

論文紹介

致死率の高い COVID-19 重症肺炎に対する治療確立が急がれる。エボラ出血熱の治療薬として開発されたレムデシビルは重症肺炎患者 53 人のうち 68%で症状が改善したとの報告 (Grein J, *et al.* N Engl J Med. 2020 Apr 10. doi: 10.1056/NEJMoa2007016.) があった。一方、ロピナビル・リトナビルは効果がみられなかったとの報告があった (Stower H. Nat Med. 2020 Apr 9. doi: 10.1038/s41591-020-0849-9.)。

2020 年 4 月 13 日時点において、重症 COVID-19 の治療方法が確立していない中、トシリズマブに劇的な効果があったという Xiaoling Xu らの論文を紹介する。

COVID-19 は、SARS、MERS 患者と同様、サイトカインストームの発生が重症度と予後に関連することが示唆されている (Chen N. *et al.* Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):507-513.)。COVID-19 の ICU 患者血漿中には大量の IL1B、IFN γ 、IP10、および MCP1 が検出され、おそらく活性化 T ヘルパー-1 (Th1) 細胞応答があると示唆された。ICU 入院患者は、非 ICU 患者より、G-CSF、IP10、MCP1、MIP1A、および TNF α の濃度が高く、サイトカインストームが疾患の重症度と関連していたことが示唆された。さらに、COVID-19 は、SARS-CoV 感染とは異なり、炎症を抑制する Th2 サイトカイン (IL4 や IL10 など) の分泌の増加もみられていた (Huang C. *et al.* Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.)。

今回紹介する Xiaoling Xu らの研究では、COVID-19 重症肺炎に対するトシリズマブの効果を検討している。21 名(男性 18 名 (85.7%) 女性 3 名)の患者に、トシリズマブが投与された。トシリズマブ治療 1 週間前から Lopinavir、ステロイドを含む標準治療歴があったが、発熱、低酸素症、CT 画像の増悪が認められていた。トシリズマブ 400 mg を 1 回投与したところ、1 日ないしは数日で体温が正常化した他、殆どの患者で呼吸機能が改善した。トシリズマブによる治療後 5 日以内に 2 名の患者が人工呼吸器から外され、15 名の患者 (75.0%) は酸素摂取量を減らし、酸素飽和度は安定したままであった。もう 1 人の重篤な患者は短時間で人工呼吸器を離脱すると期待された。

トシリズマブはインターロイキン-6 (IL-6) の作用を抑制し、免疫抑制効果を示す分子標的治療薬で関節リウマチの薬として使われている。リンパ球減少、CRP 異常高値を認める、サイトカインストームの疑いのある重症 COVID-19 患者への治療の一助となれば、幸いである。

※本論文を訳すにあたり、著者からは承諾を得ております。

公益財団法人田附興風会医学研究所 北野病院 小児科・感染症科・第 4 研究部
羽田 敦子

論文紹介

症 例

重症 COVID19 患者に対するトシリズマブ治療の効果 Effective Treatment of Severe COVID-19 Patients with Tocilizumab

¹⁾ Respiratory and Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China (Anhui Provincial Hospital), Hefei, Anhui, People's Republic of China

²⁾ Respiratory and Critical Care Medicine, Anhui Fuyang Second People's Hospital, Fuyang, Anhui, People's Republic of China

³⁾ Institute of Immunology and the CAS Key Laboratory of Innate Immunity and Chronic Disease, School of Life Science and Medical Center University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui, People's Republic of China

⁴⁾ Hefei National Laboratory for Physical Sciences at Microscale, University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui, People's Republic of China

⁵⁾ Intensive Care Unit, The First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China (Anhui Provincial Hospital), Hefei, Anhui, People's Republic of China

⁶⁾ Hemodialysis Center, Anhui Fuyang Second People's Hospital, Fuyang, Anhui, People's Republic of China

Xiaoling Xu^{1)##}, Mingfeng Han^{2) #}, Tiantian Li¹⁾, Wei Sun²⁾, Dongsheng Wang¹⁾, Binqing Fu^{3,4)}, Yonggang Zhou^{3,4)}, Xiaohu Zhang^{3,4)}, Yum Yang⁵⁾, Xiuyong Li⁶⁾, Xiaohua Zhang²⁾, Aijun Pan⁵⁾, Haiming Wei^{3,4)}*

要 約

背景：2019 年 12 月、中国武漢で重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV2) が確認され、急速に広がり、世界的な公衆衛生上の問題となっている。著者らは COVID-19 の重症患者におけるトシリズマブの有効性を評価し、新しい治療戦略を模索した。

方法：2020 年 2 月 5 日から 2 月 14 日、通常治療に加えて、中国科学技術大学（安徽省病院）の第 1 付属病院（安徽省病院）と安徽富陽第 2 人民病院で重症または重篤な COVID-19 と診断された患者にトシリズマブを投与した。臨床症状、CT スキャン画像、および検査所見の変化を後方視的に分析した。

