海外での指標の基準となることが多いハリソン内科学では、70 μ g/dL（12 μ mol/L）未満を亜鉛欠乏としている⁸⁾。今回の検討では、海外情報との直接比較を可能とするため、ハリソン内科学の指標である70 μ g/dL未満を亜鉛欠乏状態と設定した。

堺市立総合医療センターでのCOVID-19患者の血清亜鉛を測定した結果からは、ほとんどの重症化患者が潜在性亜鉛欠乏症、または亜鉛欠乏症を示し、加えて低亜鉛血症の遷延がCOVID-19重症化のリスク因子となることが示唆された。これを受けて、患者の血清亜鉛値と重症化との関係

性について詳細に調べることにした。

本観察研究の目的は、COVID-19患者における血清亜鉛値と重症化との関係性を詳細に解析し、低亜鉛血症がCOVID-19重症化の予測因子となり得るのかどうかを評価することであり、本調査結果については既に国際感染症学会誌に受理され、公表済みである⁹⁾。

方法

2020年3月24日より5月24日まで、堺市立総合医療センターへ入院したCOVID-19患者の62名を調査対象とし、その内で血清中亜鉛濃度（血清亜鉛）の定量分析を実施できた患者29名をサブグループとした。血清亜鉛の測定は入院初日の採血時、およびその2~3日後の採血時の複数回で実施した。本観察研究は堺市立総合医療センターの倫理委員会による承認を得て実施され（IRB整理番号166）、著者はデータの統計解析、解釈ならびに考察に関与した。

血清亜鉛を測定する際の注意としては、日内変動や食事の影響を受けることがある。加えて、ストレスやホルモン状態などの影響も受ける。したがって、入院後の早朝空腹時に複数日で測定することとし、採血後の遠心分離は、採血後に可能な限り速やかに行った。

血清亜鉛の定量方法については、血清中亜鉛濃度測定を目的として開発された体外診断用医薬品の検査キットであるアキュラスオートZn（（株）シノテスト、東京）を用いて、堺市立総合医療センター検査科の自動分析装置（AU5800、（株）ベックマンコールター社）において院内で行った。また、患者血清中のLDH値、フェリチン値、KL-6について、同様に自動分析装置（AU5800、（株）ベックマンコールター社）を用いて測定した。加えて、白血球数、好中球数、リンパ球数は血球数カウント装置（XN-3000、（株）Sysmex社）を、d-dimerは血液凝固能測定装置（CS-5100、（株）Sysmex社）をそれぞれ用いて測定した。

海外での指標であるハリソン内科学に記載のあ

る $Zn < 70 \mu\text{g/dL}$ ($10.7 \mu\text{mol/L}$) を低亜鉛血症の判定基準とし、初回に続き、2回目の測定以降においても継続して $Zn < 70 \mu\text{g/dL}$ を示す患者を低亜鉛血症群とした。また、電子カルテデータから、患者の性別、年齢、肥満状態 ($BMI \geq 25$)、既往疾患 (糖尿病、慢性腎障害、肝疾患、脂質異常症、心血管疾患、高血圧、呼吸器系疾患、味覚異常)、入院時の $HbA1c$ 、血清 LDH の値、血清フェリチンの値を確認した。これらの各項目および検査データに血清亜鉛値を加えた21の臨床的因子の中から今回は15因子に絞って、COVID-19の重症化と関連する因子が統計学的な有意性を持って存在するかどうかを評価した。

今回の入院後の経過観察にしたがって、患者全体 (62名) を軽症/中等度群および重症化群の2群に分類した。分類の基準はCOVID-19治療指標のためWHOが提唱している nine-score ordinal scale に準拠した。すなわち、(0) No clinical or virological evidence of infection; (1) No limitation of activities; (2) Limitation of activities; (3) Hospitalized, no oxygen therapy; (4) Hospitalized, oxygen by mask or nasal prongs; (5) Hospitalized, non-invasive ventilation or high-flow oxygen; (6) Hospitalized, intubation and mechanical ventilation; (7) Hospitalized, ventilation + additional organ support-pressors, RRT, ECMO; (8) Death の9基準にもとづいて、(0) ~ (5) の患者を軽症/中等度群、(6) ~ (8) の患者を重症化群とした。また、今回の入院患者で死亡に至った患者はいなかった。2群間の統計的解析に関して、カテゴリーデータの項目についてはカイ二乗検定を、数値データの項目については Student-t 検定を実施し、 $P < 0.05$ で有意と判定した。また、血清亜鉛を測定した29名のサブグループ患者についても軽症/中等度群および重症化群の2群に分け、同様の統計解析を実施した。

