

2023年6月6日

京都大学 iPS 細胞研究所(CiRA)

東京大学医科学研究所

## ヒト iPS 細胞由来大腸オルガノイドおよびヒトケラチノサイトを用いた mpox ウイルス 2022 年株の解析

### ポイント

- mpox<sup>注1</sup> ウイルス (MPXV) はヒトケラチノサイト<sup>注2</sup> およびヒト iPS 細胞由来大腸オルガノイド<sup>注3</sup> に感染可能であり、特にヒトケラチノサイトにおいて高い感染効率を示した。
- ヒトケラチノサイトおよびヒト iPS 細胞由来大腸オルガノイドを用いて、MPXV 2022 年アウトブレイク株 (2022 MPXV) と MPXV 従来株の比較解析を行った。
- 2022 MPXV を感染させたヒトケラチノサイトにおいて、低酸素症に関する遺伝子の発現量が上昇した。
- 従来株である Zr-599<sup>注4</sup> を感染させたヒト iPS 細胞由来大腸オルガノイドにおいて、腸管の機能障害が確認された。

### 1. 要旨

渡邊幸夫 研究員 (CiRA 増殖分化機構研究部門)、木村出海 特任研究員 (東京大学医科学研究所システムウイルス学分野: 研究当時)、橋本里菜 研究員 (CiRA 同部門)、G2P コンソーシアム、佐藤佳 教授 (東京大学医科学研究所同分野)、高山和雄 講師 (CiRA 同部門) らの研究チームは、ヒトケラチノサイトおよびヒト iPS 細胞由来大腸オルガノイドを用いて、mpox ウイルス (MPXV) の感染実験を行い、MPXV 従来株および MPXV 2022 年アウトブレイク株 (2022 MPXV) のウイルス学的特徴を明らかにしました。

本研究では、ヒトケラチノサイト (以下、ケラチノサイト) とヒト iPS 細胞由来の大腸オルガノイド (以下、大腸オルガノイド) に対して、クレード I (Zr-599)、クレード IIa (Liberia<sup>注5</sup>)、クレード IIb (2022 MPXV) の 3 系統の MPXV の感染実験を行い、MPXV 感染レベルの評価および感染に対する宿主応答の解析を行いました。

3 系統のウイルスは、いずれもケラチノサイトおよび大腸オルガノイドに感染することが確認され、特にケラチノサイトにおいて約 7~42 倍の高い感染効率を示しました。また、ウイルス感染によりケラチノサイトの機能障害およびミトコンドリア障害を引き起こすことが示唆されました。さらに、2022 MPXV を感染させたケラチノサイトでは、低酸素症に関連する遺伝子の発現量の上昇がみられ、Zr-599 MPXV を感染させたヒト iPS 細胞由来大腸オルガノイドでは、腸管の機能障害がみられました。

今回評価したヒトの皮膚と腸管の MPXV 感染モデルが、2022 MPXV のウイルス学的特徴のさらなる解析と mpox 治療薬探索に役立つことが期待されます。

この研究成果は 2023 年 6 月 6 日午後 9 時（日本時間）に「*Journal of Medical Virology*」でオンライン公開されました。

## 2. 研究の背景

1970 年、コンゴ民主共和国において mpox の最初の症例が確認されて以降、中東アフリカでは mpox 患者が継続的に確認されてきました。2022 年に MPXV の新しい系統（2022 MPXV）が出現し、現在では欧米諸国などアフリカ以外の地域でも感染が広がっています。MPXV はクレード I、IIa、IIb の 3 つの系統に分類されます。2022 MPXV はクレード IIb に属し、クレード I よりも致死性が低いことが知られています。また、mpox の症状として発疹、発熱、頭痛やリンパ節腫脹などがあげられますが、2022 MPXV 感染者は特に直腸や生殖器周辺の発疹が多く見られることがわかっています。しかし、MPXV 系統間のウイルス学的な特徴の比較は十分ではなく、2022 MPXV についてのより詳細な解析を進める必要があります。

そこで本研究では、ケラチノサイトおよび iPS 細胞由来大腸オルガノイドに対して、クレード I、IIa、IIb の 3 系統の MPXV を感染させ、2022 MPXV のウイルス学的特徴の同定と各部位における宿主応答の解析を試みました。