所見：数日以内に、発熱は正常化し、他のすべての症状は著しく改善した。酸素療法実施の 20 人の患者のうち 15 人（75.0%）は酸素投与量を減らすことができ、1 人の患者は酸素投与が不要になった。CT 所見は、19 人の患者（90.5%）でみられた肺病変の不透明度が改善した。末梢血中のリンパ球の割合は、治療前に 85.0%の患者（17/20）で減少し（平均、 $15.52 \pm 8.89\%$ ）。治療後 5 日目に患者の 52.6%（10/19 名）が正常化した。異常高値であった C 反応性タンパク質の上昇は 84.2%の患者（16/19）で有意に減少した。明らかな副作用は観察されなかった。19 人の患者（90.5%）はトシリズマブによる治療後平均 13.5 日で退院し、残り 2 名も回復している。

解釈：トシリズマブは、COVID-19 の重症患者に効果的な治療法であり、この致命的な感染症に新しい治療戦略を提供した。

資金提供：この研究は、安徽省科学技術局と安徽省健康委員会（助成金番号：202004aO7020001）および中国国家バイオテクノロジー開発センター175（助成金番号：2020YFC0843800）によってサポートされた。

背 景

過去数十年で、2つの既知の人獣共通感染症コロナウイルス、SARS-CoVとMERS-CoVは気道に損傷を与え、深刻な発生を引き起こすことが報告されていた。新しく発見されたSARS-CoV-2は、2019年12月に中国の武漢で最初に発見されました。2020年2月11日の疫学データにより、COVID-19における人から人への感染が証明され、中国疾病予防管理センター（CDC）によると、2020年3月1日の時点で、2,915例の死亡を含む80,174例の患者が累積的に確認（筆者注 4月13日現在118,459例死亡を含む1904,566例）され、殆どの患者は肺炎を発症し、急速に悪化する可能性があり、呼吸不全に陥る。高齢者と免疫機能の低い患者は感受性と死亡率が高い。ある研究では、患者は通常胸部CTスキャンで異常所見を伴う肺炎を発症していると報告している。発症時の一般的な症状には、発熱、咳、筋肉痛または疲労がある。（中略）患者の多くは急性呼吸窮迫症候群（ARDS）を含む重篤な合併症を経験し、集中治療室（ICU）に入院し、死亡例もある。COVID-19に有効な治療法は未だ確立されていない。

SARSの研究において、サイトカインストームが発生し、インターロイキン（IL）-6、腫瘍壊死因子 α （TNF- α ）、およびIL-12を含む炎症性サイトカインの著明な放出があることが示されている。中東呼吸器症候群の研究では、MERS-CoVが原因で、IL-6、IL-18、およびIL-8のサイトカイン遺伝子が著しい高値を示した。MERS-CoVによる炎症性サイトカイン誘導の遅延が確認された。COVID-19のICU患者血漿中では、SARS、MERS患者と同様に、IL-6、IL-2、IL-7、IL-10、GM-CSF、IP10、MCP1、MIP1 α 、およびTNF- α が高値であり、サイトカインストームの発生を示唆し、重症度と予後に関連していた。COVID-19による重度の感染症で死亡した患者の剖検時の組織学的検査により、細胞性線維粘液様浸出液による両側びまん性の肺胞損傷が見られた。単核の炎症性リンパ球が両側肺に見られた。以上の研究から、炎症性因子またはサイトカインストームが発生したことを示唆した。さらに我々の以前の調査では、COVID-19を持つ患者の免疫特性を分析した後、異常な病原性T細胞と炎症性単球が急速に活性化され、多数のサイトカインを産生し、炎症性ストームを誘発することがわか

った。その中でも、GM-CSFとIL-6は、炎症性ストームを引き起こす主要なサイトカインであり、肺胞毛細血管の血液ガス交換機能障害、特に酸素拡散の障害を引き起こし、最終的には肺線維症と臓器不全につながる可能性がある（Zhou Y, *et al.* BioRxiv 2020: 2020.02.12.945576.）。彼らは、IL-6がサイトカインストームにおいて重要な役割を果たす可能性があり、IL-6の抑制が重篤なCOVID-19の治療薬である可能性があることを示唆した。

IL-6受容体には、膜結合型IL-6受容体（mIL-6R）と可溶性IL-6受容体（sIL-6R）の2つの形態がある。IL-6はsIL-6Rに結合して複合体を形成し、細胞膜上のgp130に結合してトランスシグナル伝達を完了し、炎症誘発性の役割を果たす。

抗ヒトIL-6受容体モノクローナル抗体トシリズマブは、IL-6RとmIL-6Rに特異的に結合し、主に関節リウマチに使用される。動物に対する長期毒性試験の結果、トシリズマブは忍容性が良好であり、他の臨床病理学的研究または組織病理学的評価では有意な異常は観察されなかった。

この研究では、重症または重篤な状態にあるCOVID-19患者の治療におけるトシリズマブの有効性を後方視的に検討し、トシリズマブによるIL-6に対する干渉を確認し、この致命的な感染症に新しい治療戦略を提供する。

