

ฉบับแปลไทย (Thai Translations)

Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation

<https://www.pnas.org/content/117/41/25254>

## ลักษณะทางซูเปอร์แอนติเจนของส่วนแทรกที่พบได้เฉพาะในส่วน หนามของ SARS-CoV-2 ซึ่งสนับสนุนโดยเรเพอร์ทัวร์ TCR ที่ บิดเบือนในผู้ป่วยที่มีภาวะอักเสบมากผิดปกติ

### ความสำคัญ

กลุ่มอาการภาวะอักเสบมากผิดปกติซึ่งทำให้นึกถึงกลุ่มอาการที่ออกซิกซ็อก (TSS) พบได้ในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง รวมไปถึงเด็กที่มีกลุ่มอาการอักเสบหลายระบบในเด็ก (MIS-C) โดยปกติแล้ว TSS มีสาเหตุจากซูเปอร์แอนติเจนก่อโรคซึ่งกระตุ้นการสั่งงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบปรับตัวมากเกินไป เราได้แสดงให้เห็นว่าส่วนหนามของ SARS-CoV-2 มีลักษณะเด่นของลำดับและโครงสร้างที่มีความคล้ายคลึงกับซูเปอร์แอนติเจนแบคทีเรียอย่างมาก และอาจเกาะกับตัวรับทีเซลล์โดยตรง เรารายงานเพิ่มเติมถึงเรเพอร์ทัวร์ของตัวรับทีเซลล์ที่บิดเบือนในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีภาวะอักเสบมากผิดปกติขั้นรุนแรง ซึ่งสนับสนุนผลของซูเปอร์แอนติเจนดังกล่าว สิ่งที่น่าสนใจคือ ไม่พบลักษณะเด่นซึ่งคล้ายซูเปอร์แอนติเจนในโคโรนาไวรัสตระกูลโรคซาร์สชนิดอื่นๆ ซึ่งอาจเป็นเหตุผลที่ SARS-CoV-2 มีความสามารถเฉพาะตัวในการก่อให้เกิดทั้ง MIS-C และการผลิตไซโตไคน์จำนวนมาก ซึ่งพบได้ในโรคโควิด 19 ในผู้ใหญ่

### บทคัดย่อ

กลุ่มอาการอักเสบหลายระบบในเด็ก (MIS-C) ซึ่งเกี่ยวข้องกับโควิด 19 เป็นภาวะซึ่งเพิ่งเป็นที่รู้จักในเด็กที่ติดเชื้อโคโรนาไวรัสก่อโรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง 2 (SARS-CoV-2) เมื่อไม่นานมานี้ ผู้ป่วยซึ่งเป็นเด็กและผู้ใหญ่ที่มีภาวะอักเสบมากผิดปกติขั้นรุนแรงเหล่านี้ปรากฏกลุ่มอาการต่างๆ ที่คล้ายคลึงอย่างมากกับกลุ่มอาการที่ออกซิกซ็อก ซึ่งเป็นการเพิ่มระดับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบปรับตัวต่อพิษต่อเซลล์ เมื่อซูเปอร์แอนติเจนก่อโรคจับกับตัวรับทีเซลล์ (TCR) หรือโมเลกุลเมเจอร์ฮิสโตคอมแพททิบิลิตีคอมเพล็กซ์คลาส II (MHCII) ในที่นี้เราใช้โมเดลการคำนวณทางคณิตศาสตร์อิงโครงสร้างเพื่อแสดงให้เห็นว่าไกลโคโปรตีนส่วนหนาม (S) ของ SARS-CoV-2 แสดงลักษณะเด่นของความสามารถจับตัวรับทีสูงสำหรับการจับ TCR และอาจก่อให้เกิดคอมเพล็กซ์สามส่วนร่วมกับ MHCII เอพิโทปยึดเกาะที่ S มีลักษณะเด่นของลำดับเฉพาะตัวของ SARS-CoV-2 (ไม่พบในโคโรนาไวรัสโรคซาร์สชนิดอื่นๆ) ซึ่งมีทั้งลำดับและโครงสร้างที่คล้ายคลึงอย่างมากกับซูเปอร์แอนติเจนแบคทีเรีย สเตฟฟีโลคอคคัส เอนเทอโรทอกซิน บี อันตรกิริยาระหว่างไวรัสและทีเซลล์ของมนุษย์ดังกล่าวอาจได้รับการส่งเสริมจากการกลายพันธุ์ที่พบได้ยาก (D839Y/N/E) จาก SARS-CoV-2 สายพันธุ์ยุโรป นอกจากนี้ ส่วนสัมผัสยังมีสิ่งตกค้างบางอย่างจากลักษณะเด่นคล้ายโมเลกุลยึดเกาะระหว่างเซลล์ (ICAM) ซึ่งพบร่วมกันในไวรัสโรคซาร์สจากการระบาดใหญ่ในปี 2003 และ 2019 ลักษณะเด่นของลำดับที่คล้ายพิษต่อระบบประสาทที่ส่วนยึดจับตัวรับยังแสดงถึงแนวโน้มสูงในการยึดเกาะ TCR อีกด้วย การวิเคราะห์เรเพอร์ทัวร์ TCR ในผู้ป่วยโควิด 19 ที่เป็นผู้ใหญ่บ่งชี้ว่าผู้ที่เป็นโรคภาวะอักเสบมากผิดปกติขั้นรุนแรงแสดงออกถึงการบิดเบือนของ TCR ซึ่งสอดคล้องกับการสั่งงานเนื่องจากซูเปอร์แอนติเจน ข้อมูลเหล่านี้บ่งบอกว่าส่วน S ของ SARS-CoV-2 อาจมีบทบาทเป็นซูเปอร์แอนติเจนซึ่งการกระตุ้นการพัฒนาของ MIS-C

รวมไปถึงการผลิตไซโตไคน์จำนวนมากในผู้ป่วยโควิด 19 ที่เป็นผู้ใหญ่ ซึ่งมีนัยสำคัญสำหรับการพัฒนาวิธีการบำบัด

โคโรนาไวรัสก่อโรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง 2 (SARS-CoV-2) ไวรัสก่อโรคโควิด 19 เป็นเบตาโคโรนาไวรัส ( $\beta$ -CoV) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิดกับ SARS-CoV และโรคทางเดินหายใจตะวันออกกลาง (MERS)-CoV (1) โควิด 19 สามารถทำให้ผู้ใหญ่มีอาการอักเสบของผนังถุงลมปอดชั้นรุนแรงร่วมกับภาวะอักเสบมากผิดปกติ ขณะที่อาการแสดงเกี่ยวกับการหายใจชั้นรุนแรงจะพบได้น้อยในเด็ก (2-4) อย่างไรก็ตาม เมื่อไม่นานมานี้มีการพบกลุ่มอาการอักเสบหลายระบบ (MIS-C) ในเด็ก ในผู้ป่วยทั้งที่ได้ผลตรวจโควิด 19 เป็นบวก (ด้วยวิธี PCR หรือวิธีทางซีรัมวิทยา) หรือมีความเชื่อมโยงทางระบาดวิทยากับโควิด 19 (5-7) หลังจากที่มีการรายงานเบื้องต้นในสหราชอาณาจักร (5) ก็มีการรายงานเคสจำนวนมากในยุโรป (6, 7) และนิวยอร์ก (ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรค) อย่างไรก็ตาม ไม่มีการรายงานเคสดังกล่าวในประเทศจีน ญี่ปุ่น หรือเกาหลีใต้ ซึ่งได้รับผลกระทบอย่างรุนแรงจากการระบาดใหญ่ของโควิด 19 เช่นกัน (ศูนย์ป้องกันและควบคุมโรคแห่งสหภาพยุโรป)

อาการแสดงของ MIS-C ได้แก่ มีไข้ตลอดเวลา และมีภาวะอักเสบมากผิดปกติซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบอวัยวะหลายส่วน รวมถึงอาการทางหัวใจ ระบบทางเดินอาหาร (GI) ไต ระบบเลือด ผิวหนัง และทางประสาทวิทยา (5-7) อาการเหล่านี้ทำให้นักถึงกลุ่มอาการที่ออกซิกซ็อก (TSS) (8, 9) (ตารางที่ 1) มากกว่าโรคคาวาซากิ (KD) เนื่องจากความแตกต่างที่เด่นชัดในทางสถิติประชากรทางคลินิก และในห้องทดลอง (6) ที่จริงแล้ว กรณีศึกษาย้อนกลับแบบไม่มีตัวควบคุมเมื่อไม่นานมานี้ได้สรุปว่า MIS-C ไม่เหมือนกับ KD และกลุ่มอาการซ็อก KD (10) ความคล้ายคลึงกับ TSS และความเชื่อมโยงของ MIS-C ต่อโควิด 19 ทำให้เราสันนิษฐานว่า SARS-CoV-2 อาจมีชิ้นส่วนซูเปอร์แอนติเจนที่เหนี่ยวนำการอักเสบเป็นลำดับ และอาจมีส่วนร่วมในภาวะอักเสบมากผิดปกติและการผลิตไซโตไคน์จำนวนมากซึ่งพบในผู้ป่วยโควิด 19 ซึ่งเป็นผู้ใหญ่ที่มีอาการรุนแรง (3, 4) คำถามของเราก็คือ ส่วนหนาม (S) ของ SARS-CoV-2 มีชิ้นส่วนซูเปอร์แอนติเจนที่อาจนำไปสู่ปฏิกิริยาดังกล่าวเมื่อจับกับโปรตีนที่เกี่ยวข้องในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบปรับตัวต่อพิษต่อเซลล์ของโฮสต์หรือไม่? ปฏิกิริยาดังกล่าวไม่พบในของของ SARS-CoV เมื่อปี 2003 (ต่อไปนี้จะเรียกว่า SARS1) อะไรคือความเฉพาะตัวของ SARS-CoV-2 และการกลายพันธุ์ที่ส่วน S ของ SARS-CoV-2 เมื่อไม่นานมานี้มีส่วนต่อความอันตรายของเชื้อที่สูงขึ้นหรือไม่?

## ตารางที่ 1

ความคล้ายคลึงระหว่างลักษณะทางคลินิกและในห้องทดลองของ MIS-C และ TSS ในเด็ก

ลักษณะทางคลินิก	<a href="#">MIS-C*</a>	<a href="#">TSS ในเด็ก†</a>
ไข้สูง	+	+
ผื่นที่ผิวหนัง	+	+
เยื่อบุตาอักเสบ	+	+
ความผิดปกติของเยื่อบุช่องปาก	+	+
ปวดกล้ามเนื้อ	+	+
ความดันโลหิตต่ำ	+	+
ความผิดปกติของกล้ามเนื้อหัวใจ (ทำหน้าที่ผิดปกติ)	+	+
อาการเกี่ยวกับกระเพาะอาหารและลำไส้ (อาเจียน ท้องเสีย ปวดท้อง)	+	+
ความผิดปกติของไต	+	+
อาการ CNS ความรู้สึกตัวเปลี่ยนแปลง	+	+
ปวดศีรษะ	+	+
โปรตีนตอบสนอง C (CRP) สูง	+	+
เฟอร์ริตินสูง	+	+
IL-6 สูง	+	+
ดีไดเมอร์สูง	+	+
โปรแคลซิโทนินสูง	+	+
ลิมโฟไซต์ต่ำ	+	+
จำนวนเกล็ดเลือดลดลง	+	+
จำนวนนิวโทรฟิลเพิ่มขึ้น	+	+
แอสพาเทอะมีโนทรานสเฟอเรส (AST) และอะลานินทรานซามิเนส (ALT) เพิ่มขึ้น	+	+
โปรเนตริยูเรติกเปปไทด์ชนิดบี (pro-BNP) สูง	+	NA
โทรโปนินสูง	+	NA
การแยกแยะที่เรื้อรียนำ TSS (สแตฟฟีโลคอคคัส หรือ สเตรปโตคอคคัส)	-	+
NA หมายถึงไม่เกี่ยวข้อง; + แสดงถึงความเชื่อมโยงกับเคสที่รายงาน; - หมายถึงไม่มีความเชื่อมโยง		
<a href="#">↪* จากข้อมูลอ้างอิง 5 ถึง 7</a>		
<a href="#">↪† จากข้อมูลอ้างอิง 8, 9, 61 และ 62</a>		

TSS อาจเกิดจากซูเปอร์แอนติเจน (SAg) สองชนิด): แบคทีเรียหรือไวรัส ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับ SAg ที่เป็นแบคทีเรียอย่างครอบคลุม ซึ่งรวมถึงโปรตีนที่ขับจาก *สแตฟฟีโลคอคคัส อเรียส* และ *สเตรปโตคอคคัส ไพโอจีเนส* ซึ่งกระตุ้นการผลิตไซโตไคน์การอักเสบจำนวนมากและที่ออกซิกซ็อก ตัวอย่างทั่วไปได้แก่ TSS ทอกซิน 1 และ สแตฟฟีโลคอคคัสเอนเทอโรทอกซิน B (SEB) และ H (SEH) ซึ่งออกฤทธิ์สูงในการกระตุ้นทีเซลล์ซึ่งสามารถจับยึดกับโมเลกุลเมเจอร์ฮิสโตคอมแพททาบิลิตีคอมเพล็กซ์ (MHC) คลาส II (MHCII) และตัวรับทีเซลล์ (TCR) ทั้งของทีเซลล์ CD4+ และ CD8+ ความสามารถของ SAg ในการบypassความจำเพาะของแอนติเจนของ TCRs ส่งผลให้มีการส่งงานที่เซลล์เป็นวงกว้างและการผลิตไซโตไคน์จำนวนมาก และนำไปสู่กลุ่มอาการที่ออกซิกซ็อก ([11](#), [12](#)) ที่สำคัญคือ SAg ไม่จับกับช่องจับยึดเปปไทด์หลัก (แอนติเจน) ของ MHCII แต่จับกับบริเวณอื่นๆ รวมถึง  $\alpha\beta$ TCR โดยตรง ขณะที่ศึกษาในช่วงเริ่มแรกแสดงให้เห็นว่า SAg แบคทีเรียส่งงานที่เซลล์โดยการจับกับสายโซ่  $\beta$  ของไโดเมอร์ TCR ที่บริเวณแปรผัน (V) ([13](#)–[15](#)) ซึ่งการศึกษาหลังจากนั้นเปิดเผยว่าพวกมันสามารถจับกับสายโซ่  $\alpha$  หรือ  $\beta$  หรือทั้งสองสาย ([16](#)) ดังนั้น คำถามคือ ส่วน S ของ SARS-CoV-2 มีชิ้นส่วนหรือบริเวณซูเปอร์แอนติเจนที่สามารถจับกับ TCR ได้หรือไม่?

