The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Expression of the readthrough transcript CiDRE in alveolar macrophages boosts SARS-CoV-2 susceptibility and promotes COVID-19 severity
Author(s)	光井, 雄一
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92913
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	光井　雄一
論文題名 Title	Expression of the readthrough transcript CiDRE in alveolar macrophages boosts SARS-CoV-2 susceptibility and promotes COVID-19 severity (肺胞マクロファージにおけるリードスルー転写産物CiDREの発現はSARS-CoV-2感染性を高め、COVID-19重症化を促進する)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の一部の患者では重症肺炎をきたして致死的となることが分かっている。しかしながら、どのような患者で重症化が起こるのか、その分子メカニズムは完全に理解されていない。肺の免疫系を司る主要な細胞である肺胞マクロファージは、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の感染に必要なACE2受容体の発現が低く、これまでCOVID-19の重症化には大きく関与していないと考えられてきた。しかしながら、最近の研究でCOVID-19重症患者の肺胞マクロファージからSARS-CoV-2のRNAが検出され、肺胞マクロファージが感染の増悪を引き起こす様々な炎症性サイトカインやケモカインを分泌しているということが明らかになってきた。そこで我々は、COVID-19重症化メカニズムの一端を肺胞マクロファージが担っているのではないかと考え本研究に着手した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

まずハムスターSARS-CoV-2感染モデルを用いて、重症COVID-19肺の遺伝子変動を網羅的に解析し、IL-10の働きに着目した。患者血清を用いたELISAでは、入院後にCOVID-19が重症化した患者で診断時（重症化前）のIL-10濃度が有意に高くなっていた。次に、マウス肺胞マクロファージをIL-10で刺激したところ、ACE2の発現が有意に上昇することが明らかとなった。また、IL-10刺激後の肺胞マクロファージでは、通常は起こらないSARS-CoV-2の感染と細胞内増幅が様々なウイルス株で確認された。さらに、あらかじめクロドロン酸リポソーム（CLP）を気管内投与して肺胞マクロファージを欠損させたハムスターを用いてSARS-CoV-2感染を行ったところ、CLP投与群ではCOVID-19重症化が有意に抑制されることが確認された。また、IL-10受容体（IL-10R）に対する阻害抗体を用いて同様の実験を行ったところ、抗体投与群でCOVID-19重症化が有意に抑制されることが確認された。以上の実験から、COVID-19の重症化には肺胞マクロファージへのIL-10刺激が重要であると結論づけられた。

COVID-19のGWASデータを解析し、IL-10Rの構成要素である*IL10RB*遺伝子の近傍の一塩基多型（SNP）であるrs13050728に着目した。rs13050728がT/T遺伝型のヒト単球・マクロファージでは、C/C遺伝型と比較して*IFNAR2*と*IL10RB*の2つの遺伝子領域をまたぐスプライシングが高頻度に起こり、その結果生成される*IFNAR2-IL10RB*リードスルー転写産物がCOVID-19の重症化と関連することが明らかとなった。さらに、Alphahold2を用いた解析により、この転写産物がコードするIFNAR2-IL-10RB融合タンパク質は細胞外にIFNAR2とIL-10RBの2つのドメインを有し、細胞内にはIL-10RB単独のドメインを持つことが明らかとなった。そこで、我々はこのタンパク質をCOVID-19 infectivity enhancing dual receptor (CiDRE)と命名し機能解析を行うことにした。CiDREを強制発現させたマウス肺胞マクロファージでは、通常の肺胞マクロファージと比較してIL-10のシグナルが顕著に増強し、ACE2発現量とSARS-CoV-2感染量が有意に増加することが明らかとなった。また、CiDREはIL-10だけでなくIFN-αとも結合し、IFN-α下流のJAK-STATシグナルを減弱させる働きも持つことが確認された。これらの結果から、CiDREは肺胞マクロファージにおいて、IL-10と結合してACE2の発現を増強しウイルス感染を助長する一方で、抗ウイルス応答を示すIFN-αを捕捉しその下流シグナルを減弱化させるデコイ受容体としての機能も保有することが明らかとなった。最後に、ヒトの気管支肺胞洗浄液から肺胞マクロファージを単離して解析を行ったところ、実際にT/T遺伝型のヒト肺胞マクロファージではC/C遺伝型と比較してCiDREの発現量が高く、IL-10応答が増強していることが明らかとなった。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究により、肺胞マクロファージがIL-10による刺激を受けてSARS-CoV-2に対する感染性を獲得し、COVID-19の重症化へ寄与することが明らかになった。また、COVID-19重症化のリスクSNPが*IFNAR2-IL10RB*間のリードスルー転写を介してユニークな受容体CiDREの発現を誘導し、それによるIL-10応答の増強がCOVID-19の重症化をさらに促進させることを明らかにした。以上より、マクロファージの個体間多様性がヒトの遺伝子多型によって規定され疾患感受性（病気のなりやすさ）につながることが示された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　光井　雄一

		（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	熊ノ郷 淳
	副　査	大阪大学教授	新谷 康
	副　査	大阪大学教授	竹田 潔

論文審査の結果の要旨

本論文の研究により、肺胞マクロファージが抗炎症サイトカインであるIL-10の刺激を受けて新型コロナウイルスに対する感染性を獲得し、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の重症化へ寄与することが明らかになった。また、IFNAR2－IL10RB遺伝子領域の一塩基多型がユニークな受容体であるCiDREの発現を誘導し、IL-10応答の増強を介してCOVID-19をさらに重症化させることが明らかになった。ヒトの免疫細胞がゲノム一塩基の違いによって機能を変化させ、それが病気のなりやすさとつながっているという事実は、COVID-19のみならずヒト疾患と免疫細胞との関わりを明らかにしていく上で非常に重要な発見といえる。以上より、申請者は学位の授与に値すると考えられる。