方 法

【患者】

合計21人の患者が試験条件を満たし、2020年2月5日から2月14日の間にトシリズマブで治療された。7人の患者は中国科学技术大学第一附属医院（安徽省病院）、14人は安徽富陽第二人民病院で治療された。登録されたすべての患者は、中華人民共和国国家健康委員会が後援する新型コロナウイルス肺炎の診断および治療プロトコル（6th interim edition）によって定義された厳しい基準または重大な基準を満たした。公開されているウイルスシーケンスから開発されたリアルタイム逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）アッセイで操作およびテストされた。Severe caseの診断は、次の条件のいずれかが満たされた場合に定義された。(1) 呼吸数 ≥ 30 回/分、(2) SpO₂ $\leq 93\%$ （室内気）、(3) PaO₂ / FiO₂ ≤ 300 mmHg。

Critical case は、以下のいずれかがある場合、(1) 機械的換気が必要とする呼吸不全;(2) ショック;(3) 他の臓器不全と組み合わせ、ICU に入院する必要がある場合、と診断された。

安徽省病院の医学研究倫理委員会は研究を承認した、すべての患者は、トシリズマブを使用する前にインフォームドコンセントに署名し、この症例シリーズを公開することに同意した。患者のプライバシーを保護し、ヘルシンキ宣言を遵守した。(承認番号: 2020-XG (H-015))

【IL-6 テスト】

IL-6 の値は、電気化学発光法 (Roche Diagnostics GmbH) または FACS 分析によって測定された。IL-6 の細胞内染色は、再刺激を加えることなく行われた。次に細胞を収集し、洗浄し、eBioscience の指示に従ってブロックした。IL-6 の正常範囲は 7pg /mL 以下であった。

【治療と観察】

すべての患者は、新規コロナウイルス肺炎の診断と治療プロトコル (6th interim edition)、ロピナビル、メチルプレドニゾン、その他の対症療法薬、酸素療法を含む標準治療を受け、トシリズマブ (RochePharma (Schweiz) Ltd、B2084B21) を追加した。

点滴で 400mg を 1 回処方され、体温、酸素飽和度などの臨床症状を記録した。全血白血球数を繰り返し測定した。入院時およびトシリズマブ治療開始後 1 週間後に、全肺の低線量被ばくスキャンで 64 列スパイラル Optima CT680scanner (GE Healthcare、USA) を使用して、すべての患者が、5mm のスライスで、スパイラルコンピューター断層撮影 (CT) スキャンされた。

【データ収集】

性別、年齢、共存する疾患、臨床症状、末梢酸素飽和度を含む治療データは、カルテと画像のレビューを通じて収集された。この研究では、トシリズマブによる治療前後の体温、呼吸機能、CT 所見の変化に焦点を当てた。

【統計と分析】

すべての統計データは IBM SPSS ソフトウェア v16.0 (シカゴ、イリノイ、米国) によって分析され、平均土標準偏差として表された。

結 果

【患者の特徴】

被験者の平均年齢は 56.8 歳 ± 16.5 歳で、25 歳から 88 歳の範囲である (Table 1)。21 人の患者のうち、18 人は男性 (85.7%) と 3 人の女性 (14.3%) である。17 例 (81.0%) は重症と評価され、4 例 (19.0%) は重篤である。そのうち 5 例 (23.8%) は武漢への曝露歴があり、6 例 (28.6%) は COVID-19 が確認された患者への接触歴がある。18 人の患者 (85.7%) がトシリズマブを 1 回投与され、3 人の患者 (14.3%) が 12 時間以内の発熱継続により同じ用量で投与された。

Table 1 Demographic Characteristics of the Patients on Presentation

Characteristic	Patients (N=21)
Age (rang) –years	56.8±16.5 (25-88)†
Gender	
Male	18/21 (85.7%)
Female	3/21 (14.3%)
Chronic medical illness	
Hypertension	9/21 (42.9%)
Diabetes	5/21 (23.8%)
CHD	2/21 (9.5%)
COPD	1/21 (4.8%)
Brain Infarction	1/21 (4.8%)
Bronchiectasis	1/21 (4.8%)
Auricular fibrillation	1/21 (4.8%)
CKD	1/21 (4.8%)
Exposure	
Exposure to Wuhan	5/21 (23.8%)
Exposure to patients ‡	6/21 (28.6%)
Symptoms	
Fever	21/21 (100%)
Cough	14/21 (66.7%)
Phlegm	9/21 (42.9%)
Fatigue	6/21 (28.6%)
Dyspnea	6/21 (28.6%)
Nausea	4/21 (19.0%)
Rhinorrhea	1/21 (4.8%)
Chest pain	1/21 (4.8%)
State of illness	
severe	17/21 (81.0%)
critical	4/21 (19.0%)
Oxygen therapy	
High-flow oxygen	9/20 (45.0%)
Nasal cannula	7/20 (35.0%)
Invasive ventilation	2/20 (10.0%)
Noninvasive ventilation	1/20 (5.0%)
Mask oxygen	1/20 (5.0%)
Tocilizumab adverse events	0
Hospitalization days (range)-days*	13.5±3.1 (10-19)†
Clinical outcome	

CHD, coronary heart disease; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; CKD, chronic kidney disease. Data are n/N (%) unless specified otherwise.

† Plus-minus values are means ± SD.

‡ Patients who have confirmed COVID-19.

* Hospitalization days after the treatment with tocilizumab.

