

No.	22-3029	
研究課題名	呼吸器オルガノイドを用いたウイルス分離培養用細胞の開発に関する研究	
研究代表者	野田 岳志（ 京都大学・教授 ）	
研究組織	受入教員	河岡 義裕（ 東京大学医科学研究所・教授 ）
	分担者	中野雅博（ 京都大学医生物学研究所・助教 ）
	分担者	村本裕紀子（ 京都大学医生物学研究所・助教 ）

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】

共同研究報告 (年次終了)

現在ヒトの世界に存在するコロナウイルスはわずか 6 種類のみである。HCoV-OC43、HCoV-HKU1、HCoV-229E、HCoV-NL63 は軽度の風邪を引き起こす。一方、SARS-CoV-2 と MERS-CoV は重篤な呼吸器疾患を引き起こす。4 種類の風邪コロナウイルスと SARS-CoV-2 は近縁であるにも関わらず、その病原性は大きく異なる。SARS-CoV-2 の病態発現機構を理解するためには、風邪コロナウイルスとの比較解析が有用であるが、ビフォアコロナの時代には風邪コロナウイルスは公衆衛生学的に重要度が低いと考えられてきたこともあり、その研究は十分には行われていなかった。その根底には、風邪コロナウイルスを効率よく分離培養できる細胞が未だ存在しないという大きな問題がある。

本年度は、風邪コロナウイルスの元来の感染部位である「ヒト鼻腔」の 2 次元オルガノイドを作製し、コロナウイルスならびにインフルエンザウイルスなど、様々な呼吸器ウイルスの分離培養/増殖機構の解析に適した細胞の開発を行った。具体的には、2 次元鼻腔オルガノイドの培養系の改良と、風邪コロナウイルス 4 種に対する 2 次元オルガノイドの感受性ならびに増殖性の評価を実施した。

風邪コロナウイルス 4 種を従来から用いられてきた株化細胞 (HCoV-229E は MRC-5、HCoV-OC43 は HCT-18、HCoV-NL63 は LLC-MK2、HCoV-HKU1 は株化細胞で増殖しないため VeroE6/TMPRSS2) に感染させたところ、HCoV-229E と HCoV-OC43 と HCoV-NL63 は増殖したが、HCoV-HKU1 は増殖しなかった。一方で、これら 4 種類の風邪コロナウイルスを 2 次元鼻腔オルガノイドに感染させたところ、HCoV-229E と HCoV-OC43 では培養細胞を用いたときと同程度に増殖し、HCoV-NL63 は培養細胞を用いた時より効率よく増殖した。HCoV-HKU1 は他の 3 種より増殖能は低かったが、2 次元鼻腔オルガノイドで増殖した。来年度は、それぞれのウイルスの感染細胞を用いて single cell RNA-seq を実施し、各ウイルスの感染細胞の同定や宿主応答の相違を解析する予定である。

インフルエンザウイルスに関しても、2 次元鼻腔オルガノイドがウイルス増殖をサポートできるかどうかを確認した。A 型インフルエンザウイルス (H1N1、H3N2) および B 型インフルエンザウイルス (Yamagata 系統、Victoria 系統) を感染させたところ、どれも効率よく増殖することが確認できた。また、MDCK 細胞で増殖しづらい近年の A 型インフルエンザウイルス (H3N2) が増殖するかどうかを確認したところ、効率よく増殖することを確認した。

2 次元鼻腔オルガノイドの培養法に関しては、凍結保存の可能性を検討した。適切な時期に 2 次元鼻腔オルガノイドを凍結保存することで起眠させることができたが、その効率が低かったことから、今後も最適な凍結条件および起眠条件の検討を続ける計画である。