ในที่นี้เราใช้โมเดลการคำนวณทางคณิตศาสตร์เพื่อระบุว่าส่วน S ของ SARS-CoV-2 มีชิ้นส่วนและกิจกรรมที่คล้าย SAg หรือไม่ เราแสดงให้เห็นว่าส่วนแทรกโพลีเปปไทด์ที่ปรากฏในส่วน S ของ SARS-CoV-2 ซึ่งไม่มีในไกลโคโปรตีนส่วน S ของ  $\beta$ -CoV ที่เกี่ยวข้องกับโรคซาร์สชนิดอื่นๆ เป็นตัวกลางในการจับกับ TCR โดยไม่เจาะจงและมีความสามารถจับตัวรับสูง โดยเฉพาะลักษณะเด่นของกรดอะมิโน ~20 ซึ่งล้อมส่วนแทรกดังกล่าวและพบได้เฉพาะใน SARS-CoV-2 มีลักษณะของลำดับและโครงสร้างที่คล้ายคลึงอย่างมากกับของทอกซิน SEB การวิเคราะห์ของเราสามารถระบุเพิ่มเติมว่าการกลายพันธุ์ที่ส่วน S ของ SARS-CoV-2 ซึ่งตรวจพบในสายพันธุ์ยุโรปอาจมีส่วนปรับปรุงการจับ TCR นอกจากนี้ การวิเคราะห์กลุ่มร่วมรุ่นผู้ป่วยโควิด 19 ที่เป็นผู้ใหญ่ยังเปิดเผยว่า ผู้ที่เป็นโรควะอักเสบมากผิดปกติขั้นรุนแรงแสดงออกถึงการบิดเบือนของเรเพอร์ทัวร์ TCR ซึ่งสอดคล้องกับกิจกรรมของ SAg ดังนั้น สิ่งที่เราพบเหล่านี้จึงมีความหมายโดยนัยที่สำคัญสำหรับการจัดการและการรักษาผู้ป่วยทั้งโรค MIS-C และโควิด 19 ที่มีกลุ่มอาการภาวะอักเสบมากผิดปกติ

## ผลลัพธ์และการอภิปราย

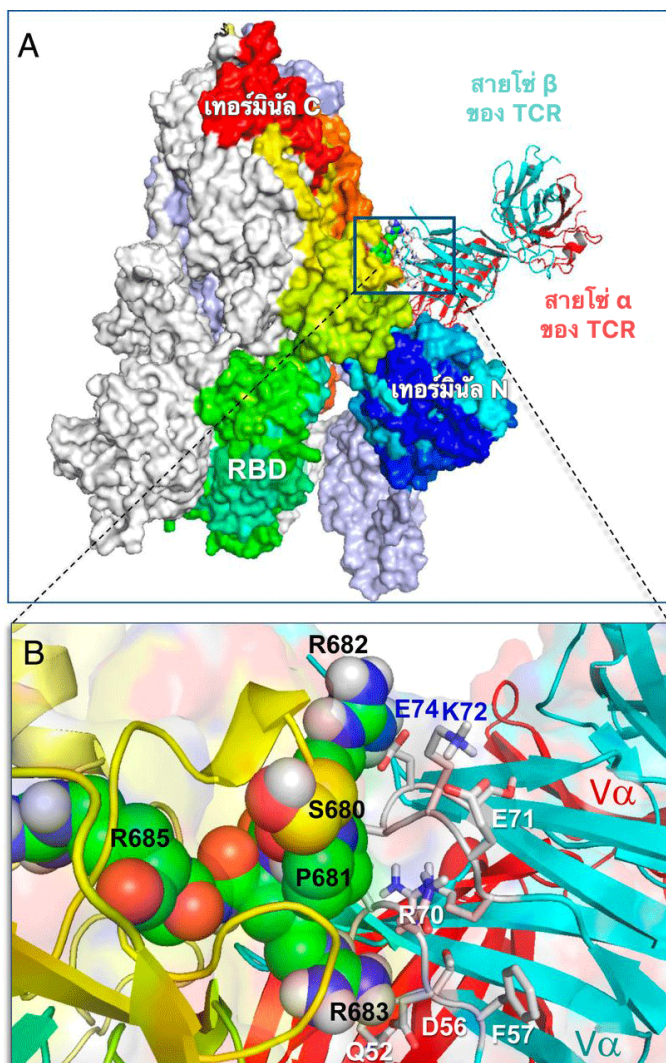
ส่วนหนามของ SARS-CoV-2 มีไซต์ที่มีความสามารถจับตัวรับสูงสำหรับการจับสายโซ่  $\beta$  ของ TCR ซึ่งมีการแทรก P<sub>681</sub>RRA<sub>684</sub> ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของ SARS2

ก่อนอื่นเราได้ตรวจสอบว่าส่วน S ของ SARS-CoV-2 สามารถจับกับสายโซ่  $\alpha$  หรือ  $\beta$  ของ TCR ได้หรือไม่ ตามวัตถุประสงค์ดังกล่าว เราได้สร้างโมเดลเชิงโครงสร้างสำหรับส่วนหนามของ SARS-CoV-2 โดยอ้างอิงโครงสร้างที่ระบุด้วยกล้องจุลทรรศน์ไครโออิเล็กทรอนิกส์ (cryo-EM) สำหรับไกลโคโปรตีนส่วน S ([17](#)) จากนั้นเราใช้โครงสร้างเอ็กซ์เรย์ของ  $\alpha\beta$ TCR ซึ่งระบุได้ในคอมเพล็กซ์สามส่วนซึ่งมี SEH และ MHCII ([16](#)) เพื่อสร้างชุดโมเดลเชิงโครงสร้างสำหรับการก่อคอมเพล็กซ์ S–TCR ของ SARS-CoV-2 ที่เป็นไปได้ โดยใช้ ClusPro ([18](#)) การจำลองของเราเปิดเผยถึงไซต์จับ TCR ที่เป็นไปได้มากที่สุดสองไซต์ที่แต่ละโมโนเมอร์ของ S: ไซต์หนึ่งที่ส่วนยึดจับตัวรับ (RBD; ส่วนคงเหลือ R319 ถึง K529) และอีกไซต์หนึ่งใกล้กับคลีเวจไซต์ S1/S2 ระหว่างซับยูนิต S1 และ S2 ไซต์แรกสามารถพบได้ในส่วน S ของ SARS1 และ MERS-CoV เช่นกัน ในขณะที่ไซต์ที่สองเป็นลักษณะเฉพาะตัวของส่วน S ของ SARS-CoV-2 ซึ่งพบได้มาก ตามที่ได้อธิบายไว้โดยละเอียดใน *ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S1 และ S2* ดังนั้น เราจึงมุ่งเน้นไซต์ที่สอง ซึ่งแสดงใน

[ภาพประกอบ 1A](#) เนื่องจากเป็นกลไกที่มีความเป็นไปได้มากที่สุดของการก่อคอมเพล็กซ์ซึ่งทำให้ส่วน S ของ SARS-CoV-2 แตกต่างไปจาก  $\beta$ -CoV ชนิดอื่นๆ มุมมองระยะใกล้ของส่วนสัมผัสระหว่าง S และ TCRV $\beta$  ([ภาพประกอบ 1B](#)) เผยให้เห็นถึงอันตรกิริยาระหว่างอะตอมที่เด่นชัดซึ่งเกี่ยวข้องกับส่วนคงเหลือ S680-R683 ของส่วนหนามและส่วนคงเหลือ Q52, D56, R70 ถึง E74 (CDR2) และ S96 ถึง Q103 (CDR3) ของ V $\beta$

## ภาพประกอบ 1.

การจับของ TCR เข้ากับไตรเมอร์ส่วนหนามของ SARS-CoV-2 ใกล้กับส่วนแทรก "PRRA" ภาพแสดง (A) โดยรวม และ (B) ระยะใกล้ของคอมเพล็กซ์และอันตรกิริยาส่วนสัมผัส ในภาพ A โมโนเมอร์ส่วนหนามแสดงด้วยสีขาว ฟ้า/เทา และไล่ระดับสีจากสีน้ำเงิน (บริเวณเทอร์มินัล N) จนถึงสีแดง ซึ่งทั้งหมดแสดงไว้เพื่อแสดงถึงพื้นผิวมีปฏิกิริยากับเทอร์มินัล N และ C และ RBD ของโมโนเมอร์ที่แสดงโดยไล่ระดับสีที่สามารถจับกับ TCR เช่นกัน และเพื่อให้แสดงด้วยภาพได้ดียิ่งขึ้น ไตรเมอร์ส่วน S จะหันไปในทิศทางซึ่ง RBD อยู่ด้านล่าง สายโซ่  $\alpha$  และ  $\beta$  ของ TCR คือเส้นแถบสีแดงและสีฟ้า ในภาพ B ส่วน S<sub>680</sub>PPRAR<sub>685</sub> รวมถึงส่วนแทรก PRRA และคลีเวจไซต์ R685 ซึ่งถูกรักษาไว้เป็นอย่างดี จะแสดงด้วยรูปแบบแวนเดอร์วาลส์ (ตัวอักษรสีดำ); ส่วนคงเหลือ CDR ใกล้เคียงของบริเวณ V $\beta$  ของ TCR จะกำกับด้วยตัวอักษรสีน้ำเงิน/สีขาว โปรดดูข้อมูลเพิ่มเติมใน [ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S1](#)