【臨床所見】

すべての患者が初期症状として発熱を示し、続いて乾いた咳（14/21、66.7%）、少量の白い痰（9/21、42.9%）、倦怠感（6/21、28.6%）および呼吸困難（6/21、28.6%）、4人の患者（19.0%）は悪心があった。鼻漏および胸痛を含む他の症状はまれであった（4.8%）。すべての患者の間で、発熱の開始から呼吸困難の発生までの6日間（範囲、2～14）の中央値の間隔があった。20人の患者が酸素療法を必要とし、9人の患者（45.0%）の高流量酸素療法、7人の患者（35.0%）が鼻カニューレ、1人の患者（5.0%）がマスク酸素、1人が非侵襲的陽圧換気（5.0%）および2人に侵襲的換気（10.0%）をされていた（Table 1）。

【臨床検査】

4人の患者（4/20、20.0%）で末梢血白血球数に異常値（平均 $6.30 \pm 2.77 \times 10^9 / L$ ）がみられた。（Table 2）

85.0%の患者はリンパ球の割合が減少した（17/20、平均、 $15.52 \pm 8.89\%$ ）。20人の患者全員にC反応性タンパク質（CRP）レベルの増加がみられた（平均、 $75.06 \pm 66.80 \text{ mg / L}$ ）。プロカルシトニン（PCT）の中央値は $0.33 \pm 0.78 \text{ ng / mL}$ で、20人の患者のうち2人（10.0%）のみが異常な値を示した。これらの重症かつ重篤なCOVID-19患者においてIL-6の発現上昇を示していた（ $132.38 \pm 278.54 \text{ pg / mL}$ ）。

【画像所見】

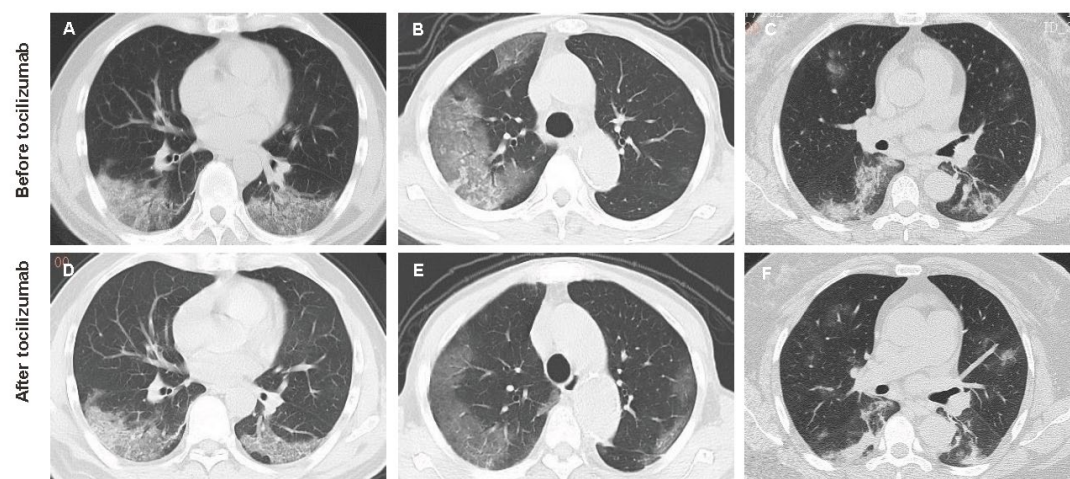
すべての患者は、診察時に異常な胸部CTを示した。初回の胸部CTの主な異常は、主に末梢、特に胸膜下領域に分布するブランクのようなすりガラス状の混濁と限局性の浸潤影であった（Fig. 1A-C）。入院後7日以内に21人の患者のすりガラス状陰影のサイズ、範囲、重症度が増加した。胸水、縦隔リンパ節、または中央肺塞栓はみられなかった。

Table 2 Laboratory Tests before and after Tocilizumab

	Range	Before the tocilizumab	After the tocilizumab		
			D1	D3	D5
White-cell count, $\times 10^9 / L$	3.5-9.5	6.30 ± 2.77 (4/20, 20.0%)	8.05 ± 4.39 (8/18, 44.4%)	6.02 ± 3.05 (9/21, 42.9%)	5.25 ± 2.11 (2/18, 10.5%)
Lymphocyte percentage, %	20-50	15.52 ± 8.89 (17/20, 85.0%)	11.78 ± 11.36 (16/18, 88.9%)	16.93 ± 13.59 (14/21, 66.7%)	22.62 ± 13.48 (9/19, 47.4%)
C-reactive protein, mg/L	0-5	75.06 ± 66.80 (20/20, 100%)	38.13 ± 54.21 (17/18, 94.4%)	10.61 ± 13.79 (10/20, 50.0%)	2.72 ± 3.60 (3/19, 15.8%)
Procalcitonin, ng/mL	0-0.5	0.33 ± 0.78 (2/20, 10.0%)	0.21 ± 0.35 (2/16, 12.5%)	0.09 ± 0.13 (1/19, 5.3%)	0.12 ± 0.15 (1/18, 5.6%)

Data are means \pm SD (abnormal no./total no., %).