次に、2群間で有意性が認められた各因子については、互いに交絡因子であるかどうかを確認するため、カイ二乗値による独立性検定および単変量解析による相関性評価を実施した。交絡因子では

なく独立性が認められた臨床的因子についてはそれらを共変数として、COVID-19の重症化にどの程度まで影響し、かつ重症化を予測できる因子になり得るかを定量的に判断するため、それらを説明変数としたロジスティック回帰分析による多変量解析を実施した。解析結果について、C統計量はロジスティック回帰によるROC曲線の曲線下面積 (AUC) で、寄与率は相関係数の2乗で、同時に求まる誤判別率を併せて評価し、説明変数である共変量のP値が0.2以下となるような変数選択を採用した。計算結果の報告として、多変量解析に用いた共変量 (説明変数) の回帰係数、その標準偏差、Wald χ^2 値、P値、オッズ比、オッズ比の95%信頼区間とした。データの統計解析は全て、Excel 統計 (BellCurve for Excel, version 3.20, 株社会情報サービス) を用いて行った。

結果

表1には、62名の入院患者全体を軽症/中等度群および重症化群の2群に分けた、臨床項目および検査データの統計解析の結果を掲載した。また、表2には、血清亜鉛の測定を実施できた29名の入院患者のサブグループを同様に2群に分けて、血清亜鉛値を加えた15の臨床的因子の統計解析の結果を掲載した。

表1から、入院患者全体の2群間で統計的に有意と判定され、重症化に関わるカテゴリー因子としては、年齢65歳以上、糖尿病、 $HbA1c > 6.0\%$ 、肝疾患、心血管疾患、高血圧、 $LDH > 445 \text{ IU/L}$ 、および高フェリチン (男性: 300 ng/mL 、女性: 200 ng/mL をカットオフ値) の8項目であった。加えて、有意と判定された、連続変数で表される数値因子としては、年齢、 $HbA1c$ 値、LDH 値、およびフェリチン値であった。これらの結果は、既に中国や欧米で報告されている臨床的因子と同様の結果であった^{4-6,10)}。一方、表2からは、統計的に有意と判定され、重症化に関わるカテゴリー因子としては、 $HbA1c > 6.0\%$ 、心血管疾患、 $LDH > 445 \text{ IU/L}$ 、および血清亜鉛 $< 70 \mu\text{g/dL}$ の4項目であり、数値因

表 1 COVID-19 全患者の性別, 年齢, 臨床所見, および臨床検査値

基礎因子および既往疾患	総患者数:62人	軽/中等症:49人	重症:13人	χ^2 値	P 値
男性	34	26	8	0.30	0.585
65歳以上	17	10	7	5.77	0.016 *
BMI 25以上	25	21	4	0.62	0.430
糖尿病	13	7	6	6.30	0.012 *
HbA1c 6.0%以上	28/61	17	11	9.97	0.002 **
慢性腎疾患	6	4	2	0.61	0.434
肝疾患	3	1	2	3.97	0.046 *
高脂血症	7	4	3	2.28	0.131
心血管疾患	2	0	2	7.79	0.005 **
高血圧	20	12	8	6.45	0.011 *
呼吸器疾患	8	8	0	2.44	0.119
味覚障害	12/32	10	2	1.90	0.168
LDH 445 IU/L以上	11/61	5	6	8.84	0.003 **
フェリチン 男性 300 ng/mL以上 女性 200 ng/mL以上	30/51	19	11	6.99	0.008 **

統計的有意性: *, P < 0.05, **, P < 0.01.

表 1 の続き

臨床検査値	総患者数 (軽/中等症者数, 重症者数)	軽/中等症	重症	t 統計量	P 値
実年齢 (歳)	62 (49, 13)	49.7 ± 16.1	63.2 ± 14.1	2.77	0.008 **
BMI (kg/m ²)	62 (49, 13)	24.6 ± 4.5	26.6 ± 6.9	1.24	0.218
HbA1c (%)	61 (48, 13)	6.0 ± 1.0	6.7 ± 1.1	2.20	0.032 *
LDH (IU/L)	61 (48, 13)	250 ± 111	442 ± 191	4.67	0.00002 **
フェリチン (ng/mL)	51 (39, 12)	386 ± 393	1117 ± 654	4.77	0.00002 **

臨床検査値は平均値±標準偏差で表している。 統計的有意性: *, P < 0.05, **, P < 0.01.

子としては, LDH 値, フェリチン値および血清亜鉛値であった. 血清亜鉛を測定したサブグループでは, 観察対象となった患者数が全体と比べて少ないため, 重症化に関連する因子に違いはなかったが因子の数は減少した.

