

40. 重症ウイルス性肺炎発症の分子基盤の解明

東京大学大学院医学系研究科・微生物学 教授 竹田 誠

概要

This study aimed to enhance infectious disease countermeasures by elucidating the pathogenesis of emerging respiratory viral infections, focusing on the mechanisms driving severe viral pneumonia. Specifically, we sought to establish a foundation for predicting and mitigating disease severity by examining viral and host factors, secondary bacterial infections, and the impact of environmental factors on immunity.

We first analyzed the role of the host protease TMPRSS2 and found that while SARS-CoV-2 utilizes TMPRSS2 to enhance infection efficiency, it is not essential for viral entry in human respiratory organoids. Next, we visualized the progression of secondary bacterial infections and found that viral infection facilitates bacterial migration into the respiratory tract. Additionally, impaired macrophage recognition was shown to promote *Streptococcus pneumoniae* proliferation, while IL-1 β signaling exacerbated secondary bacterial pneumonia. Furthermore, we investigated the antiviral effects of gut microbial metabolites and found that inulin supplementation mitigates weight loss and improves survival following SARS-CoV-2 infection. This effect correlated with increased deoxycholic acid (DCA), suggesting that DCA modulates immune responses. Additionally, we examined COVID-19 severity mechanisms and found that TNF- α exacerbates pneumonia by promoting neutrophil infiltration via CXCL1 signaling. TNF- α inhibitors were also shown to partially attenuate disease severity.

Financial support by the Mitsubishi foundation was essential for conducting advanced experiments, including acquiring equipment, purchasing animals, and procuring critical reagents.

背景および目的

本研究は、新興呼吸器ウイルス感染症に対する理解を深め、将来の感染症対策に貢献することも視野に入れ、ウイルス性肺炎の重症化に関与する要因を統合的に理解し、重症ウイルス性肺炎の病態形成メカニズムを解明することを目的とした。ウイルス性肺炎の重症化には原因ウイルスを問わず共通の機序があると考えられる。申請者らはこれまでに、ウイルス性肺炎発症に関与する宿主プロテアーゼとして TMPRSS2 を同定し、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の出現時に、効率的なウイルス分離・培養法を提供することで、研究のみならず、行政対応、ワクチン開発などの迅速な対応に貢献した。本研究では、ウイルス性肺炎の発症メカニズムを多角的に解析するために、以下の3つのテーマに取り組んだ。第一に、ウイルス側の因子および宿主因子の解析を通じて、感染の成立や病態進展に関与する要素を特定する。第二に、呼吸器細菌による二次感染の発症メカニズムを解明し、細菌感染の重症化リスクを評価する。第三に、外気や体温の変化、ストレスが局所免疫および細菌叢に及ぼす影響を解析し、環境要因が重症化に及ぼす作用を明らかにする。これらの知見をもとに、重症化を早期に予見する診断法、治療法、予防法の開発に必要な科学的基盤を構築し、次に発生するパンデミックへの備えを強化することを目指した。

方法

I. ウイルス性肺炎の重症化における TMPRSS2 やその他のプロテアーゼの役割の解析

I-1. SARS-CoV-2 のヒト呼吸器オルガノイドにおける TMPRSS2 の機能解析。ヒト iPS 細胞由来の複合組織型呼吸器オルガノイドを作製し、生体に近い環境での TMPRSS2 の役割を検討した。さらに、TMPRSS2 遺伝子を欠失させたオルガノイドを用い、各種 SARS-CoV-2 株の感染・増殖を比較した。また、選択的プロテアーゼ阻害剤を投与し、感染抑制効果を評価した。

I-2. 自然宿主動物モデルを用いた TMPRSS2 の重要性評価。センダイウイルスおよびマウス肺炎ウイルスを通常マウスと TMPRSS2 ノックアウトマウスに感染させ、肺炎発症における TMPRSS2 の影響を解析した。

I-3. ウイルス側の TMPRSS2 感受性決定因子の解析。TMPRSS2 が認識するウイルス膜タンパク質の開裂部位に変異を導入したインフルエンザウイルスを作製し、野生型マウスに感染させ、その増殖性および病原性を評価した。

I-4. 細菌プロテアーゼによるウイルス活性化の解析。H1 亜型インフルエンザウイルスの気道感染モデルを用い、肺炎球菌との共感染時のヘマグルチニン（HA）タンパク質の開裂とウイルス増殖を解析した。