Figure 1



【治療結果】

すべての患者の体温は、トシリズマブ投与後の初日に劇的に正常化し、その後も安定したままであった (Fig.2B)。臨床症状は投与翌日、大幅に緩和された。末梢酸素飽和度は著しく改善された (Fig.2C-D)。1人の患者は、酸素療法を追加する必要はなかった。酸素投与量が低下した患者は15人 (15 / 20 75.0%) いた。1人の患者は、トシリズマブ投与後の初日に人工呼吸器から外された。

1人の重篤な患者は、5日目に気管から抜管され、意識を取り戻した。以前に侵襲的換気を受けていたもう1人は、人工呼吸器のパラメーターを下げており、まもなく人工呼吸器から外れると予想された。

Figure 2

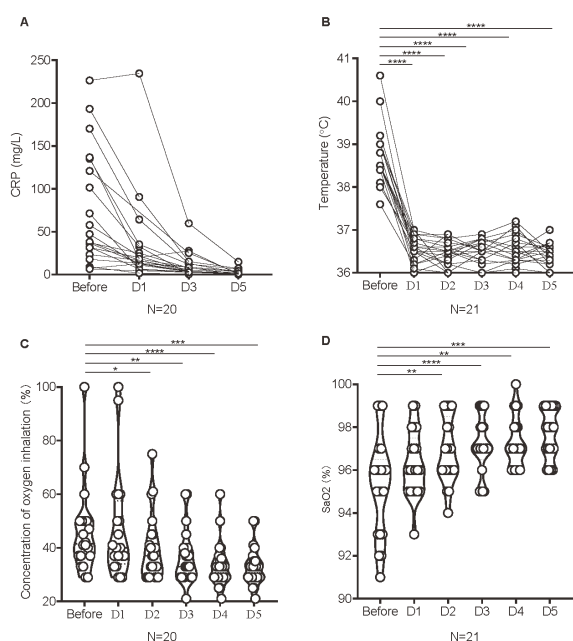


Table 2 と Fig. 2A に示すように、トシリズマブ治療後にリンパ球の割合と CRP レベルの有意な変化が観察された。治療後 5 日目に、2 人の患者 (2 / 19, 10.5%) だけが白血球数に異常な値を示し、平均 $5.25 \pm 2.11 \times 10^9 / L$ 、10 人の患者のリンパ球の割合 (10/19、52.6%) が正常に戻った (平均、 $22.62 \pm 13.48\%$)。

5 日目の治療後、CRP は有意に減少し、84.2% の患者 (16/19、平均 $2.72 \pm 3.60 \text{ mg/L}$) で正常に戻った。治療後、CT スキャンにより、19 人の患者 (90.5%) で病変が吸収されたことが示された (Fig.1D-F)。2 人の重要な患者を含む 19 人の患者 (90.5%) が退院し、

残りは病院の監視下で、体温は正常のままであり、すべての症状が著しく改善した。退院までの時間はトシリズマブによる治療後 13.5 ± 3.1 日であった (Table 1)。併発する肺感染症、疾病の悪化や死亡の報告はなく、トシリズマブによる治療中、副作用は報告されていない。

考 察

この研究では、重度かつ重篤な COVID-19 の 21 人の患者の治療において、IL-6 ブロッカーであるトシリズマブを投与して後方視的に観察した。臨床データは、ほとんどの患者でトシリズマブ治療直後に症状、低酸素症、および CT 不透明度の変化が改善されたことを示しており、トシリズマブが COVID-19 の治療にとって有効な治療法である可能性を示唆しています。

COVID-19 は、最初に軽度の症状を伴う、新たに発生した感染性呼吸器疾患である。ただし、多くの患者では、胸部圧迫感、息切れ、さらには呼吸不全として現れる症状が急速に悪化する。CT スキャンは、しばしば急速に拡大した混濁を示す。これらの患者は通常、酸素療法と ICU での補助換気さえ必要である。

残念ながら、それらの 4.3-11% は、推奨される標準的な治療後でも最終的に死亡した。効果的な治療法を達成できなかったためである。そして、重篤なケースの死亡率は 60.5% にも達した。今回の研究では、21 人の患者全員がトシリズマブの 1 週間前から通常の治療歴があったが、発熱、低酸素症、CT 画像が悪化していた。トシリズマブによる治療後、体温の改善に加え、ほとんどの患者で呼吸機能がある程度改善された。胸の圧迫感がとれた。15 名の患者 (75.0%) は酸素摂取量を減らし、酸素飽和度は安定したままであった。トシリズマブによる治療後 5 日以内に 2 人の患者が人工呼吸器から外れ、もう 1 人の重篤な患者は短時間で人工呼吸器を離脱すると予想された。

リンパ球の割合の減少は、COVID-19 患者の診断と重症度判断の重要な指標と考えられている。トシリズマブ投与 5 日以内に 85.0% の患者 (17/20) と 52.6% の患者 (10/19) で正常に戻った。同時に、CRP の上昇も正常に戻った。CT スキャンの肺野異常陰影は 19 人の患者 (90.5%) で消退した。肺組織の損傷を考え

ると、修復に十分な時間が必要であり、CT スキャンの寛解遅延が予想される。治療中、副作用やその後の肺感染は報告されていない。すべての患者の臨床症状は、治療後の予後が良好で著しく改善された。19 人の患者（90.5%）は、2 人の重篤な患者を含めて退院した。したがって、トシリズマブは COVID-19 の重症患者を効果的に治療できると考えられた。これは、IL-6 関連の熱性および炎症性ストーム応答の遮断によって説明される可能性がある。