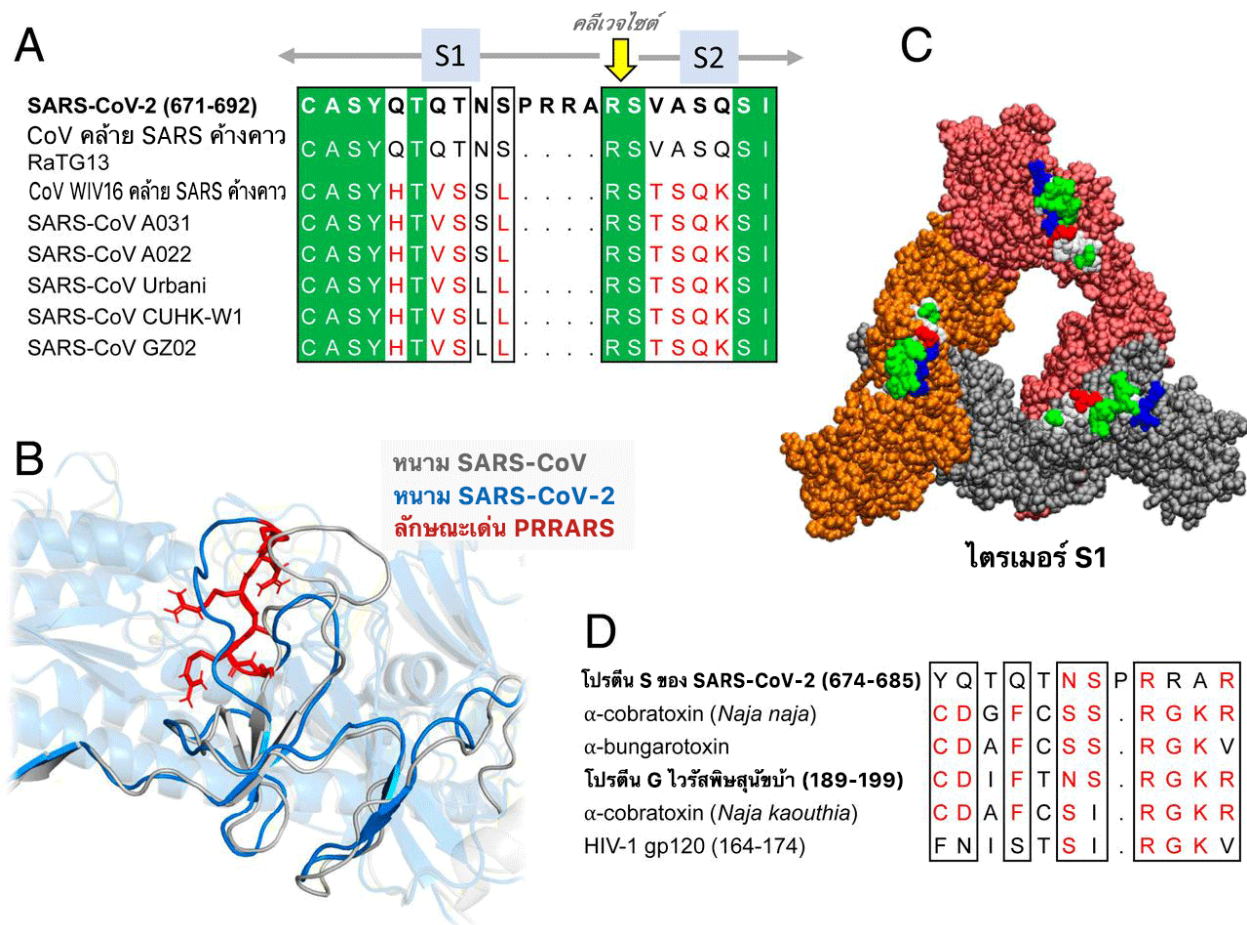




เราสังเกตว่าเอพิโทปจับ TCRV $\beta$  ที่ส่วน S ของ SARS-CoV-2 อยู่ที่ตำแหน่งกลาง ลักษณะเด่นลำดับ P<sub>681</sub>RRA<sub>684</sub> (ต่อจากนี้จะเรียกว่า PRRA) และมีส่วนข้างเคียงเชิงลำดับ และเชิงพื้นที่ของลักษณะเด่นดังกล่าว การเปรียบเทียบกับลำดับ S ของ  $\beta$ -CoV ชนิดอื่นๆ แสดงให้เห็นว่า (19) สามารถแยกแยะส่วน S ของ SARS-CoV-2 ได้จากการคงอยู่ของส่วนแทรกส่วนคงเหลือทั้งสี่ส่วนนี้ PRRA คลัสเตอร์ไฮโดรโฟบิกซึ่งมีอยู่ก่อน S1/S2 (พันธะเปปไทด์ R685–S686) (ภาพประกอบ 2A) การเปรียบเทียบเชิงโครงสร้างของไกลโคโปรตีนส่วน S ระหว่าง SARS1 และ SARS-CoV-2 เพิ่มเติมยังแสดงถึงความคล้ายคลึงเชิงโครงสร้างโดยทั่วไป [ยกเว้น RBD ที่เกี่ยวข้องกับอันตรกิริยาการสัมผัสที่เจาะจง (17)] แต่ไกลโคโปรตีน S สองส่วนมีความแตกต่างที่ชัดเจนใกล้กับลักษณะเด่น PRRA ที่พบเฉพาะใน SARS-CoV-2 ซึ่งมองเห็นได้จากภายนอก (ภาพประกอบ 2B) ที่น่าสนใจคือ การปรากฏสู่ภายนอกของลักษณะเด่นดังกล่าวและส่วนข้างเคียงลำดับใกล้เคียงยังถูกเน้นให้ชัดเจนยิ่งขึ้นด้วยไตรเมอร์ S1 (ภาพประกอบ 2C) ซึ่งจับหลังจากการตัดแบ่งโดยโปรตีเอสของมนุษย์ (TMPRSS2 หรือฟูริน) เพื่อให้สามารถส่งงานฟิวชันไตรเมอร์ของหน่วย S2 ได้

## ภาพประกอบ 2.

คุณสมบัติเชิงลำดับและโครงสร้างของส่วนแทรก PRRA (A และ B) SARS-CoV-2 จะเข้ารหัสทั้งคลีเวจไซต์และลักษณะเด่นที่คล้าย SAg (20) ใกล้เคียงกับ PRRA แทรก ซึ่งทำให้แตกต่างไปจาก  $\beta$ -CoV ที่เกี่ยวข้องกับโรคซาร์สทั้งหมด (A) การจัดเรียงลำดับของ SARS-CoV-2 และสายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับโรคซาร์สจำนวนมาก (1) ใกล้เคียงกับ PRRA แทรก (B) การจัดเรียงโครงสร้างของ SARS-CoV-2 และ SARS1 ที่บริเวณเดียวกัน ลักษณะเด่น PRRARS แสดงด้วยแท่งสีแดง (C) ไตรเมอร์ส่วน S ของ SARS-CoV-2 ประกอบด้วยซับยูนิต S1 เท่านั้น โพรโตเมอร์จะแสดงด้วยสีส้ม แดง และเทา และแสดงด้วยรูปแบบแวนเดอร์วาลส์ ส่วนคงเหลือไฮโดรโฟบิก ไฮโดรฟิลิก เป็นกรด และเป็นด่าง ในลักษณะเด่นที่ยื่นออก E661 ถึง R685 แสดงด้วยสีขาวย เขียว แดง และน้ำเงิน ตามลำดับ (D) ความคล้ายคลึงเชิงลำดับระหว่างส่วนข้างเคียงของส่วนแทรก PRRA ลักษณะเด่นพิษต่อระบบประสาทที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ (20) และลักษณะเด่นซูเปอร์แอนติเจน gp120 ของ HIV-1 (63) อยู่ในแถวสุดท้าย





การตรวจสอบเพิ่มเติมสำหรับลักษณะเด่นใกล้เคียง PRRA เผยให้เห็นความคล้ายคลึงเชิงโครงสร้างที่ชัดเจนกับซูเปอร์แอนติเจน SEB รวมถึงความคล้ายคลึงเชิงลำดับกับพิษต่อระบบประสาทและ SAg ไวรัส

PRRA แทรก พร้อมด้วยส่วนคงเหลือซึ่งมีอยู่ก่อนเชิงลำดับเจ็ดส่วน และ R685 ที่สืบทอด (ถูกรักษาไว้ใน  $\beta$ -CoV ชนิดต่างๆ) ก่อตัวเป็น Y<sub>674</sub>QTQTNSPRRAR<sub>685</sub> มีต้นกำเนิดเดียวกับพิษต่อระบบประสาทจาก *Ophiophagus* (งูเห่า) และ *Bungarus genera* รวมถึงบริเวณที่คล้ายพิษต่อระบบประสาทจาก RABV สามสายพันธุ์ (20) (ภาพประกอบ 2D) เราได้สังเกตเพิ่มเติมว่าชิ้นส่วนเดียวกันมีความคล้ายคลึงอย่างมากกับลักษณะเด่น F164 ถึง V174 ของ SAg gp120 ของไกลโคโปรตีน HIV-1 ความคล้ายคลึงเชิงลำดับที่เด่นชัดดังกล่าวกับทั้ง SAg แบบที่เรื้อรังและไวรัส เป็นการสนับสนุนลักษณะซูเปอร์แอนติเจนที่อาจมีอยู่ของช่วง Y674 ถึง R685 ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 ทำให้เราทำการวิเคราะห์เพิ่มเติมเกี่ยวกับลำดับและโครงสร้างเฉพาะส่วน

การวิเคราะห์ของเราทำให้ทราบถึงความคล้ายคลึงเชิงลำดับที่น่าสนใจระหว่างชิ้นส่วน T678 ถึง Q690 ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 และเปปไทด์ซูเปอร์แอนติเจน SEB ที่ T<sub>150</sub>NKKKATVQELD<sub>161</sub> (ภาพประกอบ 3A) ลำดับโดเดคาเปปไทด์นี้แสดงถึงให้เห็นว่ามีการรักษา SAg ไว้อย่างครอบคลุม ทั้งในสแตฟฟีโลคอคคัสและสเตรปโตคอคคัส (21, 22) เราสังเกตว่าส่วนที่มีการจัดเรียงลำดับของ SARS1 (S664 ถึง K672) มีความคล้ายคลึงเพียงเล็กน้อยกับ SAg ของ SEB (ภาพประกอบ 3A ด้านซ้าย) สิ่งที่น่าสนใจกว่านั้นก็คือ ลักษณะเด่นของ SARS-Cov-2 แสดงถึงพฤติกรรมพาลินโดรมเกี่ยวกับลำดับ SEB ซูเปอร์แอนติเจนดังกล่าว โดยช่วงที่กว้างขึ้น จาก E661 ถึง R685 สามารถจัดเรียงสอดคล้องกับเปปไทด์ของ SAg โดยย้อนทิศทางได้ด้วย (ภาพประกอบ 3A ด้านขวา) ซึ่งทำให้เราสนใจถึงความอเนกประสงค์และแนวโน้มที่สูงที่ส่วนคงเหลือของไซโตจับยึด TCRV $\beta$  ที่ส่วน S ของ SARS-CoV-2 อาจนำไปสู่การตอบสนองที่คล้าย SAg

### ภาพประกอบ 3.

ส่วนแทรก “PRRA” ในส่วนหนามของ SARS-CoV-2 แสดงถึงคุณสมบัติเชิงลำดับและโครงสร้างที่คล้ายกับของซูเปอร์แอนติเจนแบบที่เรีย SEB (A) การจัดเรียงลำดับซูเปอร์แอนติเจน SEB (21) เทียบกับลำดับส่วนหนาม SARS-CoV-2 ที่มีต้นกำเนิดเดียวกัน ใกล้เคียงกับส่วนแทรก PRRA และส่วน S ของ SARS1 ที่สอดคล้องกัน การจัดเรียงได้แสดงทั้งทิศทางไปข้างหน้า (*ด้านบน*) และย้อนกลับ (*ด้านล่าง*) ตามลำดับของ SEB พึงสังเกตความคล้ายคลึงระหว่างทั้งสองส่วนก่อนหน้านี้ ขณะที่ส่วนที่สาม (SARS1 S) แสดงถึงความคล้ายคลึงกับ SARS-CoV-2 แต่ไม่คล้ายกับลำดับของ SEB กรดอะมิโนมีประจุและแอสฟารจันวิฤติซึ่งมีการรักษาไว้ในเชิงโครงสร้างระหว่างส่วน S ของ SARS-CoV-2 และ SEB ตามภาพประกอบ B และ C เขียนด้วยตัวหนาในการจัดเรียง *ด้านล่าง* (B) โครงสร้างของเปปไทด์ซูเปอร์แอนติเจน (T150-D161) ที่พบในโครงสร้างผลึกของ SEB (64) (PDB รหัสระบุ 3SEB) (C) โมเดลเชิงโครงสร้างสำหรับลักษณะเด่นพาลินโดรม E661-R685 ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 (D) บริเวณที่มีต้นกำเนิดเดียวกันในส่วน S ของ SARS1 แสดงถึงลักษณะเชิงโครงสร้างที่แตกต่างออกไปอย่างชัดเจน ลักษณะสามอย่าง (เน้นด้วยวงกลมสีชมพู น้ำเงิน และเหลือง) ไม่พบในส่วน S ของ SARS1 ลักษณะเด่นใน B และ C คือโพลีเบสิก (ไลซีนสามตำแหน่ง และอาร์จินีนสามตำแหน่งในแต่ละกรณี) ขณะที่ส่วน S ของ SARS1 มีส่วนคงเหลือพื้นฐานส่วนเดียว (R667) เท่านั้น สองชนิดแรกมี ASN ลักษณะโครง ซึ่งไม่พบใน SARS1 (E) การจัดเรียงเชิงโครงสร้างของ CD28 ตัวรับซึ่งจับกับ SEB ที่บริเวณ TCRV $\beta$  ซึ่งสนับสนุนความสามารถในการปรับเปลี่ยนของไซโต SAg ที่คาดว่าเอื้ออำนวยอันตรกิริยาของส่วนหนามต่อ TCRV $\beta$  หรือ SEB-CD28

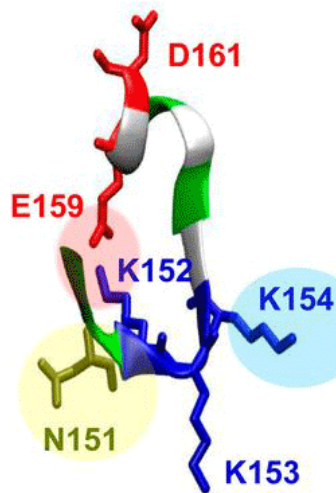
A

SEB SAg:	(150) TN-KKKATVQELD (161)
SARS-CoV-2:	(678) TNSP <b>RR</b> ARSVASQ (690)
SARS-CoV:	(664) SLL----RSTSQK (672)

Inv SEB SAg:	(161) <b>DLE</b> -----QVTA- <b>KKK</b> NT (150)
SARS-CoV-2:	(661) <b>ECD</b> IPIGAGICASYQT <b>Q</b> -TNSP <b>RR</b> AR (685)
SARS-CoV:	(647) <b>ECD</b> IPIGAGICASYHTVSLL-----R (667)

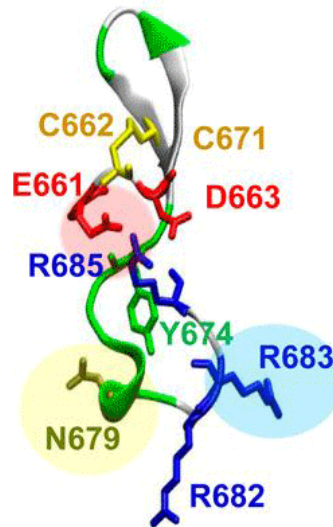
B

SEB (150-161)