サブグループにおける血清亜鉛値については図 1 に示した. 亜鉛欠乏状態を示す低亜鉛レベル (70µg/dL) のカットオフ値を下回る患者は, 軽症/中等度群では 22 名中の 3 名 (13.6%), 重症化群では 7 名中の 6 名 (85.7%) であり, 明らかに重症化患者群での低亜鉛状態が顕著な結果となった. すなわち, 血清亜鉛値のみを用いて COVID-19 の重症化リスクを評価してみても, 表 3 に結果を示す通り, 非常に高い中率で重症化する患者を

予測判別できることが分かった. 表 3 の判定結果は, 2021 年 2 月 3 日に中医協総会が COVID-19 重症化リスクを評価する検査 (COVID-19 の重症化マーカー) として保険適用を承認した「血清中のインターフェロン λ 3 (IFN- λ 3) の基準値以上を陽性とする」判定結果 (感度=88.9%, 特異度=84.6%, 全体的中率=86.4%) と比べても, ほぼ遜色がない数値となっている¹¹⁾.

以上の結果を踏まえ, 次のステップとして, 2 群間で有意な差が認められた諸因子による多変量解析にもとづいて, COVID-19 入院患者の重症化を予測するための解析を行うこととした. そこで, まず, 共変数として用いられる, 交絡因子ではなく独立性が認められる臨床的因子について絞り込む

表2 COVID-19 サブグループ患者の性別, 年齢, 臨床所見, および臨床検査値

基礎因子および既往疾患	総患者数:29人	軽/中等症:22人	重症:7人	χ^2 値	P 値
男性	16	12	4	0.01	0.904
65歳以上	11	7	4	1.45	0.229
BMI 25以上	12	10	2	0.62	0.430
糖尿病	6	3	3	2.76	0.097
HbA1c 6.0%以上	15	9	6	4.27	0.039 **
慢性腎疾患	3	2	1	0.15	0.694
肝疾患	1	1	0	0.33	0.566
高脂血症	4	3	1	0.00	0.965
心血管疾患	2	0	2	6.75	0.009 **
高血圧	12	7	5	3.43	0.064
呼吸器疾患	2	2	0	0.68	0.408
味覚障害	12	10	2	0.62	0.430
LDH 445 IU/L以上	7	2	5	11.27	0.0008 **
フェリチン 男性 300 ng/mL以上 女性 200 ng/mL以上	21	15	6	0.82	0.366
血清亜鉛値 70 μ g/dL未滿	9	3	6	12.89	0.0003 **

統計的有意性: *, P < 0.05, **, P < 0.01.

表2の続き

臨床検査値	総患者数 (軽/中等症者数, 重症者数)	軽/中等症	重症	t 統計量	P 値
実年齢(歳)	29 (22, 7)	54.3 \pm 17.5	62.7 \pm 15.3	1.14	0.264
BMI (kg/m ²)	29 (22, 7)	25.0 \pm 3.8	26.0 \pm 5.4	0.55	0.587
HbA1c (%)	29 (22, 7)	6.1 \pm 1.0	6.7 \pm 1.3	1.41	0.170
LDH (IU/L)	29 (22, 7)	283 \pm 99	495 \pm 165	4.19	0.0003 **
フェリチン (ng/mL)	29 (22, 7)	458 \pm 399	956 \pm 689	2.40	0.024 *
血清亜鉛 (μ g/dL)	29 (22, 7)	87.7 \pm 19.1	62.4 \pm 19.2	3.04	0.005 **

臨床検査値は平均値 \pm 標準偏差で表している。統計的有意性: *, P < 0.05, **, P < 0.01.

ため, お互いの交絡性の確認を, カイ二乗値による独立性検定や単変量解析による相関分析で評価した。その結果, 入院患者全体では重症化に関連が深い因子として「65歳以上(もしくは実年齢), 糖尿病・HbA1c > 6.0% (もしくはHbA1c値), LDH > 445 IU/L (もしくはLDH値)」の3つに集約できることが示された^{12,13)}。また, 血清亜鉛を測定したサブグループでは重症化に関連が深い因子として「HbA1c > 6.0%, 低亜鉛血症(もしくは血清亜鉛値), LDH > 445 IU/L (もしくはLDH値)」の3つに集約できることが示された。

そこで, 入院患者全体については, 「実年齢, HbA1c値, LDH値」の3つの連続変数データを多

変量解析の説明変数, COVID-19重症化を目的変数としてロジスティック回帰分析を行った。最適モデルの選択には, 統計的な判断にもとづいて複数のモデルから最適な結果を選択する際に汎用されるAkaike's Information Criteria (AIC)を適用した。AICが最小値を示し, かつ定数項を含めた共変量のP値が0.2以下となる組み合わせを採用した。その時の, ロジスティック回帰分析の計算結果を表4に, ロジスティック回帰によるROC曲線を図2に示した。採用されたモデルでは, 説明変数としてのHbA1c値は統計的に却下され, 実年齢(P=0.088)とLDH値(P=0.003)の2因子のみで正判別率85.2%, AUC 0.849となるROC