それにもかかわらず、この研究にはいくつかの限界がある。患者数はかなり限られていたこと。これは単一の観察研究であり、大きなバイアスが存在する可能性がある。今後根拠の強さを強化する必要がある。私たちの観察の結論を確認するために、ランダム化比較試験と COVID-19 における IL-6 のメカニズムに関する研究が実施されている。

結 論

要約すると、トシリズマブは効果的に臨床症状を改善し、重度の COVID-19 患者の悪化を抑制する。したがって、トシリズマブは COVID-19 の重症患者に効果的な治療法であり、この致命的な感染症の新しい治療戦略を提供した。

参考文献省略

Tocilizumab treatment to Reduce Mortality of Severe COVID-19

By University of Science and Technology of China

Inflammatory storms, or inflammatory cytokine storms, refers to over-activation of the immune system by infection, drugs, or certain diseases, which can quickly lead to single-organ or multi-organ failure and ultimately threaten life. Inflammatory storms have been a major cause of death in patients with SARS, MERS, and CAR-T cell therapy. In this SARS-CoV-2 outbreak, some COVID-19 seem not very dangerous, or even mild at the beginning, but suddenly become aggressive later. The patients then quickly enter a state of multi-organ failure, for inflammatory storms may have started.

The crucial cause for mortality in COVID-19

Cytokines mainly include interferon (IFN), interleukin (IL), chemokines, colony stimulating factors (CSFs), tumor necrosis factor (TNF), etc. These cytokines are secreted by certain immune cells. Some of their functions are to promote inflammation, while others are to inhibit inflammation. When the immune system has been excessive activated due to factors such as infections, drugs, autoimmune disease, a large amount of proinflammatory factor may produce, resulting in a positive feedback loops, and eventually become the inflammatory storm. Specifically, after the SARS-CoV-2 infected human body, lung tissues with high expression of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and also directly contacted the external became the main invasion target of the new coronavirus. The immune cells in the lungs are overactivated, producing a large number of inflammatory cytokines, and recruiting more inflammatory immune cells to reach the lungs, thus forming a cascade reaction and forming inflammatory storm. Large numbers of immune cells and tissue mucus block the gas exchange between alveoli and capillaries, resulting in acute respiratory distress syndrome. Once the cytokine storm is formed, as the over-activated immune cells remove the virus, they bring cytotoxicity to a large number of normal cells in the lung, and seriously destroy the function of pulmonary ventilation. The CT images of these lungs show a large white area, namely "white lung". The severe COVID-19 patients often suffer from respiratory failure and die from hypoxia. At the same time, ACE2 is also highly expressed in various human tissues, including vascular endothelial cells, heart, kidney, liver, digestive tract and other tissues and organs. All tissues and organs that express ACE2 may be the battlefield between SARS-CoV-2 coronavirus and immune cells, which eventually leads to multi-organ failure and endangers life. Therefore, finding the key cytokines of inflammatory storm induced by SARS-CoV-2 coronavirus infection and blocking its signal transduction will greatly reduce the damage of inflammatory storm to lung tissues and multiple organs of patients.

IL-6 is a potential blocking target to calm inflammatory storm

Research group of Prof. Haiming Wei, which is from the University of Science and Technology of China, quickly cooperated with Prof. Xiaoling Xu from the first affiliated hospital of USTC, and analyzed peripheral blood samples from 33 patients with severe or critical COVID-19 pneumonia from The First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China. The research group has found that after the SARS-CoV-2 infection, $CD4^+$ T lymphocytes are rapidly activated to become pathogenic T helper (Th) 1 cells and generate inflammatory GM-CSF and IL-6. The cytokines environment induces inflammatory $CD14^+CD16^+$ monocytes with high expression of IL-6 and accelerates the inflammation. Given that large amount of inflammatory cells infiltrations have been observed in lungs from severe COVID-19 patients, these aberrant pathogenic Th1 cells and inflammatory monocytes may enter the pulmonary circulation in huge numbers and play an immune damaging role to causing lung functional disability and quick mortality (**Figure 1**). Thus, IL-6 and GM-CSF are two key inflammatory factors that trigger inflammatory storms in patients with severe COVID-19.