## 3. 研究結果

### 1) MPXV は大腸オルガノイドよりもケラチノサイトに感染しやすい

この感染実験では、クレード I、IIa、IIb の 3 系統の MPXV としてそれぞれ Zr-599、Liberia、2022 MPXV を用いました（図 1）。

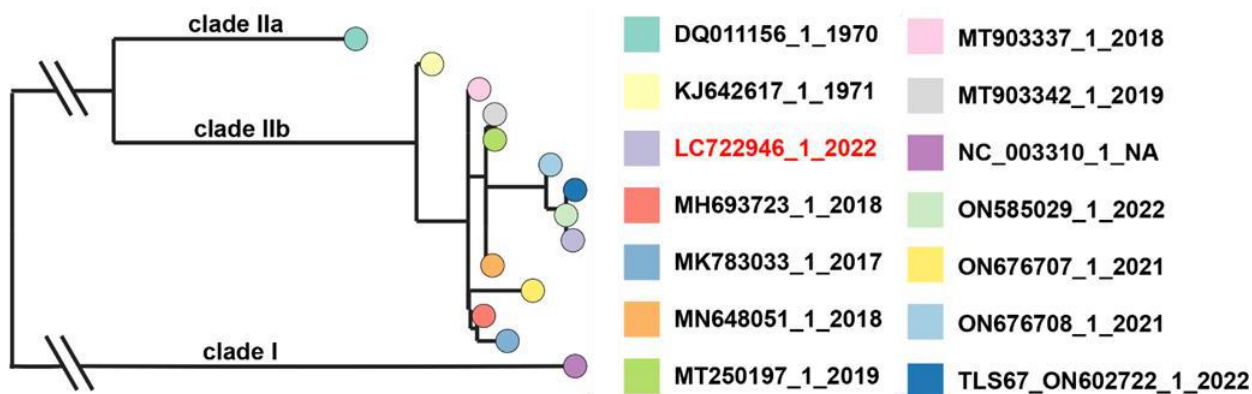


図 1：本研究で用いた MPXV

Zr-599 はクレード I、Liberia はクレード IIa、2022 MPXV はクレード IIb に属する。  
本研究で使用した 2022 MPXV は赤字で示す。

3 系統の MPXV を、ケラチノサイトおよび大腸オルガノイドに 3 日間感染させました (図 2 A)。感染 1、2、3 日目のケラチノサイトおよび大腸オルガノイドの培養上清においてウイルスゲノムが検出されました (図 2 B)。2022MPXV を感染させたケラチノサイトにおいては、1 日目から 3 日目にかけてウイルスゲノム量が 16.7 倍に増加していた一方で、大腸オルガノイドでは 1.4 倍程度でほぼ変化していませんでした。また、大腸オルガノイドよりもケラチノサイトのほうが MPXV mRNA 発現量が高いことが示されました (図 2 C)。これらの結果は、2022 MPXV が MPXV 従来株と同様に、ケラチノサイトへの感染指向性が高いことが示唆されました。