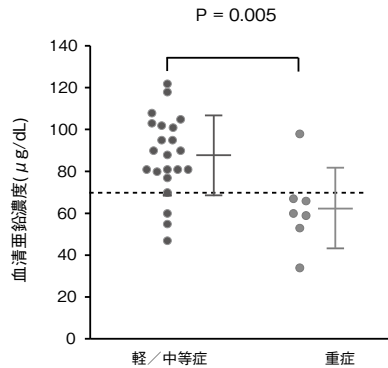


図 1 血清亜鉛値を測定した COVID-19 患者 29 人の軽/中等症と重症における血清亜鉛濃度の比較

破線はカットオフ値である 70 $\mu\text{g}/\text{dL}$ を表す。
 統計的有意性は Student-t テストにより評価した。
 真中のラインは平均値を, 上下のラインは平均値 \pm 標準偏差を表す。

表 3 血清亜鉛値を用いた COVID-19 重症化リスクの評価

検査結果	重症度		合計
	重症	軽/中等症	
Zn < 70 $\mu\text{g}/\text{dL}$	6	3	9
Zn \geq 70 $\mu\text{g}/\text{dL}$	1	19	20
合計	7	22	29

感度 : 6人/7人 = 85.7%
 特異度: 19人/22人 = 86.4%

陽性的中率: 6人/9人 = 66.7%
 陰性的中率: 19人/20人 = 95.0%
 全体的中率: 25人/29人 = 86.2%

曲線の感度と偽特異度で重症化を予測できることが分かった。本研究における患者全体の予測結果は、中国から報告された血液検体による COVID-19 患者の重症化予測および死亡率予測の結果と非常に類似していた^{12,13)}。

一方、血清亜鉛を測定したサブグループ患者については、「血清亜鉛値, HbA1c 値, LDH 値」の 3 つの連続変数データを説明変数, COVID-19 重症化を目的変数としてロジスティック回帰分析を行った。最適なモデルの選択基準は入院患者全体の分析と同様であり, 採用したモデル (AIC から定数項は 0 と判定された) のロジスティック回帰分析の計算結果を表 5 に, ロジスティック回帰分析によ

る ROC 曲線を図 3 に示した。採用されたモデルでは, 同様に HbA1c 値は説明変数として却下され, 血清亜鉛値 (P=0.020) と LDH 値 (P=0.026) の 2 因子のみで正判別率 89.7%, AUC 0.942 となる ROC 曲線の感度と偽特異度で重症化を予測できることが判明し, 血清亜鉛値を用いるサブグループでの予測結果は, 患者全体の予測結果を顕著に上回ることが示された。加えて, 表 4 および表 5 のオッズ比並びにその 95% 信頼区間から明らかな様に, サブグループにおける血清亜鉛値のオッズ比は最も顕著であり, その 95% 信頼区間は 1.0 を渡っていないため, 最も信頼性の高い説明変数であることが分かった。

表 4 全患者群に対して「LDH 値と実年齢」により重症化を予測した
多変量ロジスティック解析の各パラメータ推定値

説明変数	回帰係数	標準誤差	Wald χ^2	P値	オッズ比(95%信頼区間)
LDH 値	0.008	0.003	8.529	0.003	1.008 (1.003-1.013)
実年齢	0.047	0.028	2.909	0.088	1.049 (0.993-1.107)
定数項	-6.617	2.006	10.877	<0.001	0.001 (0.000-0.068)

AUC = 0.849, 相関係数 = 0.551, 正判別率 = 85.2%

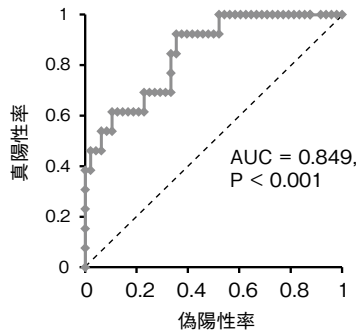


図 2 全患者群に対して「LDH 値と実年齢」により重症化を予測した ROC 曲線

表 5 サブグループ患者群に対して「血清亜鉛濃度と LDH 値」により重症化を予測した
多変量ロジスティック解析の各パラメータ推定値

説明変数	回帰係数	標準誤差	Wald χ^2	P値	オッズ比 (95%信頼区間)
血清亜鉛濃度	-0.106	0.046	5.421	0.020	0.899 (0.823-0.983)
LDH 値	0.016	0.007	4.950	0.026	1.016 (1.002-1.031)
定数項	0.000				