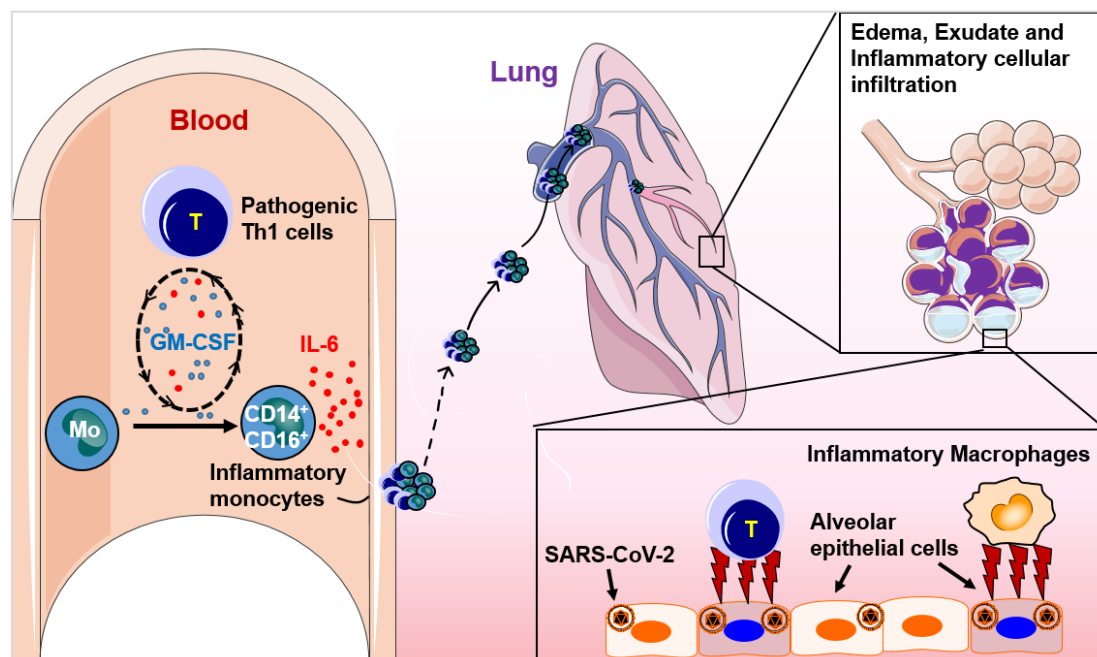


Figure 1. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes with high IL-6 secretion may enter the pulmonary circulation in large numbers and play an immune damaging role in severe pulmonary syndrome patients.

Tocilizumab treatment is effective to reduce the mortality of severe COVID-19

Based on the research team's exploration of the key mechanism of severe

inflammatory storm caused by SARS-CoV-2 infection, the team speculated that the anti-IL-6 receptor monoclonal antibody drug "Tocilizumab" could block the inflammatory storm caused by new coronavirus infection, and quickly formulated a new treatment regimen of "Tocilizumab+conventional treatment" (**Figure 2**) .

(Tocilizumab is the first marketed IL-6 blocking antibody through targeting IL-6 receptors and has proved its safety and effectiveness in therapy for rheumatoid arthritis.)

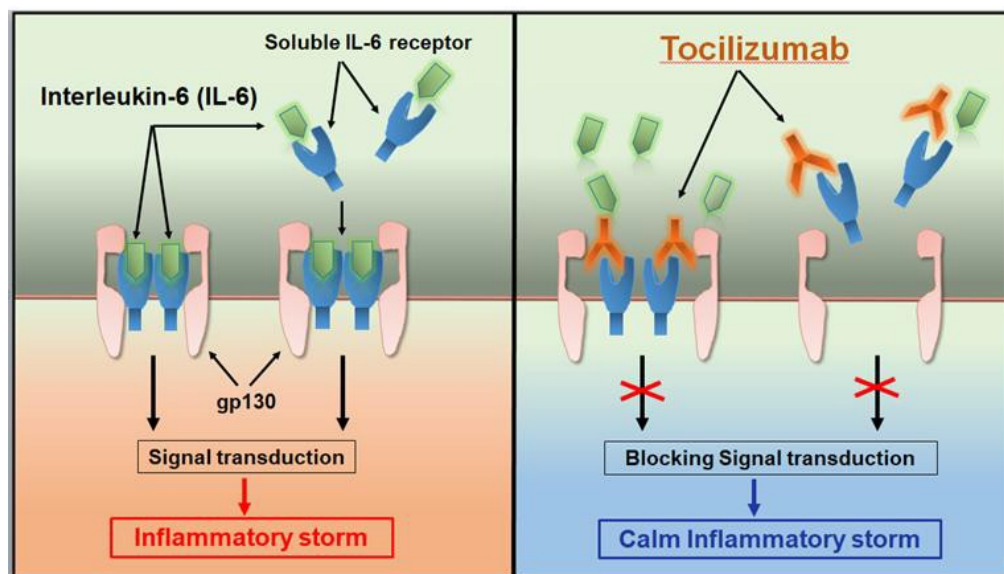


Figure 2. Tocilizumab calms the inflammatory storm through blocking IL-6 receptors.

In order to verify whether targeted IL-6, may potentially be the effective and safe way to reduce mortality of COVID-19, after strict adherence to the guidelines of medical ethics and patient informed consent, 21 patients diagnosed as severe or critical COVID-19 were recruited and given tocilizumab therapy between February 5 and February 14, 2020. Before treatment, there were diffuse lesions in both lungs with persistent fever in all patients. The treatment results are inspiring. The temperature of all the patients returned to normal within 24 hours. The respiratory function and all other symptoms improved remarkably. 20 patients have been recovered and discharged at 13.5 days after the tocilizumab therapy on average. One left patient is recovering and out of ICU care. With these promising preliminary clinical results, the research team from USTC launched the multicenter, large-scale clinical trials (ChiCTR2000029765).