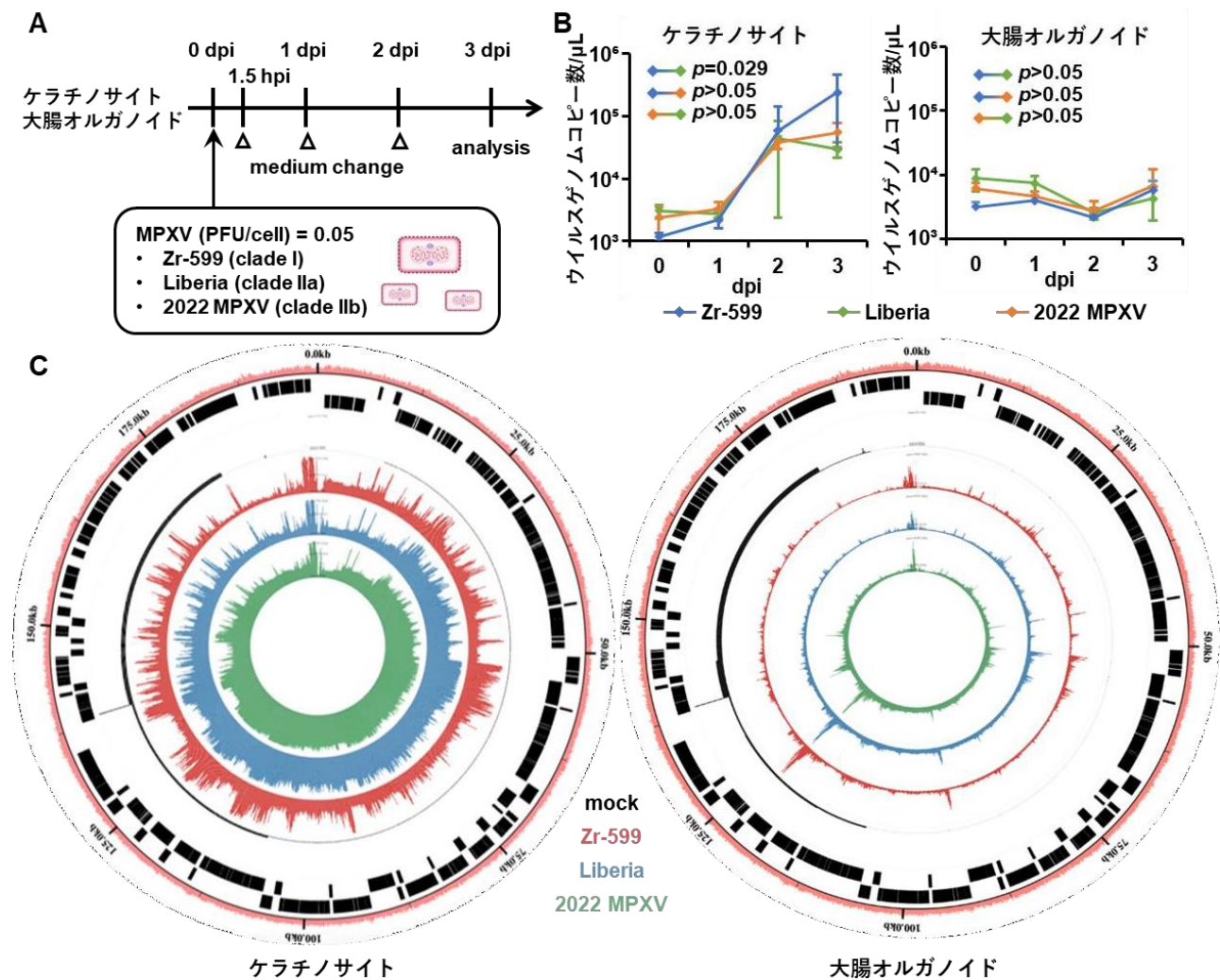


図 2 : ケラチノサイトおよび大腸オルガノイドへの MPXV 感染実験

- (A) 感染実験の手順  
 (B) 各細胞における培養上清中のウイルスゲノム量の経時変化  
 (C) 各細胞における MPXV mRNA 発現の分布を示したサーコスプロット



## 2) MPXV を感染させたケラチノサイトの解析

MPXV の感染は、どの系統の場合もケラチノサイトの形態異常を引き起こしました (図 3A)。また、MPXV 感染によってケラチノサイトのマーカーである KRT10 の発現がほぼ消失しました (図 3B)。これらの結果は、MPXV 感染がケラチノサイトの細胞障害を引き起こすことを示しています。