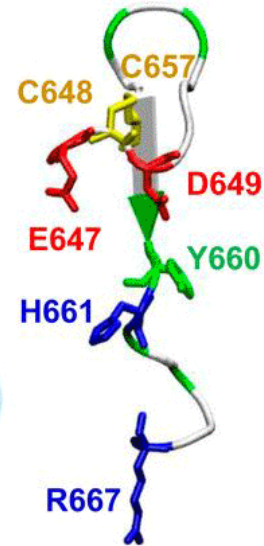
C

SARS-CoV-2 S (661-685)

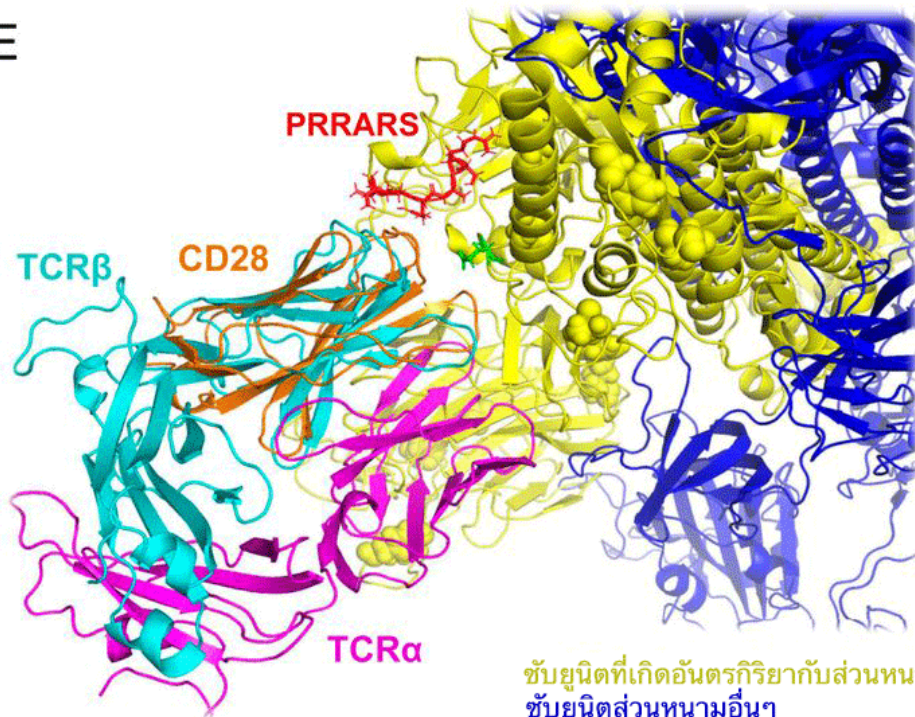


D

SARS1 S (647-677)



E



หน่วยที่เกิดอันตรกิริยากับส่วนหนาม  
หน่วยส่วนหนามอื่นๆ

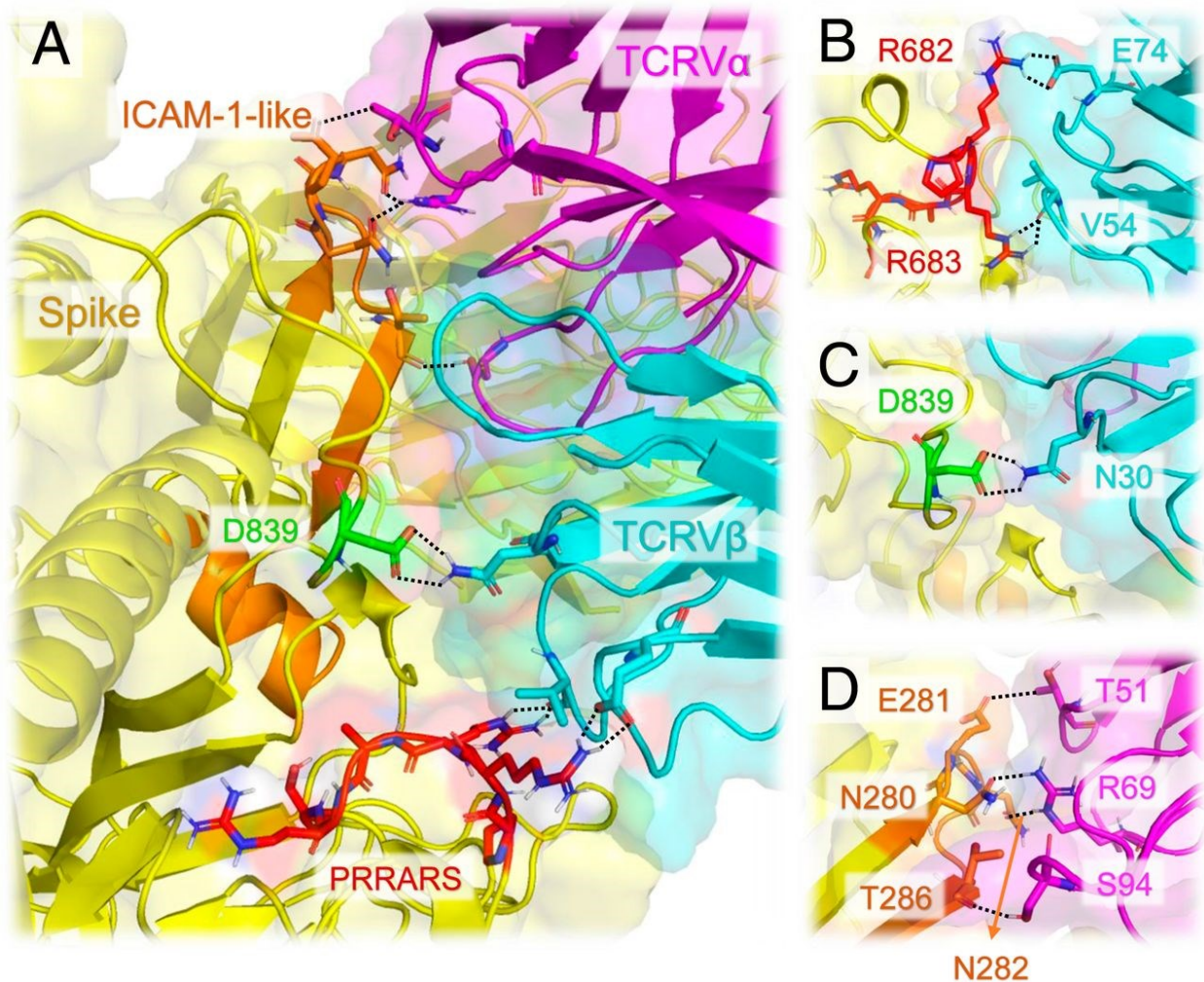
ที่สำคัญคือ โครงสร้างของส่วนที่คล้าย SAg ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 และของเปปไทด์ SEB แสดงถึงความคล้ายคลึงกันอย่างเด่นชัด ([ภาพประกอบ 3 B และ C](#)): สะพานเกลือ (E159–K152 ใน SEB และ E661–R685 ในส่วน S ของ SARS-CoV-2) ช่วยให้ลักษณะเด่นเชิงโครงสร้างทั้งสองชนิดเสถียร ทิศทางสัมพัทธ์ของส่วนคางเหลืองที่มีประจุบวกสามส่วน (K152, K153 และ K154 ใน SEB และส่วน R682, R683 และ R685 ในส่วน S ของ SARS-CoV-2) ถูกรักษาไว้ และแอสพาราจีน (N151 ใน SEB, N679 ใน SARS-CoV-2) ทำให้ลักษณะเด่นดังกล่าวสมบูรณ์ ลักษณะทั้งสามอย่างนี้ไม่พบในส่วน S ของ SARS1 ([ภาพประกอบ 3 D](#)) สาย  $\beta$  ซึ่งดูเหมือนทำหน้าที่เป็นโครงถูกรักษาไว้ในส่วนหนามทั้งสามส่วน และเราสังเกตเห็นคู่หนึ่งซึ่งอาจก่อพันธะไดซัลไฟด์ในส่วนหนามของ SARS-CoV-2 และ SARS1 (C662–C671 และ C648–C657 ตามลำดับ)

การวิเคราะห์นี้สรุปโดยรวมว่า ชิ้นส่วน T<sub>678</sub>NSPRRAR<sub>685</sub> อาจก่อให้เกิดแกนซูเปอร์แอนติเจนซึ่งมีการกล่าวถึง ซึ่งจัดเรียงอย่างสอดคล้องกับ SAg แบบที่เรียหรือไวรัสชนิดต่างๆ ([ภาพประกอบ 2 C และ 3 A–C](#)) ไม่ว่าจะมีการดอมีโนข้างเคียงร่วมด้วยหรือไม่ อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์รวมสำหรับลำดับและโครงสร้างในระดับที่กว้างยิ่งขึ้นใน [ภาพประกอบ 3 A \(ด้านขวา\) และ B และ C](#) เผยให้เห็นถึงลักษณะที่น่าสนใจยิ่งกว่านั้น: แกน SAg ซึ่งมีการกล่าวถึงนี้ มีโครงสร้างที่ประกอบขึ้นจากส่วนที่อยู่ใกล้เคียงเป็นส่วนที่เป็นกรดซึ่งถูกรักษาไว้ E<sub>661</sub>CD<sub>663</sub> ซึ่งก่อตัวเป็นสะพานเกลือที่มีความเสถียรมาก โดยมีส่วนโพลีเบสิก PRRAR ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 ในลักษณะเดียวกับสะพานเกลือที่พบใน SEB (แต่ไม่พบในส่วน S ของ SARS1) เสริมด้วยแอสพาราจีนที่พบร่วมกันระหว่างส่วน S ของ SARS-CoV-2 และ SEB (แต่ไม่พบในส่วน S ของ SARS1) และลักษณะของ SAg อาจได้มาจากลักษณะโครงของโครงสร้างชนิดนี้

เราทราบถึงการรายงานว่าเปปไทด์ซูเปอร์แอนติเจน SEB Y<sub>150</sub>NKKKATVQELD<sub>161</sub> สามารถจับกับ CD28 ([21](#)) TCR ที่ให้สัญญาณร่วมกระตุ้นซึ่งจำเป็นสำหรับการสั่งงานและการอยู่รอดของทีเซลล์บริเวณ CD28 และ TCRV มีรูปทรงทบ (อิมมูโนโกลบูลิน, Ig) ([ภาพประกอบ 3 E](#)) และกลไกการจับซึ่งแสดงใน [ภาพประกอบ 1 B](#) สามารถปรับได้ โดยการจัดลำดับใหม่เพียงเล็กน้อย เพื่อมีอันตรกิริยากับโมเลกุลรูปทรงทบ Ig อื่นๆ รวมถึงสารภูมิต้านทานยับยั้งเชื้อ เนื่องจากส่วนซูเปอร์แอนติเจนที่มีต้นกำเนิดเดียวกันของ SEB ซึ่งจับกับ CD28 เราจึงทำการทดสอบศักยภาพของส่วนคางเหลือง E661 ถึง R685 ของส่วนหนามของ SARS-CoV-2 ในการจับกับ CD28 ด้วย การจำลองของเราบ่งบอกว่าส่วนเดียวกันสามารถจับกับ CD28 ได้เท่าเทียมกัน ซึ่งสนับสนุนแนวโน้มที่ชัดเจนว่าส่วนดังกล่าวอาจกระตุ้นการสั่งงานทีเซลล์ได้



ลักษณะเด่นที่คล้าย ICAM-1 ซึ่งพบร่วมกันระหว่างส่วนหนามของ SARS1 และ SARS-CoV-2 มีปฏิสัมพันธ์กับ TCRV $\alpha$  ซึ่งช่วยให้คอมเพล็กซ์ S-TCR เสถียรยิ่งขึ้น การพบโมเลกุลที่อาจเป็นซูเปอร์แอนติเจน เป็นพิษ หรือคล้ายโมเลกุลยึดเกาะระหว่างเซลล์ (ICAM) ใน SARS1 ได้รับการตรวจสอบอย่างละเอียดโดย Li และคณะ (23) หลังจากการระบาดใหญ่เมื่อปี 2003 ซึ่งนำไปสู่การระบุช่วงลำดับเก่าช่วง รวมถึงตัวตั้งต้นของพิษต่อระบบประสาท *โบทูลินัม* ประเภท D หรือ G สามชนิด และลักษณะเด่นสองชนิดที่คล้ายคลึงกับ ICAM-1 อย่างมาก การวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบกับลำดับของส่วน S ของ SARS-CoV-2 เปิดเผยว่าลักษณะเด่นเหล่านี้ มีเจ็ดชนิดที่ถูกรักษาไว้ (มีลำดับตรงกัน >68%) ระหว่างส่วนหนามของ SARS1 และ SARS-CoV-2 (*ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S3*) ซึ่งจากทั้งหมดนี้ ลักษณะเด่นคล้าย (CD54) ของ ICAM-1 Y<sub>279</sub>NENGTITDAVDCALDPLSETKC<sub>301</sub> ยังมีส่วนในความสัมพันธ์ของระหว่างส่วนหนามของ SARS-CoV-2 และ  $\alpha\beta$ TCR อีกด้วย ดังที่แสดงใน *ภาพประกอบ 4*