Guidelines for the clinical use of Tocilizumab in the treatment of severe COVID-19

The immunotherapy strategy about Tocilizumab treatment has been formally included in the diagnosis and treatment program of COVID-19 (7th edition) of the national health commission of China since 4th March 2020 as following: Tocilizumab can be used in patients with extensive bilateral lung lesions opacity or in critical patients, who have elevated laboratory detected IL-6 levels. The first dose is 4-8mg/kg (the recommended dose is 400mg, diluted to 100ml with 0.9% normal saline, and the infusion time is more than 1 hour). For patients with poor initial efficacy, an additional application can be made after 12 hours (the dose is the same as before). The maximum number of times of administration is two, and the maximum dose of a single dose should not exceed 800mg. Note that patients with allergic reactions, such as tuberculosis and other active infection are contraindicated.

Attachment: Detailed article list from Tocilizumab team in University of Science and Technology of China

1. Aberrant pathogenic GM-CSF⁺ T cells and inflammatory CD14⁺CD16⁺ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus.
<https://doi.org/10.1101/2020.02.12.945576>

2. Effective Treatment of Severe COVID-19 Patients with Tocilizumab.
<http://chinaxiv.org/abs/202003.00026>

Q&A on Treatment of COVID-19 with Tocilizumab

By University of Science and Technology of China

1. What is the basic principle of treating of COVID-19 with Tocilizumab?

In patients with COVID-19, a large number of T lymphocytes and mononuclear macrophages are activated, producing cytokines such as interleukin-6 (IL-6) which bind to the IL-6 receptor on the target cells, causing the cytokine storm and severe inflammatory responses in lungs and other tissues and organs. Tocilizumab is an antibody specifically blocking the IL-6 receptor, which can bind to the IL-6 receptor with high affinity, thus preventing IL-6 itself from binding to its receptor, rendering it incapable of immune damage to target cells, and alleviating the inflammatory responses.

2. What are the indications for treating COVID-19 with Tocilizumab?

Since Tocilizumab prevents the cytokine storm caused by IL-6, timely use of Tocilizumab in mild cases when they progress to or have become severe cases will achieve good results. For critical patients with extensive and severe irreversible damage to the lungs, the effect is moderate.

3. Is it necessary to detect IL-6 before treating COVID-19 with Tocilizumab?

Detection of IL-6 is a basic requirement for the use of Tocilizumab. Since IL-6 is mainly concentrated in tissues and organs such as the lungs, its level is not necessarily high in blood. So Tocilizumab can be used whenever the elevated IL-6 level is detected ($>7\text{pg/ml}$). When IL-6 can't be detected under special conditions, if the condition is urgent, the doctor may consider using Tocilizumab as appropriate by referring to the elevated CRP value.

4. Why does the IL-6 level increase after treatment of COVID-19 with Tocilizumab?

Tocilizumab is an antibody that specifically blocks the IL-6 receptor, so that IL-6 itself can no longer bind to its receptor and goes into the blood in large quantities. So the IL-6 level is elevated when detected, but it will gradually decrease to the normal level after one week.

5.What are the contraindications for treating COVID-19 with Tocilizumab?

Tocilizumab is contraindicated in patients with allergic constitution, tuberculosis and other active infections.

5. Is it safe to treat COVID-19 with Tocilizumab?

Currently, more than 400 patients have been treated with Tocilizumab. One patient developed anaphylaxis that required symptomatic treatment. A few patients had transient symptoms such as decrease of white blood cells and skin itching, which would relieve naturally. Tocilizumab is generally safe and reliable.

Clinical Application Procedure of Tocilizumab

By University of Science and Technology of China

I. Assessment of Medication Indications

(I) Indications

- (1) Common NCP cases (including high risk factor for severe cases) and severe cases confirmed with COVID-19.
- (2) 18-85 years old;
- (3) Elevated level of IL-6 (detection by Roche electrochemiluminescence is recommended).

Note: Common NCP (including high risk factor for severe cases): common cases with bilateral pulmonary diseases, or pulmonary imaging shows that the lesion progresses more than 50% within 24-48 hours.

(II) Contraindications

- (1) Women who are pregnant or nursing
- (2) ALT/AST >5 times the ULN; neutrophil $<0.5 \times 10^9/L$; platelet $< 50 \times 10^9/L$;
- (3) People diagnosed with rheumatism- and immunity-related diseases, cancer and other related diseases;
- (4) People who have been taking antirejection or immunomodulatory drugs orally for a long time;
- (5) People who are allergic to Tocilizumab or any excipient;
- (6) Patients with active hepatitis and TB, associated with specific bacterial and fungal infections;
- (7) Patients who have had organ transplantation;
- (8) People with mental disorders;

II. Signing of Informed Consent (If included in the national diagnosis and treatment plan medical guidelines, no informed consent is required)

III. Application of Tocilizumab

(I) Dosage schedule

Initial dose: 4-8mg/kg; recommended dose: 400mg; add 100ml of normal

saline; infusion duration > 1 hour. For patients with fever, administer the second dose (same as the first dose) if the fever persists within 24 hours after the first dose; interval between two doses ≥ 12 h; a maximum of 2 cumulative doses; no more than 800mg per dose.

Note: Conventional treatment remains unchanged.

(II) Completion of the basic information form (for efficacy tracking and timely treatment of adverse reactions)