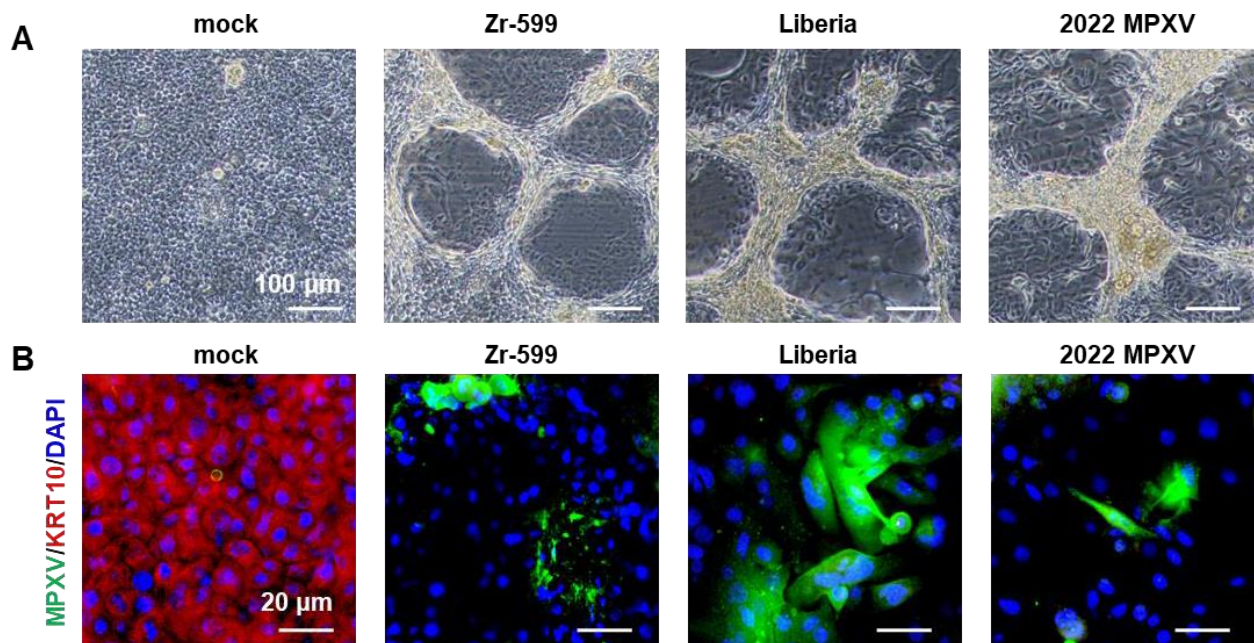


図 3 : MPXV を感染させたケラチノサイト

- (A) MPXV 感染によりケラチノサイトが形態異常を起こす様子。
- (B) MPXV 感染によりケラチノサイトのマーカー (KRT10) が消失する様子。

次に、MPXV 感染によるケラチノサイトの宿主応答を調べるために、網羅的遺伝子発現を解析しました。クラスタリング解析により、2022 MPXV は MPXV 従来株と比較して遺伝子発現プロファイルが異なることが示唆されました (図 4A)。また、MPXV 感染により発現上昇あるいは減少した上位 10 個の遺伝子群を調べたところ、どのMPXV の系統もケラチノサイトの機能およびミトコンドリア機能に関わる遺伝子群の発現が低下していました (図 4B)。一方で、MPXV 感染によりヌクレオソーム<sup>注6</sup>の構築に関わる遺伝子群の発現上昇が確認されました (図 4B)。以上のことから、MPXV 感染による 3 系統で共通の遺伝子発現プロファイルの変動を明らかにしました。

続いて、ケラチノサイトにおいて、2022 MPXV 感染に特異的な遺伝子発現変動について評価しました。その結果、2022 MPXV 感染群に特異的に、低酸素症<sup>注7</sup>への応答を示す遺伝子群の発現上昇が確認されました (図 4C)。したがって、2022 MPXV が MPXV 従来株と異なるメカニズムで皮膚障害を生じさせる可能性が示唆されました。