II. 二次性細菌性肺炎モデルの開発。

II-1. ウイルス感染による細菌性肺炎の進展を解析するため、発光遺伝子 AkaLuc を搭載した肺炎球菌を作製し、ウイルス感染に伴う細菌の動態を可視化した。

II-2. マクロファージ機能変容の解析。二次性細菌性肺炎モデルを用いて、各種組織から単離したマクロファージの細菌貪食能や貪食レセプターの発現量を解析した。

III. 腸内細菌代謝産物の抗ウイルス効果解析。プレバイオティクスであるイヌリンの摂取が SARS-CoV-2 感染による罹患率および死亡率にどのように影響するかを解析した。

IV. COVID-19 重症化メカニズムの解析。マウス馴化 SARS-CoV-2（祖先株およびデルタ株）を作製し、MyD88 および IFNAR1 欠損マウスを用いた感染実験を実施した。炎症性サイトカインの産生や免疫応答の変化を解析し、重症化メカニズムを検討した。

結果および考察

I. SARS-CoV-2 のヒト呼吸器オルガノイドにおける TMPRSS2 の役割。

オミクロン株を含むすべての SARS-CoV-2 株が TMPRSS2 欠損オルガノイドでも増殖能力を維持しており、感染に必須ではないことが示された。ただし、SARS-CoV-2 が TMPRSS2 を利用することで感染をより効果的にしていることが確認された。その一方、TMPRSS2 を介した感染と同様に、カテプシンを利用した経路もヒト呼吸器オルガノイドでは主要な活性化経路となることが示された。

II. 二次性細菌性肺炎の病態。AkaLuc 発現肺炎球菌を用いた解析により、ウイルス感染が細菌の気道移行を促進することを可視化した。さらに、マクロファージの異物認識能が低下し、肺炎球菌の下気道で増殖を可能にしていること、IL-1 β による炎症シグナルを介して、二次性細菌性肺炎が増悪することを明らかにした。

III. 腸内細菌代謝産物の抗ウイルス効果。イヌリンを摂取したハムスターでは SARS-CoV-2 感染後の体重減少が緩和され、生存率が向上した。また、腸内細菌叢が変化し、デオキシコール酸（DCA）の有意な増加が起こること、そして、この二次胆汁酸が SARS-CoV-2 に対する防御効果をもたらしている可能性が示唆された。

IV. COVID-19 重症化メカニズムの解明。MyD88 および IFNAR1 シグナルが炎症性サイトカインの産生を増幅し、TNF- α が CXCL1 を介して好中球浸潤を促進することで肺炎が悪化することを確認した。さらに、TNF- α 阻害剤の投与により、重症化が部分的に軽減されることが示された。

結論

本研究は、ウイルス性肺炎の重症化機序を多角的に解析し、その多様なメカニズムを解明した。特に、TMPRSS2の役割、二次細菌感染の進展機構、腸内細菌代謝産物の免疫調節効果、COVID-19 重症化の分子メカニズムの解明により、今後の感染症対策に貢献する成果を得た。

(完)

発表論文

- 1) Kakizaki M, Hashimoto R, Nagata N, Yamamoto T, Okura T, Katoh H, et al. The respective roles of TMPRSS2 and cathepsins for SARS-CoV-2 infection in human respiratory organoids. *J Virol*. 2025;99(1):e0185324. Epub 20241127. doi: 10.1128/jvi.01853-24. PubMed PMID: 39601592; PubMed Central PMCID: PMCPMC11784140.
- 2) Nagai M, Moriyama M, Ishii C, Mori H, Watanabe H, Nakahara T, et al. High body temperature increases gut microbiota-dependent host resistance to influenza A virus and SARS-CoV-2 infection. *Nature communications*. 2023;14(1):3863. Epub 20230630. doi: 10.1038/s41467-023-39569-0. PubMed PMID: 37391427; PubMed Central PMCID: PMCPMC10313692.
- 3) Song I, Yang J, Saito M, Hartanto T, Nakayama Y, Ichinohe T, et al. Prebiotic inulin ameliorates SARS-CoV-2 infection in hamsters by modulating the gut microbiome. *NPJ Sci Food*. 2024;8(1):18. Epub 20240314. doi: 10.1038/s41538-024-00248-z. PubMed PMID: 38485724; PubMed Central PMCID: PMCPMC10940623.
- 4) Kobayashi M, Kobayashi N, Deguchi K, Omori S, Nagai M, Fukui R, et al. TNF-alpha exacerbates SARS-CoV-2 infection by stimulating CXCL1 production from macrophages. *PLoS Pathog*. 2024;20(12):e1012776. Epub 20241209. doi: 10.1371/journal.ppat.1012776. PubMed PMID: 39652608; PubMed Central PMCID: PMCPMC11658697.
- 5) Yamauchi Y, Konno S, Omura N, Yoshioka N, Hingst A, Gutschow M, et al. Detection of Active SARS-CoV-2 3CL Protease in Infected Cells Using Activity-Based Probes with a 2,6-Dichlorobenzoyloxymethyl Ketone Reactive Warhead. *ACS Chem Biol*. 2024;19(5):1028-34. Epub 20240426. doi: 10.1021/acschembio.4c00024. PubMed PMID: 38668705.