

## ゲノム複製動態に基づく新興ウイルスに普遍的なサイトカインストーム誘導機序の解明

京都府立医科大学感染症態学・講師

渡邊 洋平

### 背景

COVID-19 や新型インフルエンザ感染患者のうち、重症者はサイトカインストームに起因する重度肺炎、多臓器不全や血栓症を呈するが分子機序の詳細は不明であり、重症者に対する効果的な治療薬や治療法の開発を妨げている。一方で、ヒトの間で長期流行する季節性のコロナウイルスやインフルエンザウイルスは「かぜ」症状を起こす程度でその病原性は低い。このことは、適応過渡期にある新興ウイルスと新しい宿主との不適合性がウイルス高病原性に関わることを示唆する。しなしながら、なぜ新興ウイルスがこれほど高い病原性をヒトに示すのかは不明である。

### 目的

本研究では、自身の先行研究から得られた「宿主適応の過渡期にある新興ウイルスが異常な RNA 産生を介して過剰な免疫応答を惹起することでサイトカインストームを誘導する」という仮説を新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) と高病原性鳥インフルエンザウイルスを用いて検証することを目的とした。

### 研究期間の成果

培養細胞を用いた感染実験により、SARS-CoV-2 は季節性コロナウイルス (HCoV-OC43 及び 229E) と同様に効率的にヒト細胞で増殖するものの、SARS-CoV-2 のみが感染後期に IFN 産生を誘導する事象を見出した。ウイルス感染細胞から精製した RNA 分画を細胞導入したところ、SARS-CoV-2 感染細胞を由来とする small RNA 分画のみが IFN 誘導能を示したため、この RNA の同定を試みた。

small viral RNA (svRNA) を効率的に解読する RNA-seq 法を構築することで、HCoV と異なり、SARS-CoV-2 がウイルスゲノム RNA の 5'末端断片 (5' end svRNA) を大量に産生することが分かった。5' end svRNA は、5' triphosphate と末端 63 塩基による RNA2 次構造の存在によって RIG-I を刺激していた。

ヒト気道再構築モデルを用いた ex vivo 感染実験により、OC43 と異なり、SARS-CoV-2 が感染後期に 5' end svRNA を蓄積させて IFN 応答を惹起することを明らかにした。また、SARS-CoV-2 変異株間で 5' end svRNA 産生量に相違があり、これは臨床的に報告されているウイルス病原性の違いと一致した。

5' end svRNA がウイルス複製に機能を持つのか評価するために、実験的な補完実験をおこなった。その結果、細胞内の 5' end svRNA 量を 100 倍以上に増加させても SARS-CoV-2 RNA 複製量は変化しなかった。このことから、5' end svRNA はウイルス複製自体を制御する役割はなく、異常な RNA 複製の副産物として蓄積すると推察された。

5' end svRNA が細胞外で作用する可能性を探索するために、SARS-CoV-2 感染細胞の培養上清からエクソソームを単離して svRNA-seq 解析に供した。その結果、遊離エクソソーム中に感染細胞内と同特性の 5' end svRNA が多量に含まれていることが明らかとなった。

### 考察

コロナウイルス属は感染初期に IFN 応答を阻害する回避機構を獲得している特徴がある。私たちは、こ

の阻害作用を上回る IFN 誘導が 5' end svRNA によって導入されることで、感染後期に一転して IFN 応答が惹起されると推察している (図 1)。生体防御において、抗ウイルス応答は感染直後に誘導される必要がある。一方で、タイミングを逃して遅延して応答した IFN 産生は症状の増悪化に関わると考えられている。そのため、5' end svRNA の蓄積を介して感染後期に一転して IFN 産生を誘導する本作用機序は、COVID-19 感染重症者にみられるサイトカインストームの発生や増悪化に関わっている可能性がある。

### 今後の見通し

SARS-CoV-2 感染細胞の培養上清中に放出されたエクソソームに IFN 誘導能をもつ 5' end svRNA が含まれていたことから、「細胞外における機能があるのか」について解析を進める計画である。具体的には、感染細胞外または臓器外の非感染細胞の IFN 応答を惹起する病態機序の可能性を評価する (図 2)。

まず、感染細胞の培養上清中に放出されるウイルス粒子中には 5' end svRNA が検出レベルでは存在しないことを svRNA-seq 解析により確かめ、細胞外に存在する 5' end svRNA はエクソソーム由来であることを確認する。次に、COVID-19 感染患者の血液サンプルを用いて、svRNA-seq 解析によって末梢血中の 5' end svRNA の存在を検証する。さらに血中 5' end svRNA 量と患者の重症度の相関を検証する予定である。また、高病原性鳥インフルエンザウイルスがヒト細胞での複製過程において類似の svRNA を産生する事象を見出し、当該 svRNA が IFN 応答と病原性に与える影響を評価することで、svRNA を介したサイトカインストーム誘導が新興ウイルスに共通する普遍的な重篤化機序である可能性を検証する計画である。

図 1. 本研究のまとめ (右)

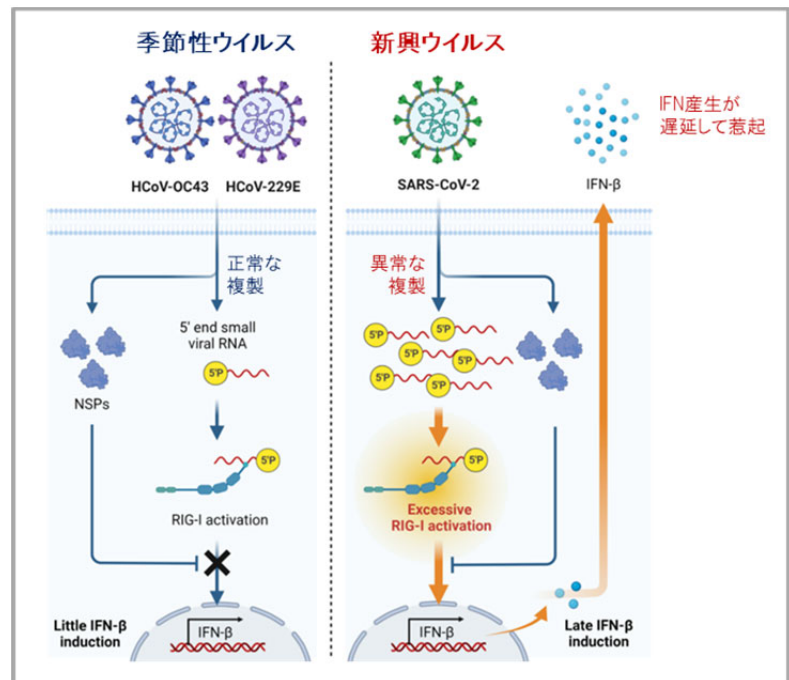


図 2. 今後の見通しの概念図 (下)

