

喫煙による高い COVID-19 重症化リスクに関連する、自然免疫応答抑制の分子機構の解析

山田大翔

北海道大学遺伝子病制御研究所

【研究の背景】

SARS-CoV-2 が原因ウイルスである新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、現在でも、大きな社会問題となっており、その病態や治療に向けた研究は急務となっている。COVID-19 の重症化のリスク要因として、「喫煙」が知られているが、その詳細な分子機構は不明である。特に、「喫煙」と宿主の自然免疫システムの関連性という観点から、SARS-CoV-2 の増殖に及ぼす影響については不明なままである。これに関連して、タバコ煙抽出物 (cigarette smoke extract; CSE) を処理したヒト肺上皮細胞では、SARS-CoV-2 の複製が増強することを見出すことができていたが、その分子機序については不明であった。

【目 的】

この課題に対して、申請者のこれまでの SARS-CoV-2 に対する自然免疫センサー RIG-I の研究¹⁾やシグナル伝達抑制機構に関する研究²⁾を基盤にして、「喫煙」と自然免疫システムの関連性を検討することで、COVID-19 克服に向けた新たな予防・治療に役立つ分子基盤を見出すことを目的とする。

【方 法】

CSE による SARS-CoV-2 増殖に①RIG-I 発現量の低下、②AHR-TIPARP 経路の活性化によるサイトカイン誘導の低下、の2つの可能性について、主に細胞レベルでの SARS-CoV-2 感染実験で検討し、ひいては③同定された分子機構に基づいた、治療応用への可能性を提示する。タバコにはマルボロを使用し、用いる細胞株はヒト肺がん上皮細胞 A549 細胞や初代培養ヒト肺上皮細胞 HPAEpiC を用いた。ウイルス感染実験では、SARS-CoV-2 増殖性を qRT-PCR や plaque assay でウイルス量を測定し、産生されるサイトカインの測定では qRT-PCR や ELISA を実施する。RIG-I 発現を誘導する分子としてレチノイン酸、TIPARP の阻害方法には低分子化合物 RBN-2397 (Ribon Therapeutics 社) を使用し、SARS-CoV-2 増殖性や自然免疫応答への影響を評価する。

【結 果】

CSE を肺上皮細胞に処理することによって、RIG-I の発現量が mRNA レベル、タンパク質レベルで低下することが確認された。一方で、TIPARP の発現量への影響は見られなかった。つまり CSE 曝露時に、ウイルスが増殖する原因の一つとしては、抗ウイルス作用を持つ RIG-I が重要である可能性が示唆された。さらに、RIG-I 欠損細胞に CSE を処理してもウイルス増殖性へ影響が見られなかったことから、RIG-I の発現低下がウイルス増殖性を説明できる分子機構であることが明らかとなった。そこで、RIG-I の発現を誘導できるレチノイン酸を用いるとウイルス複製を抑制することがわかった。

一方で、こうした RIG-I が低下している細胞ではウイルス複製に伴って自然免疫サイトカイン IFN- β の産生が見られた。そこでその応答性に対して、TIPARP 阻害剤 RBN-2397 の影響を調べてみると、感染後の IFN- β 産生の有意な増強が見られ、抗ウイルス作用を示すことがわかった。

以上より、CSE 曝露によって RIG-I 発現量が低下することがウイルス増殖の原因の大きな一因であることがわかった。さらにそれを防ぐために、レチノイン酸で RIG-I を誘導させることが有効であることも確認できた。一方でウイルス複製に伴って認められる IFN- β の産生を TIPARP 阻害剤 RBN-2397 によって増強することができ、ウイルス複製を阻害することが出来た。

【考 察】

CSE の中には、曝露時には AHR (aryl hydrocarbon receptor) のリガンドである物質 (ベンゾピレンなど) が含まれていることから、AHR 誘導遺伝子である TIPARP が誘導され、自然免疫シグナル経路が抑制されると予想されたが、予想に反して、TIPARP が誘導されなかった。これはおそらく CSE の中には様々な因子が含まれているため、TIPARP の誘導を抑制する分子も含まれていた可能性を考えている。TIPARP 阻害剤 RBN-2397 が IFN- β の産生を増強できたのは、もともと細胞に発現している TIPARP への作用が見られたためと考えている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本課題を遂行した結果、RIG-I 発現を誘導するレチノイン酸、IFN- β の産生を増強できる TIPARP 阻害剤 RBN-2397 が、それぞれ分子機構は異なるものの、ウイルス複製を抑制することが出来た。レチノイン酸は急性骨髄性白血病の治療に現在使用されており、投与のハードルは比較的低いと考えられる。また、RBN-2397 は申請者らの発見²⁾を基盤に近年開発が進んでいる薬剤であり、固形がんへの臨床治験が phase 1b/2 であることから臨床への貢献が期待でき、そのことからウイルス感染症制御へ転用できる可能性もあると考えている。

【参考・引用文献】

1. Yamada T., *et al. Nat.Immunol.*, 22, 820-828, 2021
2. Yamada T., *et al. Nat.Immunol.*, 17, 687-694, 2016