AUC = 0.942, 相関係数 = 0.782, 正判別率 = 89.7%

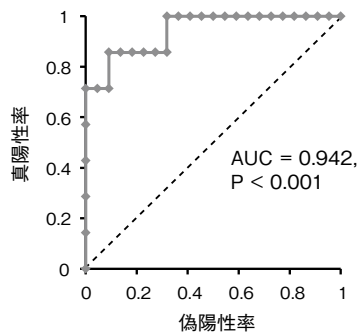


図 3 サブグループ患者群に対して「血清亜鉛濃度と LDH 値」により
重症化を予測した ROC 曲線

考察

COVID-19患者の重症化や死亡例に関する、中国からの研究報告では、重症化予測のオンライン計算ツールを確立する目的で、中国国内の575病院が参加して、患者が重症化(ICU入室, 侵襲的人工呼吸器装着, 死亡)するリスクを予測するスコアが開発されている¹²⁾。開発用コホートと確認用コホートに患者が振り分けられ, それぞれの患者数は1,590名および710名と大規模となっている。実際の計算には, 72の候補因子から以下の10項目が独立した予測因子(カッコ内の数値はオッズ比)として最終的に採用された。すなわち, 入院時の胸部X線異常(3.39), 年齢(1.03), 咯血(4.53), 呼吸困難(1.88), 意識障害(4.71), 併存症の数(1.60), がんの既往(4.00), 好中球/リンパ球比(1.06), LDH(1.002), 直接ビリルビン(1.15)である。この中で血液検体の検査値としては好中球/リンパ球比, LDH, 直接ビリルビンの3因子のみであった¹²⁾。

中国の別のグループによる血液検体からの死亡率予測に関する報告では, 武漢における患者485名の血液検体を用いて, 死亡を予測するバイオマーカーの同定を目的としたAIによる機械学習が試みられた。その結果(カッコ内の数値はカットオフ値), LDH高値(365IU/L), 高感度CRP高値(41.2mg/L), リンパ球減少(14.7%)の3カテゴリー項目を用いれば, 患者の死亡について誤判別率10%未満の確からしさで, 患者の死亡を10日以上前に予測することが可能になったと報告している(開発コホートと確認コホートでAUCは各々0.978および0.951)。しかし, 実際にはLDH高値単独で, 迅速な医学的介入を要する患者の多くを見出すことができると報告されている(AUCは0.923~0.942)¹³⁾。

上記の報告を纏めると, 中国での大規模患者数からのCOVID-19重症化予測と死亡率予測では, 血液検体の中ではLDH値と白血球数(好中球やリンパ球の比率を含めて)が最重要であり, 本研究の結果を支持するものであった。白血球は, 循

環血液中において亜鉛が最大濃度(380-450 μ g/mL)で分布・蓄積する部位であり⁷⁾, 亜鉛欠乏状態や低亜鉛血症の患者では, 感染後に白血球数の減少が起こりやすい, あるいは感染前から既に白血球数の減少が起こっていたことが推測されるからである。

今回の研究では, COVID-19患者の味覚異常と低亜鉛血症との関連性は見出せなかった。一方で, 亜鉛イオン(Zn^{2+})には, イオノフォアを併用したin vitro試験の結果ではあるが, 元来よりSARSコロナウイルスに対する抗ウイルス効果が報告されており¹⁴⁾, 作用機構についても, 亜鉛イオンがSARS-CoV-1のRNA依存性RNAポリメラーゼの活性を直接阻害してウイルスのゲノムRNAの複製を抑制し, ウイルス粒子の複製を阻止することが証明されている¹⁴⁾。COVID-19治療薬候補として, 観察研究や臨床試験で薬理効果が評価されていたレムデシビルやファビピラビルのSARS-CoV-2における作用部位と比較しても^{15,16)}, 亜鉛イオンの作用点はコロナウイルスが有する同じファミリー分子であり, SARS-CoV-2に対してもイオノフォア¹⁷⁾や錯体化^{18,19)}を利用した亜鉛イオンの効果について今後の評価が待たれるところである。

一方で, 亜鉛イオンは, 免疫細胞の活性化に関与して, 細胞性免疫の促進や抑制を調整する機構が知られている²⁰⁾。具体的には, IL-6刺激による細胞内シグナル伝達の鍵分子であるSTAT3のリン酸化による活性化を細胞質内の亜鉛イオンが阻害し, 結果としてサイトカインストームを抑制し得る作用や²¹⁾, ヘルパーT2リンパ球-M2マクロファージの活性化経路を亜鉛イオンの補給が調整して抗炎症作用を発揮することが報告されている²²⁾。低亜鉛血症における易感染性は周知の事実であるが, これは上記のとおり, 細胞性免疫におけるT細胞の活性化に細胞内の亜鉛イオンが関与するエビデンスから明らかとなっている。そのため, 低亜鉛血症の患者では, 本来の免疫力が低いためにウイルス感染を起こしやすい, いったん感染を起こすと過剰な免疫反応が惹起されてサイトカインストームに陥りやすい, 炎症反応の程度を調整するM1マクロファージとM2マクロファージの balan