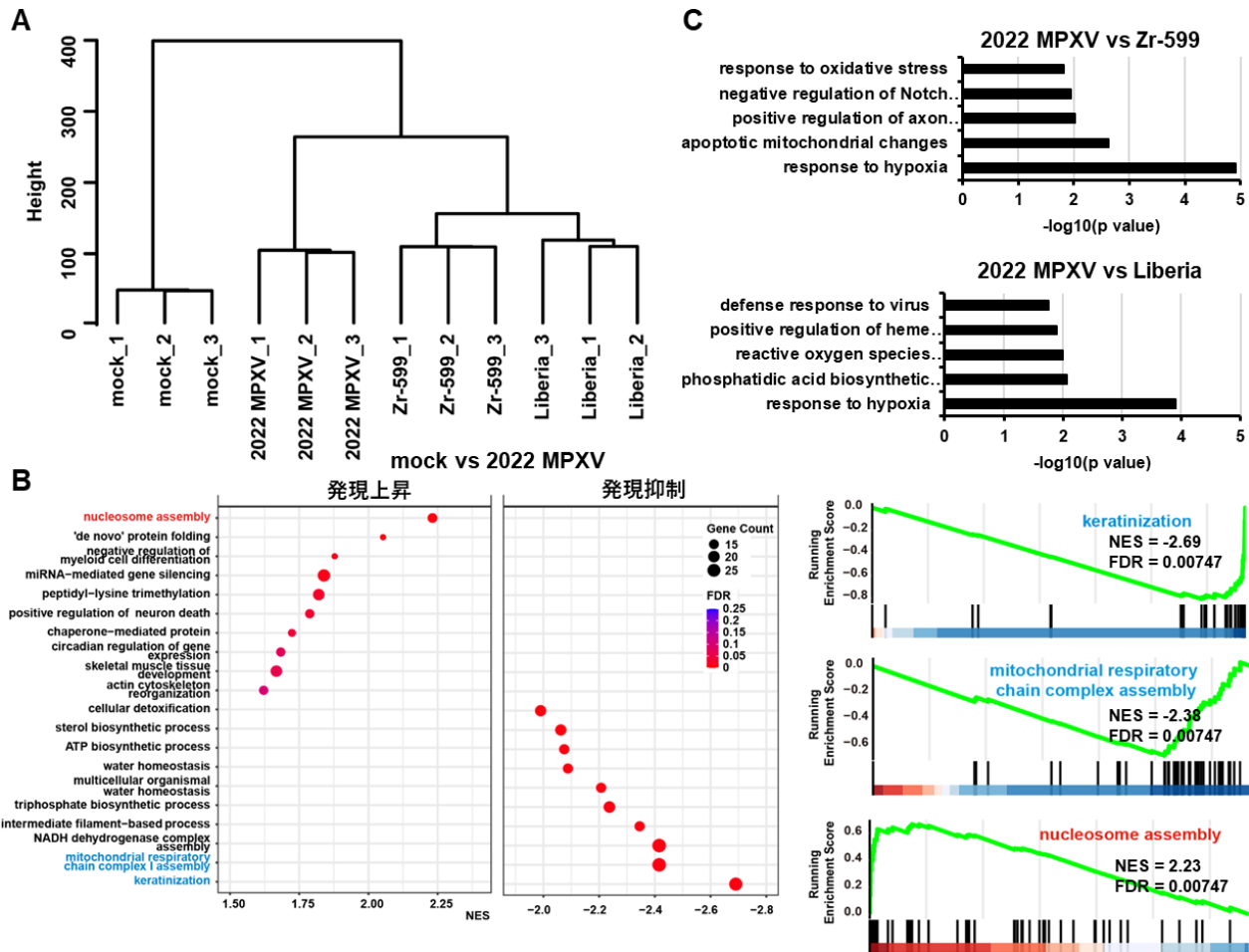


図 4：MPXV を感染させたケラチノサイトにおける遺伝子発現解析

- (A) クラスタリング解析の結果。2022 MPXV のみ異なる遺伝子プロファイルを示す
- (B) エンリッチメント解析の結果。MPXV 感染によりヌクレオソームアセンブリなどに関わる遺伝子発現が変化している。
- (C) DAVID を用いたエンリッチメント解析の結果。MPXV 感染により低酸素症に応答する遺伝子発現が上昇している。

### 3) MPXV を感染させた大腸オルガノイドの解析

MPXV を感染させた大腸オルガノイドについても、網羅的遺伝子発現解析を実施しました。クラスタリング解析の結果、Zr-599 感染群は他のMPXV 株とは異なる遺伝子発現プロファイルを示すことがわかりました (図 5 A)。Zr-599 感染群においては、亜鉛への応答および亜鉛の恒常性に関わる遺伝子群の発現が減少していました (図 5 B)。亜鉛の吸収・排泄は腸管の恒常性に重要であることが知られています。Zr-599 感染群において、亜鉛の適量維持に必要な MT1G<sup>注8</sup> のタンパク質発現が減少していることが確認されました (図 5 C)。過去に、Zr-599 が霊長類において重度の腸管障害を引き起こすことは報告されています。これらの結果から、Zr-599 感染により腸管における亜鉛の量の均衡が崩れ、腸管障害を誘導する可能性が示唆されました。