ความมีส่วนร่วมของ ICAM-1 สำคัญอย่างยิ่งในการเป็นตัวกลางการตอบสนองของภูมิคุ้มกันและการอักเสบ อันตรกิริยาที่พบของลักษณะเด่นที่คล้าย ICAM-1 ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 และ TCRV $\alpha$  รวมด้วยอันตรกิริยาของลักษณะเด่น SAg ที่กล่าวถึงข้างต้น (ใกล้ส่วนแทรก PRRA) กับ TCRV $\beta$  น่าจะส่งเสริมความเกี่ยวข้องของไวรัสต่อที่เซลล์และการส่งงาน แน่นอนว่า T286 (S) มีการสัมผัสอย่างใกล้ชิดกับ S94 (CDR3); E281 (S) ก่อพันธะไฮโดรเจนกับ T51 (CDR2); และ N280 และ N282 (S) มีความเกี่ยวข้องกัน R69 อย่างใกล้ชิด ([ภาพประกอบ 4D](#))

ส่วนคล้ายพิษต่อระบบประสาทที่ RBD อาจจับกับ  $\alpha\beta$ TCR ได้เช่นกัน จึงทำให้มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันมากยิ่งขึ้น

การตรวจสอบเพิ่มเติมที่ส่วน S ของ SARS-CoV-2 ซึ่งมีต้นกำเนิดทางลำดับเดียวกับลำดับคล้ายพิษต่อระบบประสาทที่ระบุ ([23](#)) สำหรับส่วน S ของ SARS1 (แถวสีเขียว [ภาพประกอบ 5A](#)) ทำให้เกิดความสนใจที่ลักษณะเด่นสองส่วนซึ่งถูกรักษาไว้ระหว่าง CoV สองชนิด: ส่วนคงเหลือ 299 ถึง 351 ที่ S1 ของ SARS-CoV-2 ซ้อนทับเป็นบางส่วนกับ RBD และส่วนคงเหลือ 777 ถึง 807 ที่ S2 การจำลองของเราเพื่อค้นหาการยึดจับที่เป็นไปได้ของ TCR กับลักษณะเด่นที่คล้ายพิษต่อระบบประสาทเหล่านี้ แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่สูงที่ลักษณะเด่น T299 ถึง Y351 (ไซต์ที่มีความสามารถจับตัวรับสูงเป็นอันดับที่สองรองจากบริเวณ PRRA) และลักษณะเด่นเดียวกันที่พบใน SARS1 (ไซต์ที่มีความสามารถจับตัวรับสูงที่สุด) จะสามารถจับกับ TCR ได้ [ภาพประกอบ 5C](#) แสดงคอมเพล็กซ์เหล่านี้

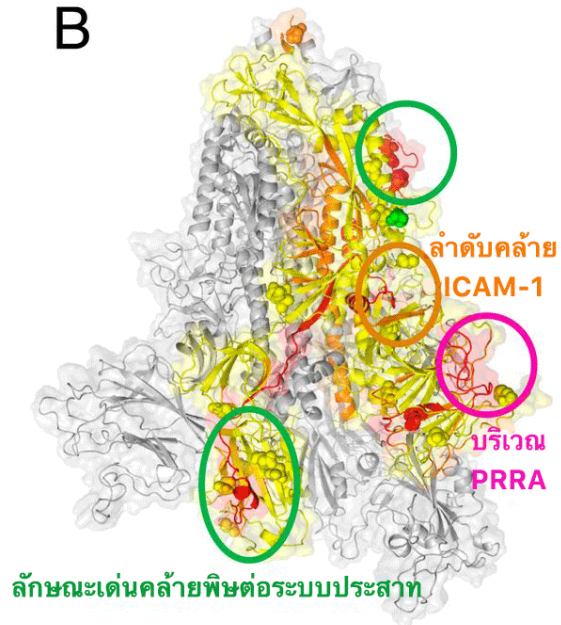
## ภาพประกอบ 5.

ลำดับคล้ายพิษต่อระบบประสาทใน RBD ส่วน S ของ SARS-CoV-2 และความสามารถในการจับกับ TCR (A) การเปรียบเทียบส่วนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพคล้ายพิษต่อระบบประสาท (สีเขียว) และส่วนคล้าย ICAM (สีส้ม) ที่ระบุได้ สำหรับ SARS1 และส่วนหนามของ SARS-CoV-2 (B) ตำแหน่งซึ่งมีบริเวณคล้ายพิษต่อระบบประสาทสองบริเวณ (ล้อมด้วยวงกลมสีเขียว) และ ICAM-1 หนึ่งบริเวณ (วงกลมสีส้ม; โปรดดู [ภาพประกอบ 4](#)) ถูกรักษาไว้ระหว่าง CoV สองชนิด ซึ่งแสดงที่โมโนเมอร์เดียว (เน้นด้วยสี่เหลี่ยม) ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 (C) ลักษณะการจับยึดของ TCR กับโปรตีนส่วน S ของ SARS-CoV-2 (ซ้าย) และ SARS1 (ขวา) มีการสัมผัสกับลักษณะเด่นพิษต่อระบบประสาทที่ถูกรักษาไว้ดังที่แสดง

A

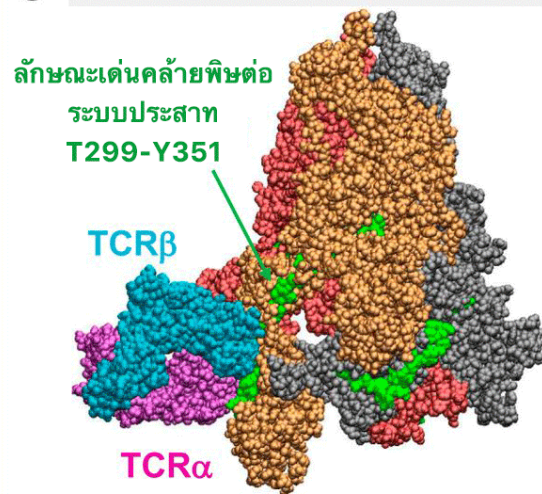
ลำดับคล้ายพืชต่อระบบประสาท และคล้าย ICAM ของส่วน S ของ SARS1 และ SARS-CoV-2		% ตรงกัน ของลำดับ
SARS1	147-173	37%
SARS-CoV-2	154-180	
SARS1	227-249	30%
SARS-CoV-2	234-262	
SARS1	266-288	74%
SARS-CoV-2	279-301	
SARS1	286-338	75%
SARS-CoV-2	299-351	
SARS1	759-789	84%
SARS-CoV-2	777-807	

B

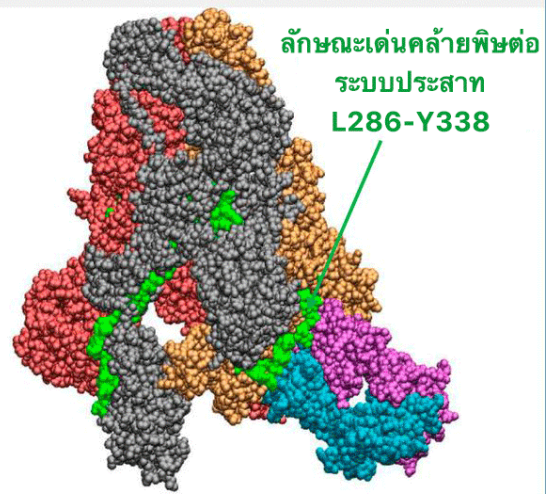


C

คอมเพล็กซ์หนาม SARS-CoV-2 กับ TCR



คอมเพล็กซ์หนาม SARS-CoV (SARS1) กับ TCR



การศึกษาเมื่อไม่นานมานี้ (24) ตรวจพบความไวปฏิกิริยาของทีเซลล์ที่มีนัยสำคัญต่อเอพิโทป 66 ชนิดของไกลโคโปรตีนส่วน S ของ SARS-CoV-2 ในผู้ที่ไม่เคยได้รับไวรัสมาก่อน ทำให้คาดการณ์ความเป็นไปได้ที่อาจเป็นการตอบสนองทางความจำซึ่งได้รับมาเมื่อได้รับ CoV ในมนุษย์ (HCoV) เช่น เชื้อหวัดทั่วไปชนิด HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-NL63 และ HCoV-229E ซึ่งมีต้นกำเนิดลำดับเดียวกับจีโนมของ SARS-CoV-2 มีการระบุเอพิโทปที่เกิดการตอบสนองข้ามชนิดทั้งหมด 142 ชนิด จากการตรวจคัดกรองเปปไทด์ 474 ชนิดในโปรตีโอมของ SARS-CoV-2 (24)

เราได้ตรวจสอบว่าบริเวณที่คล้ายพิชต่อระบบประสาทซึ่งระบุในที่นี้เป็นส่วนหนึ่งของเอพิโทปที่เกิดการตอบสนองข้ามชนิดดังกล่าวหรือไม่ โดยเฉพาะ ในเอพิโทปสี่อันดับสูงสุด (จัดอันดับตามความไวปฏิกิริยาของทีเซลล์ซึ่งตรวจวัดจากเซลล์ [SFC]/10<sup>6</sup> PBMC) ที่ก่อเกิดจุด มีสองชนิด (เปปไทด์ 321 ถึง 335 และ 316 ถึง 330) ที่เป็นของส่วนคล้ายพิชต่อระบบประสาท T299 ถึง Y351 และหนึ่งชนิด (เปปไทด์ 236 ถึง 250) เป็นของส่วน 234 ถึง 262 ที่จริงแล้วชนิดแรกล้วนอยู่ในเอพิโทปที่เกิดการตอบสนองข้ามชนิดซึ่งมีการซ้อนทับเป็นบางส่วนแปดชนิด ดังที่แสดงใน *ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S4*, ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถที่เด่นชัดของบริเวณดังกล่าวในการกระตุ้นการตอบสนองของทีเซลล์ CD4<sup>+</sup> สิ่งที่น่าสนใจเหล่านี้เป็นการสนับสนุนข้อสันนิษฐานว่าลักษณะเด่นดังกล่าวน่าจะมีมีความความสามารถสูงในการจับกับ TCR (*ภาพประกอบ 5C*)

กล่าวโดยรวมคือ เราควรให้ความสนใจลำดับคล้ายพิชต่อระบบประสาท T299 ถึง Y351 ดังกล่าวเนื่องจากอาจเป็นต้นเหตุของความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) ในผู้ป่วยโควิด 19

จากเอพิโทปทั้ง 66 ชนิด เราสามารถระบุ 661 ถึง 675 ซึ่งอยู่ภายในบริเวณคล้าย SAg E661-R685 (*ภาพประกอบ 3*) แม้ว่าจะมีความไวปฏิกิริยาและความถี่ต่ำก็ตาม การไม่ปรากฏของส่วนแทรก PRRA ในเอพิโทปที่เกิดการตอบสนองข้ามชนิดไม่ใช่เรื่องที่น่าแปลกใจ เมื่อพิจารณาว่าส่วนแทรกดังกล่าวพบได้เฉพาะในส่วน S ของ SARS-CoV-2 เท่านั้น จากบรรดา βCoV ที่เกี่ยวข้องกับโรคซาร์สทั้งหมด และความไวปฏิกิริยาข้ามชนิดเพิ่มขึ้นร่วมกับความคล้ายคลึงทางลำดับกับแอนติเจน/เปปไทด์ซึ่งผู้บริจาคตัวอย่างเคยได้รับ ลำดับที่ตรงกันระหว่าง SARS-CoV-2 และ SARS1 มี 40% ที่อยู่ในส่วน 671 ถึง 685 ของบริเวณคล้าย SAg และมีการรายงานว่ามีเปปไทด์ที่เกิดการตอบสนองข้ามชนิด 1% ที่มีลำดับตรงกัน 33 ถึง 40% (24) ในทางกลับกัน เป็นที่น่าสนใจที่ในการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้ (25) เกี่ยวกับเอพิโทปที่แสดงความไวปฏิกิริยาของทีเซลล์ที่สูง ในผู้ป่วยโควิด 19 ระดับรุนแรงซึ่งอยู่ในระยะฟื้นตัว คาดว่าเอพิโทป (680 ถึง 688) ซึ่งซ้อนทับกับส่วนที่มี PRRA ของบริเวณ SAg เป็นหนึ่งในเอพิโทปที่มีความสามารถจับกับ HLA สูงที่สุด

การกลายพันธุ์ D839Y/E ที่พบได้ยาก ซึ่งพบเมื่อไม่นานมานี้ในสายพันธุ์หนึ่งของ SARS2 จากยุโรป อาจมีส่วนร่วมในการเพิ่มเสถียรภาพให้กับอันตรกิริยากับ TCR