スが破綻しやすい, などCOVID-19の予後に大きく影響する事象と密接に関連しあっている可能性もある。

海外の文献情報からは, 韓国では一般的な重症患者やICU搬送率と患者の血清中微量元素レベルやその経時変化との関係について詳しく調査されており, ICU搬送から死亡に至る重症患者では, 低亜鉛血症であり, かつ処置後も血清亜鉛濃度が上昇しないケースが統計上有意に多いことが確認されている²³⁾。オーストラリアのメルボルン大学では, COVID-19患者に塩化亜鉛を静注して治療する臨床試験を開始するとのアナウンスがWeb上で公開されている²⁴⁾。この前向き臨床研究の主催者グループは, これまでの基礎研究と臨床適用において, 虚血性により酸素供給が枯渇した臓器で発生する再灌流性障害を, 塩化亜鉛の静注療法, すなわち, 虚血再灌流前に脈管内への亜鉛補給による酸素化療法の処置によって臓器障害を抑制できる事例を複数の臓器(肺, 肝臓, 腎臓)で報告している²⁵⁾。それらの成果にもとづいて, 今回のCOVID-19の治療にも奏功促進が観察されるかどうかの臨床試験を開始しているようである²⁴⁾。本試験の結果の報告は, 試験期間とデータ解析の関係から2021年4月以降になると予想されているが, 正規の臨床試験による亜鉛補給の効果判定への期待が持たれている。

COVID-19に対して, 世界各国でさまざまな観察研究や臨床試験が行われているが, 2021年3月現在, 未開発の新薬の代替となり得る様な既存薬の画期的な組み合わせは報告されていない。今回の研究結果で, 低亜鉛血症がCOVID-19重症化の予測因子となり得ることは示唆されたが, 今後, 患者数を増やした試験で再評価する必要があるのと同時に, 亜鉛の補充自体がSARS-CoV-2のウイルス複製を阻止し, 治療薬の候補となるかどうかについては, 上記の様に二重盲検性の前向き臨床試験として検証されるべきである²⁴⁾。

今回採用した低亜鉛血症のカットオフ値は $70\mu\text{g/dL} = 700\mu\text{g/L} = 10.7\mu\text{M}$ である。金属イオンの循環血液中からの組織分布が速やかである肺, 肝臓, 腎臓の組織中濃度が血漿中濃度の10倍

と仮定すれば(ラットやマウスの実験動物では実証されている), 亜鉛イオンの血漿中濃度が $10.7\mu\text{M}$ の際には組織中濃度は $107\mu\text{M}$ となり, COVID-19のRNA dependent RNA polymerase (RnRb)の活性を十分に阻害できる濃度($100\mu\text{M}$)を維持できることになる¹⁴⁾。つまり, 低亜鉛血症患者においては亜鉛補給療法により効果が期待できることになる。国内には, 海外のようなサプリメントではなく, 医薬品としての経口亜鉛製剤(酢酸亜鉛: 商品名ノベルジン)がウィルソン病治療および低亜鉛血症治療に対して適用を受けており, 医師の診断の下に処方が可能となっている。今回のような, 低亜鉛血症とCOVID-19重症化との関係をより多くの患者数で確認できれば, 今後のCOVID-19の薬物治療にも活かせる可能性があると考ええる。これを支援するエビデンスの1つを図4に紹介する。今回の重症化した患者7名のうち4名については, ICU治療下で経腸栄養処置中に経日的な血清亜鉛濃度の測定が可能であったため, その貴重な変動推移を観測することが出来た。図4のとおり, COVID-19の重症時でも十分な経腸栄養を施せば, 10日から12日で血清亜鉛値は正常領域にまで上昇することが示され, その後, この4症例の患者を含めて7名とも寛解し退院されている。

結論として, 今回の堺市総合医療センターでのCOVID-19入院患者の血清亜鉛を測定した結果からは, 重症化する患者のほとんどが潜在性亜鉛欠乏症, または亜鉛欠乏症を示しており, 低亜鉛血症の遷延がCOVID-19重症化のリスク因子となることが示唆された。患者の血清亜鉛値と重症化との関係性について多変量解析にもとづくロジスティック回帰分析によって評価したところ, 血清亜鉛値とLDH値の2因子のみで正判別率89.7%, AUC0.942となるROC曲線で重症化を予測できることが分かった。今後の国内外における感染状況の変動を考慮すると, 今回の予測結果を適切に運用すれば, 安全な医療体制の整備と維持に貢献するはずと期待している。

