

新型コロナウイルスの感染予防が期待される化合物の同定

1. 発表者

藤枝 重治（福井大学医学部感覚運動医学講座 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 教授）

高林 哲司（福井大学医学部感覚運動医学講座 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 講師）

2. ポイント：

- 新型コロナウイルスのヒトへの感染の際に受容体として機能するACE2（注1）の発現量は感染性や重症化に影響する。
- 上気道におけるACE2の発現量を減少させることができれば感染の防止、重症化の予防、および他人への感染防止に対して効果が期待できる。
- 本研究では「プロピオン酸及びプロピオン酸Na」が気道上皮細胞のACE2受容体を減少させることをヒト気管支上皮細胞（NHBE）（注2）およびヒト鼻粘膜上皮細胞（注3）を用いた*in vitro**で明らかにした。
- 本研究成果を受け、特許を出願済みである。
- 本成果は研究段階であり、実用化にはさらなる開発が必要である。
- この研究成果による「プロピオン酸及びプロピオン酸Na」を応用した鼻腔内への噴霧液、うがい薬などの予防製品の開発を目指す企業を募集する。

* *in vitro* 試験管内で行う実験手法を指す。本研究ではヒト気管支上皮細胞（NHBE）とヒト鼻粘膜上皮細胞を用いて実験を行っている

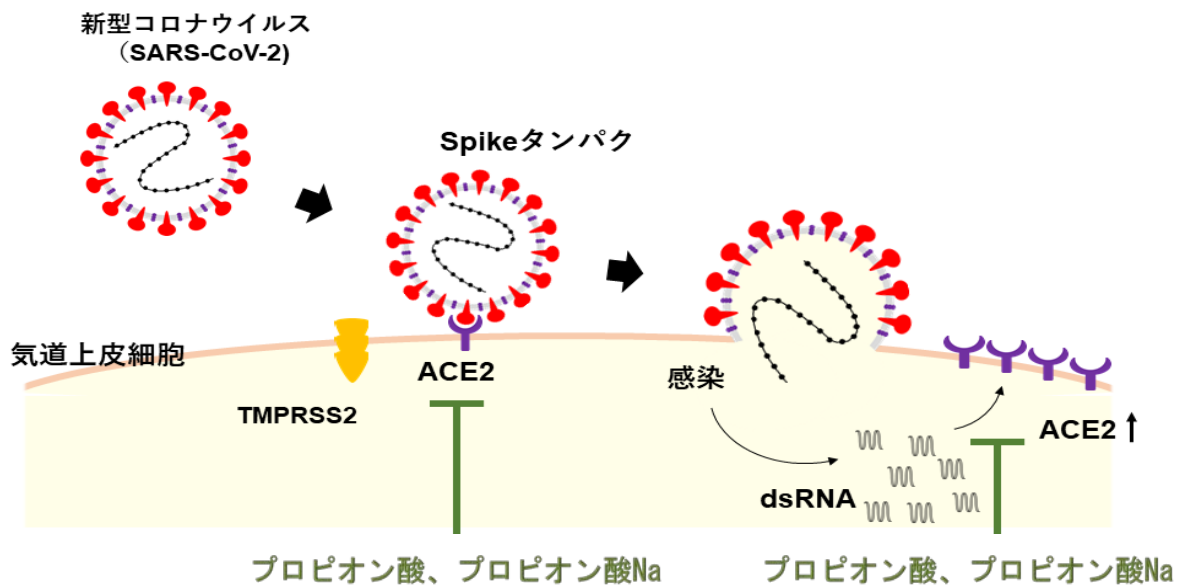
3. 研究成果の概要

1：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）のヒトへの感染には、コロナウイルスの「Sタンパク質」がヒトの細胞表面の受容体「ACE2」結合して、細胞内に取り込まれて発症することがわかっている。本研究では*in vitro*により「プロピオン酸及びプロピオン酸Na」を気道上皮細胞に添加したところ、気道上皮細胞の「ACE2」の発現量が抑制されることを確認した。

2：ヒトにおけるACE2の発現は気道上皮細胞に多く、特に上気道である鼻粘膜に多いことが分かっている。またACE2の発現量の増加は喫煙者、糖尿病、心血管系疾患の患者で多く、これらは新型コロナウイルス感染症（COVID-19）のリスク因子であることが分かっている。このことから鼻粘膜におけるACE2の発現量を減らす事が出来れば新型コロナウイルスの感染に対する予防および重症化を防止できる可能性がある。

