

## 腸管・呼吸器オルガノイドを用いた SARS-CoV-2 に対する宿主免疫機構の解明

林 豪士

国立感染症研究所 ウイルス第二部

### 【研究の背景】

現在パンデミックを引き起こしている新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)感染症 (COVID-19) 患者において、発熱、呼吸器症状(咳、肺炎など)の他に、下痢などの消化器症状を伴うことが知られており、実際に腸管細胞にてウイルスが増殖することが明らかとなっている。さらに、COVID-19 患者のコホート研究により、消化器症状と重症度に正の相関が認められている。これらの知見から、SARS-CoV-2 の病原メカニズムの全容を理解するうえで、呼吸器のみならず腸管内における増殖機構の解明も重要であると言える。

### 【目 的】

本研究は、腸管および呼吸器由来のオルガノイド培養系を駆使して、SARS-CoV-2 に対する宿主免疫機構を解明することを目的としている。

### 【方 法】

CRISPR/Cas9 法を用いて、宿主抗ウイルス活性の誘導に重要な役割を担う JAK/STAT 経路の構成因子である STAT1 遺伝子をノックアウト(KO)した腸管オルガノイドを樹立した。樹立した KO 細胞を用いて、SARS-CoV-2 感染実験を行い、ウイルス増殖を親細胞と比較した。

### 【結 果】

Cas9 及び STAT1 遺伝子に対する sgRNA を発現した腸管オルガノイド内での STAT1 の発現をウェスタンブロットで確認したところ、当該タンパク質の発現が消失していたことから、STAT1 遺伝子 KO オルガノイドの樹立に成功した。次に、当該細胞の SARS-CoV-2 増殖を測定したところ、STAT1 を発現する親細胞と比較して、顕著なウイルス増殖の促進が認められた。本研究は未だ進行中ではあるが、用いた技術(CRISPR/Cas9 法)によるこれまでの腸管感染性ウイルス研究(SARS-CoV-2 を含む)に関する知見を総論としてまとめた<sup>1)</sup>。

### 【考 察】

本研究結果より、腸管オルガノイドにおいて、JAK-STAT 経路依存的な宿主因子により SARS-CoV-2 感染が制御されていることが明らかとなった。今後、JAK-STAT 経路の下流に位置する自然免疫関連遺伝子(インターフェロン誘導遺伝子など)の SARS-CoV-2 感染への関与を検討する。またこれら遺伝子について、呼吸器オルガノイド内でのウイルス増殖への関与についても併せて検討を行う。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

COVID-19 発生以降、世界中の研究者により SARS-CoV-2 感染機構の解明、治療薬開発のための研究が進められてきたが、多くは癌化した一般的な株化培養細胞を用いたものであり、得られた知見をそのままヒト生体 (*in vivo*) にフィードバックするためには別途検討する必要がある。近年、組織幹細胞、あるいは iPS 細胞などの多能性幹細胞から形成されるオルガノイドの研究が発展してきており、感染症分野においてもこの最先端の技術を用いた *ex vivo* 研究が求められつつある。本研究において、ヒト生体 (*in vivo*) に近い性質を持つオルガノイド内での SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス免疫機構の一端が明らかとなった。今後さらに詳細な解析を進めることで、宿主の防御機構を利用した革新的な COVID-19 治療薬の開発に繋がることが期待される。

### 【参考・引用文献】

- 1) Junki Hirano, Kosuke Murakami, Tsuyoshi Hayashi. CRISPR-Cas9-based technology for studying enteric virus infection. *Frontiers in Genome Editing*. June 8;4:888878, 2022