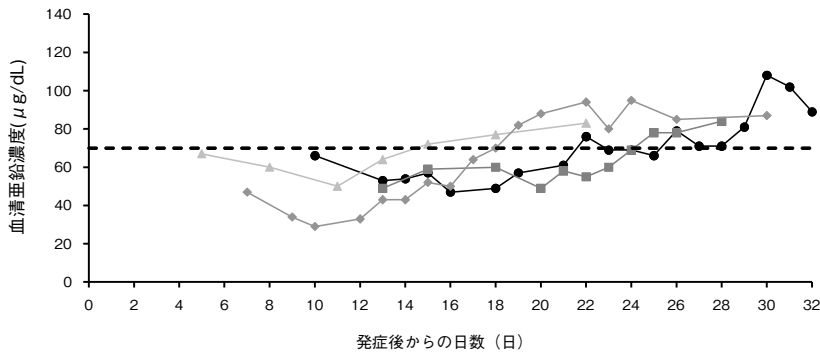


図4 重症化によるICU治療下で経日的な血清亜鉛濃度を測定し得た4名の経腸栄養中の変動結果

破線はカットオフ値である70 μg/dLを表す。
経腸栄養を開始後より10-12日の経過日数で70 μg/dLを上回った。

謝辞

本観察研究は、堺市立総合医療センターの倫理委員会による迅速な承認審査 (IRB 整理番号166) を得て実施された。非常に厳密な感染対策を伴った大変過酷な臨床現場において、COVID-19患者の診療を日々担当された以下に記す諸氏 (敬称略) の多大なご尽力に依るものである。著者は共同研究者として、観察記録された貴重な臨床データの統計解析、解釈並びに考察に関与したのみであることを申し添える。

