

## $\mu$ Map 法を利用した新型コロナウイルスの後遺症モデルの開発

代表研究者 鈴木 紗織

九州大学 大学院医学研究院ウイルス学分野 助教

### 研究要旨

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）後に持続する、いわゆるコロナ後遺症は、感染性ウイルスが検出されないにもかかわらず、認知機能低下や全身倦怠感などの症状が長期にわたり継続する点で、重要な医学的・社会的課題となっている。しかし、その分子機構は十分に解明されておらず、有効な治療法の確立には至っていない。COVID-19 の原因ウイルスである SARS-CoV-2 は、主に ACE2 を介して細胞内に侵入することが知られているが、ACE2 の発現が低い、あるいは検出されない細胞にも感染が成立することが報告されており、未知の宿主因子の関与が示唆されている。研究代表者の先行研究において、 $\mu$  MAP と呼ばれる近接ラベル化技術を応用し、SARS-CoV-2 の細胞侵入過程に関与する宿主因子を 8 つ同定した。本申請課題では、これらの因子のうち、どの因子がどのようなメカニズムでウイルス侵入に関与しているのかを明らかにすることを目的とした。さらに、同定した因子のうち 3 つは神経系に発現する因子であったことから、コロナ後遺症との関連を明らかにすることを本研究の最終的な目的とした。

先行研究では、同定した 8 因子を過剰発現させた細胞に SARS-CoV-2 のシュードタイプウイルスを感染させ、その影響を評価していた。そこで本研究では、新たに 8 因子のノックダウン細胞を作製し、HiBiT と呼ばれるスプリット型ルシフェラーゼを搭載した組換え SARS-CoV-2 を用いて解析を行った。SARS-CoV-2-HiBiT は、ウイルス力価やコピー数の測定に加えて、ルシフェラーゼ活性を指標として簡便にウイルス増殖を評価できるという利点を有する。実験には、ヒト肺胞上皮由来の Calu3 細胞および A549 細胞を用いた。Calu3 細胞では遺伝子導入効率が低く、ノックダウン細胞の作製が困難であった一方、A549 細胞では安定したノックダウン細胞を作製することができ、感染評価までのプロトコルを確立することができた。これらの細胞を用いて 8 因子の発現低下による SARS-CoV-2 感染効率を評価した結果、2 因子の発現低下においてルシフェラーゼ活性の低下が認められた。これらの結果から、SARS-CoV-2 の感染成立には、ACE2 に加えて複数の宿主分子が協調的に関与している可能性が示唆された。

本研究成果は、SARS-CoV-2 の細胞侵入機構に対する理解を深めるとともに、コロナ後遺症の分子病態解明に向けた基盤的知見を提供するものである。今後、これらの宿主因子の作用機序をさらに解析することで、新たな治療戦略や創薬研究への展開が期待される。