ที่น่าสนใจคือ บริเวณที่จับกับส่วน S ของ SARS-CoV-2 มีส่วนคงเหลือสามส่วนซึ่งเมื่อไม่นานมานี้ได้มีการรายงานการกลายพันธุ์ในสายพันธุ์ใหม่จากยุโรปและสหรัฐอเมริกา ([26](#), [27](#)): D614G, A831V และ D839Y/N/E ซึ่งสองส่วนแรกอาจมีอันตรกิริยากับ MHCII ตามโมเดลสามส่วนที่เราได้สร้างขึ้นสำหรับส่วน S ของ SARS-CoV-2, MHCII และ TCR ([ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S5](#)) ขณะที่ส่วนสุดท้าย (D839) อยู่ใกล้กับ TCRV $\beta$  และมีอันตรกิริยาที่ชัดเจนกับ N30 ([ภาพประกอบ 4 A และ C](#) และ [ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S6](#)) การเปลี่ยนทดแทน D839 ด้วยไทโรซีนยังเสริมอันตรกิริยาระหว่างส่วนหนามและ TCRV $\beta$  อีกด้วย อันตรกิริยาการสัมผัสในสายพันธุ์ผ่าเหล่า D839Y มีเสถียรภาพเนื่องจากพันธะไฮโดรเจนระหว่าง Y839 และ D32 อันตรกิริยาอะโรมาติก (มีขั้วกับ  $\pi$ ) ระหว่าง Y839 และ N30 และอาจมีอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับ K73 และ S97 การเปลี่ยนแปลงของความสามารถจับระหว่างส่วนหนามและ TCR สำหรับ D839 ที่กลายพันธุ์กับไทโรซีนคือ  $\Delta\Delta G_{D \rightarrow Y} = -0.9 \pm 0.7$  kcal/mol ซึ่งแสดงถึงการเพิ่มขึ้นของความสามารถจับประมาณสี่เท่าเมื่อแทนที่กรดแอสพาร์ติกด้วยไทโรซีนที่ตำแหน่งนี้ สำหรับสายพันธุ์ผ่าเหล่าเกิดผลเชิงคุณภาพแบบเดียวกันร่วมกับแอสพาราจีนหรือกรดกลูตามิก แต่ผลดังกล่าวอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าสำหรับรายละเอียดเกี่ยวกับวิธีการและผลลัพธ์ โปรดดู [ภาคผนวก SI ตาราง S1](#)

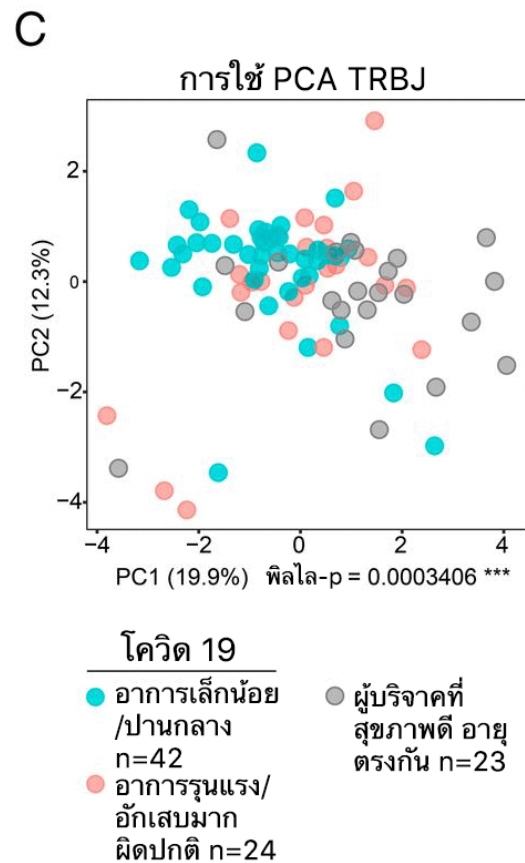
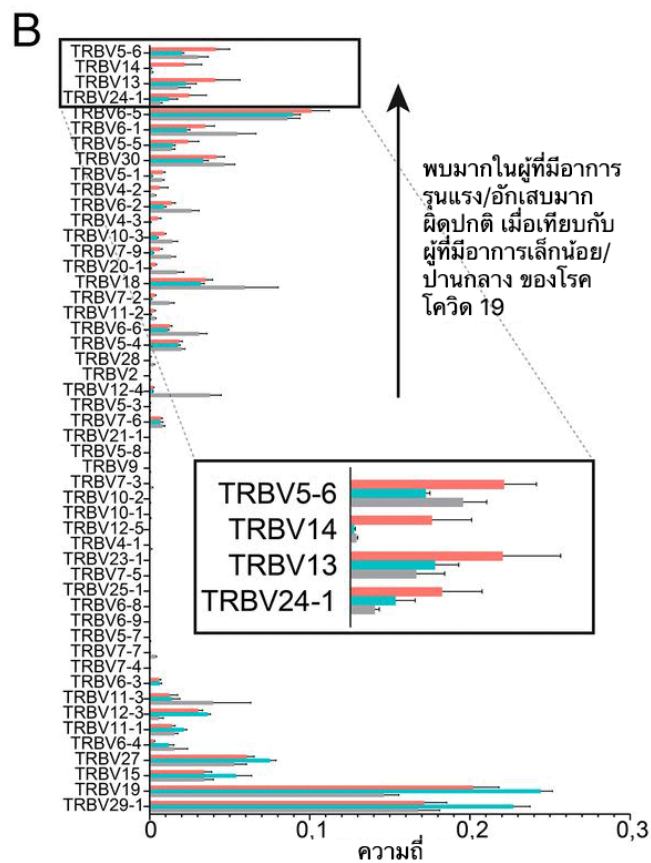
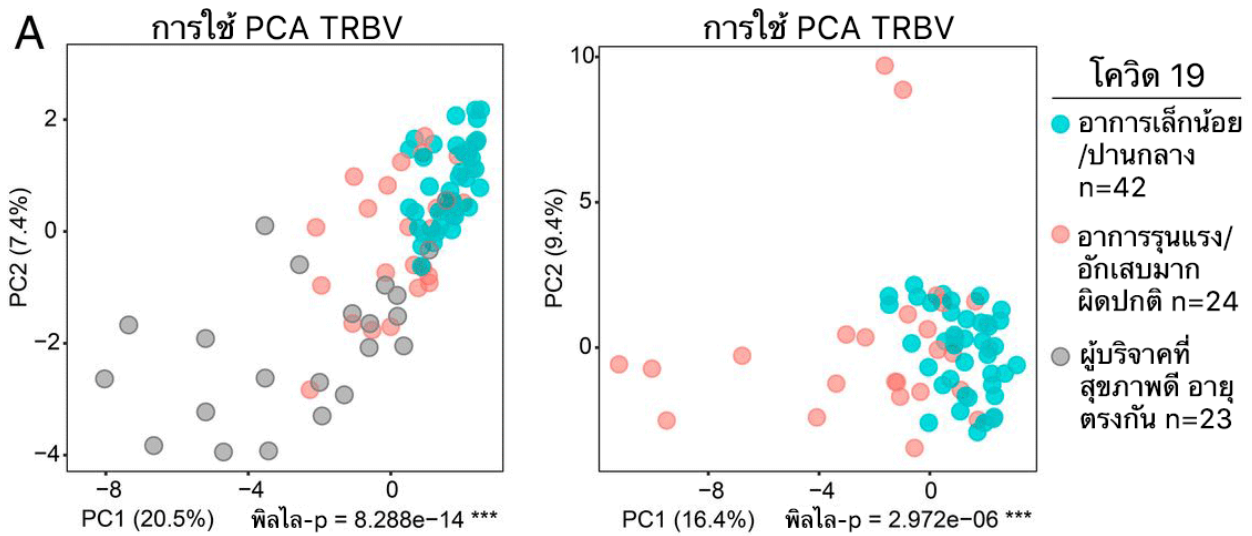
การวิเคราะห์เรเพอร์ทัวร์ของ TCR แสดงถึงการบิดเบือนของ TCRV $\beta$  และความหลากหลายของจุดเชื่อมต่อซึ่งบ่งบอกถึงผลของ SAg ในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการร้ายแรงและมีภาวะอักเสบมากผิดปกติ

การยึดจับของ SAg เข้ากับสายโซ่ TCR V $\beta$  บางชนิดส่งผลให้ V $\beta$  เกิดการบิดเบือน โดยที่ทีเซลล์ที่มีสายโซ่ V $\beta$  และมีความจำเพาะแอนติเจนที่หลากหลาย มีสัดส่วนเป็นส่วนใหญ่ในเรเพอร์ทัวร์ของ TCR ([11](#), [13](#)) หากลักษณะเด่นที่เราระบุในส่วน S ของ SARS-CoV-2 มีบทบาทเป็น SAg เราสามารถวิเคราะห์ได้ว่าผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการเล็กน้อย/ปานกลางและหายโดยที่ไม่มีภาวะอักเสบมากผิดปกติ น่าจะแสดงถึงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบปรับตัวโดยมีตัวกลางคือทีเซลล์ซึ่งระบุเอพิโทป SARS-CoV-2 ในลักษณะที่มี CDR3 เป็นตัวกลาง ซึ่งผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ น่าจะแสดงออกถึงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่สอดคล้องกับการระบุ SAg บางส่วนเป็นอย่างน้อย ด้วยวัตถุประสงค์ดังกล่าว เราได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับภูมิคุ้มกันจากการวิเคราะห์ลำดับรุ่นถัดไป (NGS) จากผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการเล็กน้อย/ปานกลางจำนวน 38 คน (ตัวอย่าง 42 ชุด) และผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรงและมีภาวะอักเสบมากผิดปกติจำนวน 8 คน (ตัวอย่าง 24 ชุด) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของกลุ่มรุ่มรุ่นที่ทำการศึกษาก่อนหน้านี้ ([28](#)) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) ของเรเพอร์ทัวร์ยีนตัวแปรสายโซ่ TCR  $\beta$  (TRBV) สำหรับสองกลุ่มดังกล่าวช่วยให้ทราบว่าผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการเล็กน้อย/ปานกลาง อยู่ในกลุ่มที่แยกจากผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ ([ภาพประกอบ 6A](#))



## ภาพประกอบ 6.

การบิดเบือนของการใช้ TRBV ในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ ทำการวิเคราะห์ 24 เรเพอร์ทัวร์ของเคสโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ เทียบกับ 42 เรเพอร์ทัวร์ของเคสโควิด 19 ที่มีอาการเล็กน้อย/ปานกลาง โดยที่มีและไม่มี 23 เรเพอร์ทัวร์ของผู้บริจาคที่มีสุขภาพดีและอายุตรงกัน (อายุตรงกับกลุ่มโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ) (A) PCA ของการใช้ TRBV แสดงองค์ประกอบหลัก 1 และ 2; เพอร์เซ็นต์ของการแจกแจงตามแกนจะระบุไว้ในวงเล็บ ทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนหลายตัวแปร (MANOVA) ด้วยการทดสอบฟิสิกส์-บาร์ดเลต (B) การใช้ TRBV องค์ประกอบย่อยของยีน TRBV จำเพาะต่อเรเพอร์ทัวร์จะแสดงด้วยค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ยีน TRBV จะจัดเรียงตามองค์ประกอบย่อยที่พบมากในกลุ่มอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ เปรียบเทียบกับผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการเล็กน้อย/ปานกลาง โดยเรียงลำดับน้อยไปมากจากล่างขึ้นบน TRBV อันดับสูงสุดพบมากในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ (TRBV5-6, TRBV14, TRBV13 และ TRBV24-1) จะแสดงโดยขยายใน ภาพแทรก (C) PCA ของการใช้ TRBJ ที่ได้อธิบายไว้ใน A โปรดดูข้อมูลเพิ่มเติมที่ [ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S7](#)



การวิเคราะห์การใช้ยีนเชิงเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่ายีน TRBV จำนวนมากมีมากขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ ([ภาพประกอบ 6B](#)) ต่างจาก PCA ของการแจกแจงยีน J แสดงถึงการบิดเบือนที่น้อยกว่ามาก ซึ่งบ่งบอกว่ามีความกดดันที่เฉพาะเจาะจงต่อการแจกแจงยีน V เป็นพิเศษ ([ภาพประกอบ 6C](#)) เพื่อสำรวจเพิ่มเติมถึงความหลากหลายของยีน J ที่เฉพาะเจาะจงสำหรับยีน V ซึ่งมีมากขึ้นไปในเคสโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ เราได้แยกแยะยีน J ทั้งหมดโดยจัดเรียงใหม่โดยใช้ TRBV5-6, TRBV13, TRBV14 และ TRBV24-1 จากเรเพอร์ทัวร์ของผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ แล้วนำมาเปรียบเทียบกับยีน J ที่แยกแยะจากผู้บริจาคที่มีสุขภาพดีที่อายุตรงกัน การวิเคราะห์ดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงการแจกแจงยีน TRBJ ที่มีความหลากหลายอย่างมาก บ่งบอกถึงความหลากหลายของ CDR3 ในรูปแบบจัดเรียงที่ขยายแต่ละรูปแบบ ([ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S7](#))

เมื่อพิจารณาาร่วมกัน ผลลัพธ์ของเราบ่งบอกว่าผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรงและภาวะอักเสบมากผิดปกติแสดงถึงการขยายของ TCR โดยใช้ยีน V ที่โดดเด่น รวมกับความหลากหลายของยีน J/CDR3 ในรูปแบบจัดเรียงเหล่านี้ มีความสอดคล้องกับกระบวนการคัดเลือก SAg

### TCR ที่สอดคล้องกับการสั่งงานยีน TRBV ในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรงสามารถจับกับบริเวณคล้าย SAg ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 ได้