本来であれば、臨床の先生方のどなたかが代表して発表されるべき所を、今回は著者がなり代わって記述させていただきました。ここに厚く御礼を申し上げます。

堺市立総合医療センター 薬剤科

安井友佳子 薬剤師
山本圭城 薬剤師
石坂敏彦 薬剤師

堺市立総合医療センター 検査科

鈴木公美子 臨床検査技師
齋藤孝子 臨床検査技師

堺市立総合医療センター 呼吸器内科

西田幸司 医師
郷間 巖 医師

堺市立総合医療センター 感染症内科

吉原真吾 医師
小川吉彦 医師

利益相反

発表論文に関連し、発表者らに開示すべきCOI関係にある企業等はありません。

文 献

- 1) Zunyou Wu, Jennifer M McGoogan. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China. Summary of a report of 72314 cases from the Chinese center for disease control and prevention. *JAMA*323(13): 1239-1242, 2020
- 2) Xiaobo Yang, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med.* 8(5): 475-481, 2020
- 3) Fei Zhou, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*395(10229): 1054-1062, 2020
- 4) J Zhang, et al. Risk factors for disease severity, unimprovement, and mortality of COVID-19 patients in Wuhan, China. *Clin. Microbiol. Infect.* 26(6): 767-772, 2020
- 5) Xiaochen Li, et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020; S0091-6749(20)30495-4
- 6) Rachel E. Jordan, Peymane Adab, K. K. Cheng. Covid-19: risk factors for severe disease and death. *BMJ*368: m1198. doi: 10.1136/bmj.m1198, 2020
- 7) 児玉浩子ほか. 亜鉛欠乏症の診療指針2016.日本臨床栄養学会雑誌38(2):104-148,2016
- 8) Russell RM, et al. Vitamin and trace mineral deficiency and excess. MINERALS. ZINC. Harrison's Principles of Internal Medicine, 20th Edition: J. Larry Jameson, Anthony S. Fauci, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, Joseph Loscalzo eds, McGraw Hill, New York, 2018
- 9) Yukako Y, et al. Analysis of the predictive factors for a critical illness of COVID-19 during treatment: relationship between serum zinc level and critical illness of COVID-19. *Int. J. Infect. Dis.* 100: 230-236, 2020
- 10) Rajesh T Gandhi, John B Lynch, Carlos Del Rio. Mild or Moderate Covid-19. *N. Engl. J. Med.* doi: 10.1056/NEJMcp2009249, 2020
- 11) Masaya S, et al. Serum CCL17 level becomes a predictive marker to distinguish between mild/moderate and severe/critical disease in patients with COVID-19. *Gene*765: 145145, 2020
- 12) Wenhua Liang, et al. Development and validation of a clinical risk score to predict the occurrence of critical illness in hospitalized patients with COVID-19. *JAMA. Intern. Med.* e202033, 2020
- 13) Li Yan, et al. An interpretable mortality prediction model for COVID-19 patients. *Nature Machine Intelligence.* 2: 283-288, 2020
- 14) Aartjan J W te Velthuis, et al. Zn²⁺ inhibits coronavirus and arterivirus RNA polymerase activity in vitro and zinc ionophores block the replication of these viruses in cell culture. *PLoS Pathog.* 6(11): e1001176, 2010
- 15) Sanders JM, et al. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA.* doi: 10.1001/jama.2020.6019, 2020
- 16) Guy RK, et al. Rapid repurposing of drugs for COVID-19. *Science* 368(6493): 829-830, 2020
- 17) Jing Xue, et al. Chloroquine is a zinc ionophore. *PLoS One.* 9(10): e109180, 2014
- 18) Sakurai H, et al. Antidiabetic vanadium(IV) and zinc(II) complexes. *Coord. Chem. Rev.* 226: 187-198, 2002
- 19) Sakurai H, Yoshikawa Y, Yasui H. Current state for the development of metallopharmaceutics and anti-diabetic metal complexes. *Chem. Soc. Rev.* 37: 2383-2392, 2008
- 20) Hirano T, et al. Roles of zinc and zinc signaling in immunity: Zinc as an intracellular signaling molecule. *Adv. Immunol.* 97: 149-176. doi: 10.1016/S0065-2776(08)00003-5, 2008
- 21) Kitabayashi C, et al. Zinc Suppresses T_H17 Development via Inhibition of STAT3 Activation. *Int. Immunol.* 22(5): 375-386, 2010
- 22) Kido T, et al. Inflammatory response under zinc deficiency is exacerbated by dysfunction of the T helper type 2 lymphocyte-M2 macrophage pathway. *Immunology.* 156(4): 356-372, 2019
- 23) Yeon Hee Lee, et al. Serum concentrations of trace elements zinc, copper, selenium, and manganese in critically ill patients. *Biol. Trace Elem. Res.* 188(2): 316-325, 2019
- 24) World-first trial to test benefit of intravenous zinc in COVID-19 fight, 8 Apr <https://about.unimelb.edu.au/newsroom/news/2020/april/world-first-trial-to-test-benefit-of-intravenous-zinc-in-covid-19-fight>, 2020
- 25) Ischia J, Bolton DM, Patel O. Why is it worth testing the ability of zinc to protect against ischaemia reperfusion injury for human application. *Metallomics.* 11(8): 1330-1343, 2019

**Association analysis of the serum zinc levels and critical illness of COVID-19
: Analysis of the predictive factors for a critical illness of COVID-19**

Hiroyuki Yasui

Professor, Department of Analytical and Bioinorganic Chemistry,
Division of Analytical and Physical Chemistry, Kyoto Pharmaceutical University

Because most severely ill patients with COVID-19 in our hospital (from 24 March to 24 May in 2020) showed zinc deficiency, we aimed to examine the relationship between the patient's serum zinc level and severe cases of COVID-19. Serum zinc <70 µg/dL was defined as the criterion for hypozincemia from Harrison's Principles of Internal Medicine (20th Edition), and patients continuously with serum zinc <70 µg/dL were classified in the hypozincemia cohort. To evaluate whether hypozincemia could be a predictive factor for critical illness of COVID-19, we performed the multivariate analysis by employing logistic regression analysis. Prolonged hypozincemia was found to be a risk factor for a severe case of COVID-19. In evaluating the relationship between the serum zinc level and severity of patients with COVID-19 by multivariate logistic regression analysis, critical illness can be predicted through the sensitivity and false specificity of an ROC curve with an error rate of 10.3% and AUC of 0.942 by only two factors: serum zinc value (P=0.020) and LDH value (P=0.026). Proper management of the prediction results in this study can contribute to the establishment and maintenance of a safe medical system, taking the arrival of the second wave and spread of COVID-19 in the future into consideration.

Keyword: COVID-19, Serum zinc, Critical illness,
Predictive factors, Logistic regression analysis

Address for correspondence

Kyoto Pharmaceutical University
5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607-8414, Japan
E-mail address: yasui@mb.kyoto-phu.ac.jp



■ 安井裕之略歴

1989年 ● 京都大学薬学部製薬化学科 卒業
1991年 ● 同大学院薬学研究科修士課程 修了
1995年 ● 同大学院薬学研究科博士課程 修了
博士 (薬学)
1995年 ● 京都薬科大学 助手
2004年 ● 京都薬科大学 助教授
2007年 ● 京都薬科大学 准教授
2007年 ● 京都薬科大学 教授
(分析薬科学系 代謝分析学分野)

現在に至る