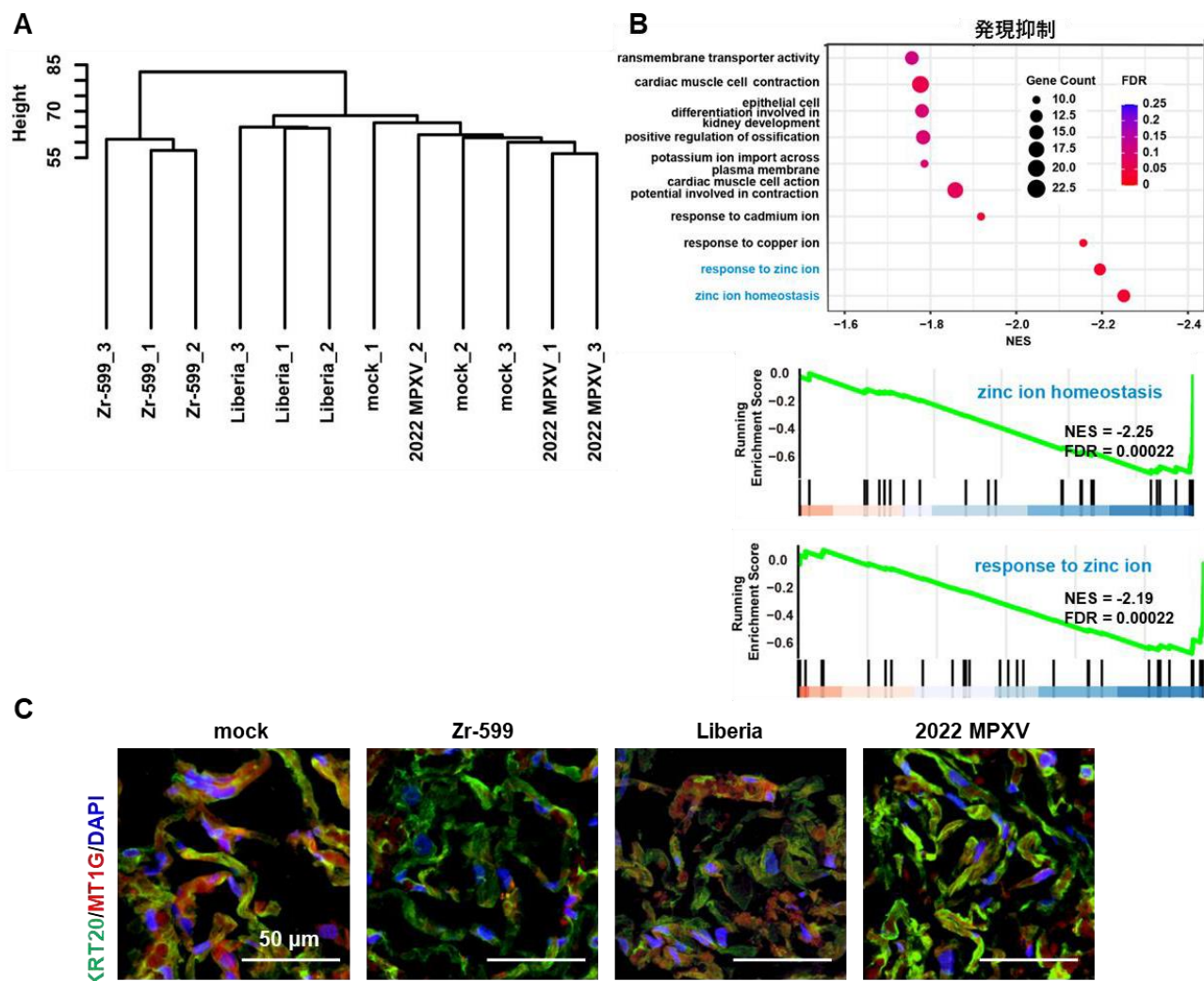


図 5 : MPXV を感染させた大腸オルガノイドにおける遺伝子発現解析

- (A) クラスタリング解析の結果。Zr-599 のみ異なる遺伝子プロファイルを示す。
- (B) エンリッチメント解析の結果。Zr-599 感染により亜鉛の調節に関わる遺伝子発現が変化している。
- (C) 免疫染色画像。Zr-599 感染により、亜鉛調節に関わる MT1G のタンパク質発現が減少する。

#### 4. まとめと展望

本研究では、ヒトケラチノサイトとヒト iPS 細胞由来大腸オルガノイドを用いて、MPXV 感染と宿主応答の両方を評価することに成功しました。MPXV タンパク質を標的とする治療薬はすでにいくつか開発されていますが、ヒト細胞におけるそれらの抗ウイルス効果は十分に検討されていません。本研究のモデルを用いることで、抗ウイルス薬だけでなく、皮膚および大腸における障害を改善する治療薬候補も評価可能です。新型コロナウイルスと同様に、MPXV は新しい変異を獲得する可能性があるため、今後もさまざまな薬の開発が必要です。本研究成果が mpox の理解を深め、mpox 治療薬開発の促進につながることを期待されます。

---

---

## 5. 論文名と著者

### ○ 論文名

“Virological characterization of the 2022 outbreak-causing monkeypox virus using human keratinocytes and colon organoids”

### ○ ジャーナル名

Journal of Medical Virology

### ○ 著者

Yukio Watanabe<sup>1\*</sup>, Izumi Kimura<sup>2\*</sup>, Rina Hashimoto<sup>1\*</sup>, Ayaka Sakamoto<sup>1</sup>, Naoko Yasuhara<sup>1</sup>, Takuya Yamamoto<sup>1,3,4</sup>, The Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium, Kei Sato<sup>2,5,6,7\*\*</sup>, Kazuo Takayama<sup>1,8\*\*</sup>

\*筆頭著者 \*\*責任著者

### ○ 著者の所属機関

- 1 京都大学 iPS 細胞研究所(CiRA)
- 2 東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 システムウイルス学分野