และท้ายสุด เราพิจารณา TCR ซึ่งระบุโดยโครงสร้าง ซึ่งประกอบด้วยสายโซ่ V $\beta$  ที่เข้ารหัสโดยยีน TRBV5-6, TRBV13, TRBV14 และ TRBV24-1 ซึ่งพบมากในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ เราได้ทำการทดสอบความสามารถของ TCR เหล่านี้ในการจับกับบริเวณคล้าย SAg E661 ถึง R685 ของส่วน S ของ SARS-CoV-2 ในลักษณะเดียวกับ TCR ใน [ภาพประกอบ 1](#) การค้นหาใน Protein Data Bank (PDB) ของเราพบโครงสร้าง  $\alpha\beta$ TCR ที่สอดคล้องกับ TRBV5-6, TRBV14 และ TRBV24-1 กล่าวคือ TCR ที่มีสายโซ่ V $\beta$  ตรงกับผลิตภัณฑ์โปรตีนของยีนสามชนิดดังกล่าว 95 ถึง 100% ดังที่แสดงใน [ภาคผนวก SI ภาพประกอบ S8](#), ทั้งสามชนิดได้รับการตรวจสอบว่าสามารถจับกับไซต์คล้าย SAg โดยมีความสามารถในการจับสูง และมีอันตรกิริยาการสัมผัสที่คล้ายคลึงอย่างมากกับที่แสดงไว้ใน [ภาพประกอบ 1](#) โมเดลและการจำลองของเราชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการก่อคอมเพล็กซ์สามส่วนขึ้นได้เองโดยไม่ต้องใช้พลังงาน ระหว่าง TCR เหล่านี้ MHCII และส่วนหนาม กล่าวโดยรวมคือ การจำลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า TCR เหล่านี้ซึ่งพบมากในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง/การอักเสบ สามารถจับกับส่วน S ของ SARS-CoV-2 ที่บริเวณคล้าย SAg และก่อเกิดคอมเพล็กซ์สามส่วนร่วมกับ MHCII

## การสรุปผล

ความเข้าใจเกี่ยวกับลักษณะทางพยาธิวิทยาภูมิคุ้มกันที่นำไปสู่การแสดงระดับรุนแรงของโควิด 19 ทั้งในผู้ใหญ่และเด็ก มีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการจัดการและการรักษาโรคอย่างมีประสิทธิภาพ MIS-C แสดงถึงความคล้ายคลึงกับ TSS ในเด็กอย่างชัดเจน ([5444-9](#)) การสร้างโมเดลและวิเคราะห์ด้วยคอมพิวเตอร์ช่วยให้เราพบว่า SARS-CoV-2 มีการเข้ารหัสลักษณะเด่นซูเปอร์แอนติเจนใกล้เคียงกับคลัสเตอร์ S1/S2 บริเวณดังกล่าวมีความคล้ายคลึงอย่างมากในเชิงลำดับและโครงสร้างกับลักษณะเด่น SAg ของ SEB ซึ่งมีอันตรกิริยาทั้งกับ TCR และ CD28 ([21](#)) และเป็นตัวกลางของ TSS โดยที่ SEB ทำให้มีการสังเคราะห์และเพิ่มจำนวนที่เซลล์อย่างกว้างขวาง ([12](#)) ส่งผลให้มีการสร้างไซโตไคน์ส่งเสริมการอักเสบจำนวนมาก ซึ่งรวมถึง IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  และ IL-2 จากทีเซลล์ เช่นเดียวกับ IL-1 และ TNF $\alpha$  จากเซลล์แสดงแอนติเจน ([12](#)) การผลิตไซโตไคน์จำนวนมากดังกล่าวนำไปสู่ความเสียหายของเนื้อเยื่ออวัยวะหลายส่วน เช่นเดียวกับที่พบในกลุ่มอาการ MIS-C ในขณะนี้ ผลลัพธ์ของเราบ่งบอกว่ากลุ่มอาการภาวะอักเสบมากผิดปกติดังกล่าวสืบเนื่องมาจากกิจกรรมซูเปอร์แอนติเจนของไกลโคโปรตีนที่ส่วน S ของ SARS-CoV-2 นอกจากนี้ สิ่งที่เราค้นพบเหล่านี้ยังเสนอความเป็นไปได้ที่ภาวะอักเสบมากผิดปกติซึ่งพบในเคสโควิด 19 ที่เป็นผู้ใหญ่และอาการร้ายแรง อาจมีกิจกรรมซึ่งคล้าย SAg ของโปรตีนส่วน S เป็นปัจจัยผลักดัน ที่จริงแล้ว SAg มีการเหนี่ยวนำรูปแบบของไซโตไคน์การอักเสบที่คล้ายกับที่คาดการณ์ไว้สำหรับโควิด 19 กรณีอาการรุนแรงและเสียชีวิต ซึ่งรวมถึง IL-6, TNF $\alpha$ , IL-8 และ IL-1 $\beta$  ([12](#), [29](#)) นอกจากนี้ การวิเคราะห์ของเราเกี่ยวกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของทีเซลล์ในผู้ป่วยโควิด 19 ยังบ่งบอกว่า ผู้ที่เป็นโรคว่าจะอักเสบมากผิดปกติขั้นรุนแรงแสดงออกถึงการบิดเบือนของ TCRV $\beta$  ซึ่งสอดคล้องกับกิจกรรมของ SAg

ที่น่าสนใจคือ การศึกษาโดยละเอียดเกี่ยวกับการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของ SARS1 ได้ดำเนินการในกลุ่มร่วมรุ่นผู้ที่หายจาก SARS1 จำนวน 128 คน ([30](#)) แสดงว่าส่วนหนามของ SARS1 18-mer D649-L666 (DIPIGAGICASYHTVSL) เป็นหนึ่งในเปปไทด์ที่ทีเซลล์ระบุได้บ่อยที่สุด จาก 1,843 เปปไทด์ที่ทำการคัดกรอง ซึ่งครอบคลุมโปรตีนทั้งหมดของ SARS1 CoV [ตารางที่ 3 ใน Li และคณะ ([30](#))] ส่วนดังกล่าวสอดคล้องกับบริเวณ E647 ถึง R667 ของส่วน S ของ SARS1 ซึ่งมีต้นกำเนิดเดียวกันในทางลำดับ (และทางโครงสร้าง) กับลักษณะเด่น E661 ถึง R685 ซึ่งคล้าย SAg ที่ส่วนหนามของ SARS-CoV-2 ของเรา ([ภาพประกอบ 34](#) การจัดเรียงด้านล่าง) นี่จึงเป็นข้อมูลสนับสนุนที่สำคัญถึงความสามารถของลักษณะเด่น SAg ของเราในการกระตุ้นทีเซลล์ หากพิจารณาว่ามีสัดส่วนกรดอะมิโน 12/18 ส่วนร่วมกับ 18-mer ของ SARS1 และกรดอะมิโนคงเหลือ (รวมถึงส่วนแทรก PRRA ซึ่งไม่พบในส่วน S ของ SARS1) น่าจะส่งเสริมให้เกิดคุณสมบัติซูเปอร์แอนติเจนมากขึ้น เนื่องจากมีความคล้ายคลึงกับชิ้นส่วน SEB ที่จัดเรียง

สิ่งที่เราค้นพบเสนอความเป็นไปได้ที่น่าสนใจเกี่ยวกับทางเลือกที่ใช้สำหรับ TSS ซึ่งอาจมีประสิทธิภาพสำหรับ MIS-C รวมถึงการให้ไกลบูลินภูมิคุ้มกันทางหลอดเลือด (IVIG) และสเตียรอยด์ ที่จริงแล้วมีรายงานที่ได้เผยแพร่และยกเลิกการเผยแพร่ ซึ่งเสนอว่าผู้ป่วย MIS-C ตอบสนอง IVIG เป็นอย่างดี ไม่ว่าจะให้สเตียรอยด์หรือไม่ ([54-7](#)) IVIG ประกอบด้วยสารภูมิต้านทานซึ่งยับยั้ง SEB ([31](#)) เนื่องจาก SEB มีความคล้ายคลึงเชิงโครงสร้างกับลักษณะเด่น SAg ของโปรตีนส่วน S ของ SARS-CoV-2 จึงมีแนวโน้มที่อิมมูโนโกลบูลินเหล่านี้จะมีการตอบสนองข้ามชนิด ซึ่งอาจอธิบายการตอบสนองของเคส MIS-C ต่อ IVIG ได้บ้าง ยาด้านการอักเสบที่องค์การอาหารและยารับรองชนิดอื่นๆ ซึ่งได้มีการทดสอบในโมเดล SEB TSS อาจมีประสิทธิภาพเช่นกัน รวมถึง CTLA4-Ig ซึ่งสามารถยับยั้งการร่วมกระตุ้น CD28 ([32](#)) และเราพบไม่ขึ้นยับยั้ง

เป้าหมายของราฟาไมซินในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mTOR) (33) ซึ่งมีการใช้งานสำหรับโควิด 19 อยู่แล้ว นอกจากนี้ Ab ต้าน SEB โมโนโคลนซึ่งปรับสำหรับมนุษย์ (34, 35) อาจมีประโยชน์ในการบำบัดผู้ป่วย MIS-C โดยเฉพาะผลลัพธ์ของโมเดล TSS ในหนู ซึ่งสามารถป้องกันการได้รับซูเปอร์แอนติเจนจริงของ SEB ระดับที่ทำให้ตาย โดยการเลียนแบบเปปไทด์สั้นของลักษณะเด่นซูเปอร์แอนติเจน (21) การตรวจสอบถึงความเป็นไปได้ในการเลียนแบบเปปไทด์สั้นของบริเวณซูเปอร์แอนติเจนส่วนหนามของ SARS-CoV-2 เพื่อป้องกัน/บรรเทาการเหนี่ยวนำไนไซโตไคน์การอักเสบและที่ออกซิกซ็อกในผู้ป่วย MIS-C อาจเป็นเรื่องที่น่าสนใจ

ในขณะนี้การรักษาด้วยสารภูมิต้านทานโควิด 19 ภายใต้การตรวจสอบ โดยส่วนใหญ่ได้รับการออกแบบมาเพื่อมุ่งเป้า RBD และบริเวณเทอร์มินัล N (NTD) ของส่วนหนามของ SARS-CoV-2 (36-44) การจำลองของเราชี้ว่า RBD อาจมีอันตรกิริยากับ TCR อย่างไรก็ดีตามการศึกษาของเราบ่งบอกว่า “ก้าน” ของส่วนหนาม หรือลักษณะเด่นคล้าย SAg ของส่วนดังกล่าวอาจมีบทบาทเป็นเป้าหมายเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับ RBD จะพบบริเวณ SAg ของ SARS-CoV-2 มีการผ่าเหล่าค่อนข้างน้อยกว่า โดยเฉพาะส่วนแทรก PRRA ซึ่งพบได้เฉพาะใน SARS-CoV-2 เท่านั้น และยังคงอยู่ในเชื้อที่คัดแยกและวิเคราะห์ลำดับจนถึงปัจจุบัน (26, 27) เป็นเรื่องสำคัญที่ต้องพิจารณาว่า รายงานโครงสร้างจาก cryo-EM ส่วนใหญ่สำหรับโปรตีนส่วน S ของ SARS-CoV-2 มีการเปลี่ยนทดแทน GSAS หรือ GSGS ที่ R<sub>682</sub>RAR<sub>685</sub> หลังจากผลงานดั้งเดิมของ Wrapp และคณะ (17) ซึ่งส่วนดังกล่าวได้มีการกลายพันธุ์ (42-45) หรือถูกนำออก (38-41) เพื่อให้สามารถแสดงหรือระบุโปรตีนในการศึกษาส่วนหนามที่มีพันธะกับสารภูมิต้านทาน นาโนบอดี หรือ Fab โดยใช้ cryo-EM ดังนั้น “ส่วนหนามผ่าเหล่า” จึงปราศจากลักษณะเฉพาะ ซึ่งลักษณะดังกล่าวน่าจะได้รับการส่งเสริมโดยส่วนแทรกโพลีเปปไทด์ P<sub>681</sub>RRA และคลีเวจไซต์ข้างเคียง R<sub>685</sub>S และอาจทำให้ไม่พบความไวปฏิกิริยาที่สูงของ R<sub>682</sub>RAR<sub>685</sub> ในการศึกษาเหล่านี้ การออกแบบสารภูมิต้านทานหรือยาซึ่งมุ่งเป้าบริเวณ SAg ดังกล่าวอาจเป็นประโยชน์ ไม่เพียงเพื่อปรับการเหนี่ยวนำไนไซโตไคน์การอักเสบซึ่งเหนี่ยวนำโดย SAg (12) เท่านั้น แต่เพื่อสกัดกั้นการตัดแบ่งซึ่งจำเป็นสำหรับการสุเซลล์ของไวรัสด้วย (1, 19) หรืออาจพิสูจน์ได้ถึงประโยชน์ของการรักษาแบบผสมซึ่งมุ่งเป้าทั้งบริเวณคล้าย SAg และ RBD