3：新型コロナウイルスは感染の際に多量のdsRNA(二本鎖RNA) (注4) を放出する。dsRNAは気道上皮におけるACE2の発現量を著しく増加させることが先行研究で分かっている。このため新型コロナウイルスに感染すると、dsRNAの放出によって近傍の細胞におけるACE2の発現量が増加し、更なる感染を誘導するという「フィードバックループ」が形成される事を示している。本研究では、dsRNAによって増加したACE2の発現量を抑制し、このフィードバックループをブロックする事でCOVID-19の重症化を防止できるほか、上気道でのウイルス量を減らすことによって他人への感染のリスクも減らす事が出来ると考えている。

4：風邪症候群の原因ウイルスも感染の際に同じくdsRNAが放出されるため、風邪に罹患すると新型コロナウイルス感染に対する感染性が増加する可能性がある。プロピオン酸及びプロピオン酸Naはウイルス感染による風邪症候群患者に対しても新型コロナウイルス感染予防効果が期待できる。



1. プロピオン酸及びプロピオン酸Naによって気道上皮細胞のACE2の発現が抑制される
2. プロピオン酸及びプロピオン酸Naはウイルス感染によって放出されたdsRNAによる気道上皮のACE2量の増加を抑制する

4. 本研究成果

(研究の背景)

2019年3月に中国で発生した新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)は「SARS-CoV-2」が原因ウイルスであり、その高い感染力から瞬く間に世界中に広がり2020年3月にはWHOがパンデミックを宣言した。COVID-19は同じコロナウイルス感染症であるSARSやMARSと比較して致死率は低いものの人から人への感染力が非常に強く、世界の感染者数は5400万人を突破し現在も急激に増加している。市中感染が多いこともCOVID-19の特徴であるが、これはウイルスに感染後、症状を自覚する前、または症状が軽い時期にウイルスが上気道で増殖し排出されるためであると考えられている。SARS-CoV-2はウイルスのエンベロープ (外膜) に存在するspikeタンパク (Sタンパク質) がヒトの細胞膜の表面に存在するACE2に結合し細胞へ侵入する。ACE2を介した感染様式はSARSや風邪症候群の原因ウイルスであるcoronavirus NL63の感染の際にも認められ、ACE2の発現量やspikeタンパクに対する親和性はウイルスの増殖率や重症度に影響する事が報告されている (文献1、2)。ACE2発現量の増加は喫煙者、糖尿病、心血管系疾患の患者で増加しており、これらはいずれもCOVID-19の重症化のリスクであることが報告されている。SARS-CoV-2のspikeタンパクのACE2に対する結合力はSARS-CoVの10-20倍との報告もありCOVID-19の感染力の強さの原因の一つであると考えられる (文献3)。新型コロナウイルスは気道上皮に感染する。受容体であるACE2の発現は上気道、下気道両方に認められるものの上気道、特に鼻腔粘膜上皮で最も多いと報告されている (図1)。つまり鼻腔粘膜上皮はSARS-CoV-2感染の最初のターゲットであり、ここでウイルスが複製され増殖することによって、感染者の重症化、さらには他人への感染へと繋がるものであると予想される (文献4)。この事から鼻腔粘膜上皮におけるACE2発現を効果的に減らすことで、COVID-19の感染の予防、および重症化を効果的に防止できる可能性がある。

(研究の内容)

プロピオン酸及びプロピオン酸Naは生体に発現している受容体を介してその効果を発揮する。今回の研究では、プロピオン酸及びプロピオン酸Naが鼻粘膜上皮細胞を含めた気道上皮細胞におけるSARS-CoV-2の受容体であるACE2の発現量を抑制する効果があるかどうかを検討した。その結果、プロピオン酸及びプロピオン酸Naは、NHBE細胞 (正常ヒト気管支上皮細胞)、鼻粘膜上皮細胞におけるACE2の遺伝子の発現レベルを抑制した。