- 3 理化学研究所革新知能統合研究センター (AIP) iPS 細胞連携医学的リスク回避チーム
- 4 京都大学高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点 (WPI-ASHBi)
- 5 東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター
- 6 東京大学医科学研究所 国際ワクチンデザインセンター
- 7 熊本大学 ヒトレトロウイルス学共同研究センター
- 8 日本医療研究開発機構革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST)

### ○ DOI

10.1002/jmv.28827

### ○ URL

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmv.28827>

---

---

## 6. 本研究への支援

本研究は、主に以下の支援を受けて実施されました。

- 京都大学基金 iPS 細胞研究基金
- 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (JP21gm1610005、JP21fk0108425、JP223fa727002、JP223fa627001)

---

---

## 7. 用語説明

注 1) mpox

昨年まではサル痘と呼ばれていた感染症。

注 2) ヒトケラチノサイト

ヒトの表皮を構成する細胞の 90%以上を占める細胞。

---

注 3) 大腸オルガノイド

大腸上皮細胞などからなる大腸様三次元構造体。

注 4) Zr-599

本研究で用いた MPXV 従来株の一つ。クレード I に属し、コンゴ型と呼ばれる。

注 5) Liberia

本研究で用いた MPXV 従来株の一つ。クレード IIa に属し、西アフリカ型と呼ばれる。

注 6) ヌクレオソーム

ヒストンに DNA が巻き付いた構造。

注 7) 低酸素症

細胞や組織が低酸素状態に置かれていること。

注 8) MT1G

メタロチオネイン (metallothionein) -1G。亜鉛を含む金属イオン結合タンパク質。

問い合わせ先： 京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA)  
国際広報室  
<https://www.cira.kyoto-u.ac.jp>

東京大学医科学研究所  
国際学術連携室 (広報)  
<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/>