โชคที่อาการแสดงเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจขั้นรุนแรงของโควิด 19 ในเด็ก และการพัฒนาของ MIS-C เป็นกรณีที่พบได้ยาก ซึ่งอาจมีสาเหตุเนื่องจากภูมิคุ้มกันที่ได้รับการฝึกฝน (2) ที่เซลล์และบีเซลล์มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อไวรัส ที่เซลล์ CD4+ และ CD8+ จากผู้ป่วยโควิด 19 ที่ฟื้นตัวสามารถระบุเอพิโทปของ SARS-CoV-2 อย่างกว้างขวาง และโปรตีน S เป็นเป้าหมายหลัก ที่น่าสนใจคือ ที่เซลล์จากผู้ที่ไม่เคยได้รับเชื้อมีการตอบสนองต่อเอพิโทปโปรตีน S จาก SARS-CoV-2 เช่นกัน ซึ่งสนับสนุนสมมติฐานเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันไวรัสข้ามชนิดจากโคโรนาไวรัสสายพันธุ์อื่นๆ (24, 46) อย่างไรก็ดี ยังไม่เป็นที่แน่ชัดถึงสาเหตุที่พบการพัฒนาของ MIS-C ในเด็กที่ติดเชื้อในสัดส่วนเพียงเล็กน้อย เราได้แสดงให้เห็นว่า D839Y ผ่าเหล่าที่พบใน SARS-CoV-2 สายพันธุ์ยุโรปทำให้ลักษณะเด่น SAg มีความสามารถจับกับ TCR สูงขึ้น ซึ่งอาจอธิบาย (อย่างน้อยก็บางส่วน) ถึงการบิดเบือนทางภูมิศาสตร์ของ MIS-C ในพื้นที่ที่สายพันธุ์ยุโรปกลายเป็นโรคประจำถิ่น และยังเป็นไปได้ที่การตอบสนองของสารภูมิต้านทานต่อไวรัสที่ไม่ดีในช่วงเริ่มแรกไม่สามารถยับยั้ง SAg ได้ ดังที่พบในผู้ป่วย MIS-C เมื่อไม่นานมานี้ (47) ซึ่งนำไปสู่การปรับปรุงภูมิคุ้มกันหลังจากได้รับเชื้ออีกครั้ง HLA บางชนิดมีความยึดหยุ่นสูงกว่าในการจับกับ SAg และที่จริงแล้ว HLA ได้แสดงให้เห็นว่ามีบทบาทต่อโอกาสในการติดเชื้อโควิด 19 (48) จากเก้าเคสที่มีการรายงานในช่วงเริ่มแรกในสหราชอาณาจักร หกเคสมีเชื้อสายแอฟริแคริบเบียน ซึ่งบ่งบอกถึง



แนวโน้มนทางพันธุกรรมที่อาจมีผลต่อโอกาสในการติดเชื้อเช่นกัน (5) นอกจากนี้ ~80% ของผู้ที่มีอายุมากกว่า 12 ปีมีสารภูมิต้านทานต้าน SEB (49, 50) ซึ่งอาจให้การป้องกันผลของ SAg ที่มีต่อโปรตีนส่วน S ของ SARS-CoV-2 ความชุกของสารภูมิต้านทานต้าน SEB ที่มีอยู่เดิมอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการกระจายเชิงอายุของเคสโควิด 19 ระดับรุนแรงในผู้ใหญ่ เนื่องจากค่าไตเตอร์ SEB จะลดลงในผู้สูงอายุซึ่งมีอายุมากกว่า 70 ปี

ควรพิจารณาว่าประมาณหนึ่งในสามหรือน้อยกว่านั้นของผู้ป่วย MIS-C ได้รับผลตรวจ SARS-CoV-2 เป็นบวก แต่ส่วนใหญ่แล้ว (ไม่ใช่ทั้งหมด) ปรากฏหลักฐานทางซีรัมวิทยาของการติดเชื้อหรือประวัติการได้รับเชื้อโควิด 19 (5-7) ซึ่งอาจบ่งบอกว่า SAg ของ SARS-CoV-2 อาจเป็นสาเหตุของการตอบสนองภาวะอักเสบมากผิดปกติที่ล่าช้าในเด็กบางราย SAg มีความเชื่อมโยงกับภาวะภูมิต้านตนเองโดยการกระตุ้นที่เซลล์ตอบสนองตัวเอง (11) การปรับปรุงที่มีสารภูมิต้านทานเป็นตัวกลางเมื่อได้รับไวรัสอีกครั้ง อาจมีส่วนร่วมในการติดเชื้อและการอักเสบที่ไม่มีการควบคุม (51) และยังคงเป็นไปได้ที่แม้จะได้ผลตรวจ PCR จากตัวอย่างหลังโพรงจมูกเป็นลบ แต่ยังคงมีไวรัสปรากฏอยู่ในระบบทางเดินอาหาร (52) ผู้ป่วย MIS-C แสดงออกถึงอาการของระบบทางเดินอาหารปวดท้อง อาเจียน และท้องเสีย ที่รุนแรงกว่าปกติ นอกเหนือจากการทำหน้าที่ผิดปกติของกล้ามเนื้อหัวใจระดับรุนแรงและภาวะช็อกจากโรคหัวใจ (54-7) และอาการของระบบทางเดินอาหารระดับรุนแรงดังกล่าวยังมักเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อ SAg (9) ในกรณีของ SEB การตัดแบ่งและการปล่อยชิ้นส่วนที่เฉพาะเจาะจงมีบทบาทในการเหนี่ยวนำอาการทางระบบทางเดินอาหาร ยังคงต้องตรวจสอบเพิ่มเติมว่าโครงสร้างคล้าย SAg ของ SARS-CoV-2 ที่เรากันพบมีการตัดแบ่งที่คล้ายคลึงกันหรือไม่ และเป็นสาเหตุของอาการเกี่ยวกับทางเดินอาหารที่พบในผู้ป่วย MIS-C หรือไม่

เรายังพบว่าชิ้นส่วนคล้ายพิษต่อระบบประสาท (T299 ถึง Y351) มีการซ้อนทับบางส่วนกับ RBD ที่แสดงออกถึงความสามารถในการจับกับ TCR ที่สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง มีการสังเกตเมื่อไม่นานมานี้ว่าบริเวณดังกล่าวนำไปสู่ความไวปฏิกิริยาระดับสูงและบ่อยครั้งของทีเซลล์ โดยมีทีเซลล์ CD4+ เป็นตัวกลาง ในผู้ป่วยโรคที่ไม่เคยได้รับเชื้อ SARS-CoV-2 มาก่อน (24) ซึ่งทำให้เกิดความสนใจถึงความสามารถที่อาจมีอยู่ในการกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อพิษต่อระบบประสาทในผู้ที่ไม่เคยได้รับ CoV ที่มีเปปไทด์ที่มีมีดันทกำเนิดเดียวกันเชิงลำดับ ในอนาคต เป็นเรื่องสำคัญที่จะให้ความสนใจต่อบริเวณดังกล่าวสำหรับความผิดปกติในที่มีมีการรายงานในเด็กที่มีภาวะ MIS-C รวมไปถึงผู้ใหญ่

กล่าวโดยสรุปคือ เราได้ศึกษาเรื่องที่สำคัญห้าประเด็น: 1) PRRAR และส่วนข้างเคียงเชิงลำดับ มีอันตรกิริยากับ CDR ของ TCRVβ และความเกี่ยวข้องดังกล่าวมีความคล้ายคลึงอย่างมากกับ SAg ของ SEB ต่อ TCRVβ; 2) D839 ใกล้เคียงมีส่วนร่วมในอันตรกิริยาดังกล่าว และการผ่าเหล่าเป็นไทโรซีนอาจเสริมความเชื่อมโยงกับ TCRVβ; 3) ลักษณะเด่นเชิงลำดับ (N280 ถึง T286) ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของ ICAM-1 มีอันตรกิริยากับ TCRVα ซึ่งเพิ่มเสถียรภาพให้กับความเชื่อมโยงระหว่างส่วนหนามและ TCR ของโฮสต์เซลล์; 4) ลักษณะเด่นคล้ายพิษต่อระบบประสาท (T299 ถึง Y351) ได้แสดงถึงแนวโน้มสูงในการจับกับ TCR และมีแนวโน้มที่จะกระตุ้นการตอบสนองต่อพิษต่อระบบประสาท ซึ่งผลกระทบอย่างหลังอาจบรรเทาได้หากผู้ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 เคยได้รับ HCoV ที่มีชิ้นส่วนที่มีมีดันทกำเนิดเดียวกัน ดังที่ได้มีการเสนอ (24) ในการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้; และ 5) ผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่ป่วยด้วยโควิด 19 และมีอาการรุนแรง/ภาวะอักเสบมากผิดปกติ แสดงออกถึงเรเพอร์ทัวร์ Vβ ของ TCR ที่บิดเบือน ซึ่งแยกแยะพวกเขาออกจากผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการเล็กน้อย/ปานกลาง กล่าวโดยรวมคือ ผลลัพธ์ของเราทั้งจากโมเดลการคำนวณทางคณิตศาสตร์และ

การวิเคราะห์ TCRB โดยวิเคราะห์ข้อมูลลำดับภูมิคุ้มกันด้วย NGS ในตัวอย่างจากมนุษย์ บ่งบอกว่า กลยุทธ์ที่ใช้สำหรับการรักษา TSS ที่มี SEB เป็นตัวกลาง หรือวิธีการสกัดกันอันตรกิริยาของโปรตีน S ต่อ TCR อาจช่วยลดอาการแสดงของภาวะอักเสบมากผิดปกติหรือผลของพิษ (ต่อระบบ ประสาท) ของโควิด 19 ทั้งในผู้ใหญ่และเด็ก

## ข้อมูลและวิธีการ

โมเดลส่วนหนามของ SARS-CoV-2 (P0DTC2) และ SARS-CoV (CVHSA\_P59594) ได้ถูกสร้างขึ้นโดยใช้ SWISS-MODEL ([53](#)) โดยอ้างอิงโครงสร้างไกลโคโปรตีนส่วนหนามที่ระบุได้ของ SARS-CoV-2 ([17](#)) (PDB รหัสระบุ 6VSB) และ SARS-CoV ([54](#)) (PDB รหัสระบุ 6ACD) ลูปที่หายไปในการสร้างผลึกถูกสร้างขึ้นโดยใช้คลังชิ้นส่วนแกนหลัก ([55](#)) หรือโดยการสร้างชิ้นส่วนแกนหลักเหล่านี้ขึ้นใหม่ในพื้นที่จำกัด ([56](#)) สายพันธุ์ผ่าเหล่าสองสายพันธุ์ที่เชื่อมโยงกับผู้ป่วยโควิด 19 ในยุโรป ([26](#)) สร้างขึ้นโดยใช้ CHARMM-GUI ([57](#)): สายพันธุ์หนึ่งคือสายพันธุ์ผ่าเหล่าหลัก D614G และสายพันธุ์ผ่าเหล่าอื่นๆ อีกสี่สายพันธุ์ ได้แก่ Q239K, A831V, D614G และ D839Y สายพันธุ์ผ่าเหล่าที่ส่วนหนามของ SARS-CoV-2 สองสายพันธุ์และ SARS-CoV-2 (P0DTC2) ซึ่งเดิมทีนำมาจากเมืองอู่ฮั่น ถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบการจับกับ  $\alpha$ TCR และ MHCII (PDB รหัสระบุ 2XN9) ([16](#)) โดยใช้ ClusPro ([18](#)) และ PRODIGY ([58](#)) โปรดดูรายละเอียดใน *ภาคผนวก SI* ข้อมูลจากการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับภูมิคุ้มกันด้วย NGS ถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้วิธีการที่ได้อธิบายไว้ก่อนหน้านี้ ([59](#), [60](#)) และสรุปใน *ภาคผนวก SI*

## การเข้าถึงข้อมูล

ข้อมูลจากการศึกษาอื่นๆ ทั้งหมดได้รวมอยู่ในบทความและ *ภาคผนวก SI*

## กิตติกรรมประกาศ

เราขอขอบคุณการสนับสนุนจาก NIH Awards P41 GM103712 (ไปยัง I.B.) และ R01 AI072726 (ไปยัง M.A.) รวมถึงความคิดเห็นที่เป็นประโยชน์จาก ดร. A. M. Brufsky, M. T. Lotze, S.-J. Gao และ S. D. Shapiro ทีมมหาวิทยาลัยศูนย์การแพทย์พิตต์สเบิร์ก เราขอขอบคุณทีมโควิด 19 ฝ่ายคลินิกที่ Halle สำหรับการสนับสนุนตัวอย่างแก่ธนาคารเก็บตัวอย่างทางชีวภาพ

## เชิงอรรถ

- <sup>๔1</sup>M.A. และ I.B. มีส่วนร่วมอย่างเท่าเทียมกันในงานวิจัยนี้
  - <sup>๔2</sup>โปรดติดต่อที่ อีเมล: [moshe.arditi@cshs.org](mailto:moshe.arditi@cshs.org) หรือ [bahar@pitt.edu](mailto:bahar@pitt.edu).
  - ความมีส่วนร่วมของผู้จัดทำ: M.H.C., M.A. และ I.B. ออกแบบการวิจัย; M.H.C., S.Z., R.A.P., L.P., E.W., M.B., M.A. และ I.B. ทำการวิจัย; M.H.C., S.Z., R.A.P., M.N.R., M.B., M.A. และ I.B. วิเคราะห์ข้อมูล; และ M.H.C., R.A.P., M.A. และ I.B. จัดทำเอกสาร
  - ผู้ตรวจสอบ: T.A.C. โรงพยาบาลเด็กบอสตัน; R.N., Frederick National Laboratory; และ C.A.S. สถาบันการแพทย์มหาวิทยาลัยแมสซาชูเซตส์
  - ค่าแถลงว่าด้วยประโยชน์เชิงแข่งขัน: ได้เริ่มต้นกระบวนการขอสิทธิบัตรสำหรับลำดับเปปไทด์สั้นเพื่อยับยั้งชิ้นส่วนซูเปอร์แอนติเจนแล้ว
- 
- บทความนี้มีข้อมูลสนับสนุนออนไลน์ที่ <https://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.2010722117/-/DCSupplemental>
  - สงวนลิขสิทธิ์ © 2020 โดยผู้จัดทำ เผยแพร่โดย PNAS

บทความที่เข้าถึงแบบเสรีนี้เผยแพร่ภายใต้ [Creative Commons Attribution License 4.0 \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)