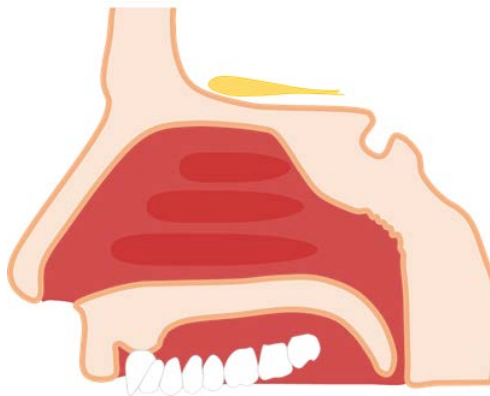
SARS-CoV-2は一本鎖プラス鎖RNAウイルスであり生体に感染する際に多量のdsRNA (double strand RNA) が生じる。このdsRNAは生体に多様な免疫反応を誘導する事が知られているが、dsRNAの作用によって気道上皮におけるACE2の発現量を著明に増加させる事が報告されており (文献6)、我々の研究でもこの現象はNHBE細胞、および鼻粘膜上皮細胞において確認できた。この事はSARS-CoV-2が感染によって気道上皮におけるACE2の発現量を増加させ、ウイルス感染を増長させるフィードバックループを形成していると考えられる。つまりSARS-CoV-2が気道上皮細胞に感染することによってdsRNAが放出され、近傍の細胞におけるACE2の発現が増加することによって、更にSARS-CoV-2に対する感染性が増加し、ウイルスの感染、複製、排出が起こる事が予想される。また風邪症候群の原因となるライノウイルスやコロナウイルスの感染の際にもdsRNAが放出されるため、風邪に罹患した状態であればACE2の増加による新型コロナウイルスに対する感染リスクが高くなることが予想される。このウイルス増殖のフィードバックループを断ち切る事が出来れば、COVID-19の重症化の予防、他人への感染防止に有効であると考え、プロピオン酸及びプロピオン酸Naがこのフィードバック

ループに与える影響について検討した。その結果、プロピオン酸及びプロピオン酸Naを添加することによって、dsRNA刺激によって増加したNHBE細胞におけるACE2の発現量を抑制し、高濃度ではdsRNA刺激がない状態と同レベルにまで抑制する事が分かった。鼻粘膜上皮細胞においても同様の効果を確認した。

(今後の展開)

プロピオン酸は腸内で産生される短鎖脂肪酸の一つであるが工業的にも大量生産されている物質である。プロピオン酸、およびプロピオン酸Naは添加物として使用されている物質で安全性に関しても大きな問題はないと思われる。実際の使用方法としては鼻腔内への噴霧液、うがい薬などへの応用が可能であり、本成果を実用化してくれる企業を募集している。

図1
鼻腔モデル



参考文献

- 1, Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 2020; 181:271-80. e8.
- 2, Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020; 579:270-3.
- 3, Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 2020; 367:1260-3.

4, Sungnak W, Huang N, Bécavin C, Berg M, Queen R, Litvinukova M, et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med* 2020; 26:681-7.

5, Imoto Y, Kato A, Takabayashi T, Sakashita M, Norton JE, Suh LA, et al. Short-chain fatty acids induce tissue plasminogen activator in airway epithelial cells via GPR41&43. *Clin Exp Allergy* 2018; 48:544-54.

6, Smith JC, Sausville EL, Girish V, Yuan ML, Vasudevan A, John KM, et al. Cigarette Smoke Exposure and Inflammatory Signaling Increase the Expression of the SARS-CoV-2 Receptor ACE2 in the Respiratory Tract. *Dev Cell* 2020; 53:514-29. e3.

5. 発表雑誌

このリリースに関する研究成果について投稿中。

6. 用語解説

(注1) ACE2: Angiotensin-converting enzyme 2 (アンジオテンシン変換酵素2)
新型コロナウイルスSARS-CoV-2)のspikeタンパク質(Sタンパク質)と宿主細胞受容体である「ACE2」が結合して、ヒトの細胞へと侵入する。ACE2は主にアンジオテンシンIIからアンジオテンシン-(1-7)への変換を行って血圧上昇のレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系を抑制する酵素である。

(注2) NHBE細胞: 正常ヒト気管支上皮細胞。ヒトの肺組織から採取し、適切な条件下で増殖させ培養した細胞。様々な刺激による気道上皮細胞の反応性を評価する際に用いられる。

(注3) 鼻粘膜上皮細胞: 正常ヒト鼻粘膜上皮細胞。ヒトの鼻粘膜組織から採取し、適切な条件下で増殖させ培養した細胞。様々な刺激による鼻粘膜上皮細胞の反応性を評価する際に用いられる。

(注4) dsRNA (double strand RNA): ウイルスの感染時には、ウイルスが複製される際に中間体として多量の dsRNA が生じる。放出された dsRNA は Toll-like receptor 3 を介して様々な活性や免疫応答を誘導する。

〈お問い合わせ先〉

(特許・技術移転に関すること)

国立大学法人 福井大学 産学官連携本部知的財産・技術移転部

(研究推進課研究企画管理・知的財産担当)

中山 淑恵 (なかやま よしえ)

〒910-8507 福井県福井市文京3丁目9番1号

TEL : 0776-27-9725 E-mail: titekiall@ml.u-fukui.ac.jp

(報道に関すること)

国立大学法人 福井大学 広報センター

林 美果 (はやし みか)

〒910-8507 福井県福井市文京 3-9-1

TEL : 0776-27-9733 E-mail : sskoho-k@ad.u-fukui.ac.jp