助成番号　210114	５－２

研 究 成 果 報 告 書

研究テーマ（和文）	オルガノイド培養系を駆使した SARS-CoV-2 に対する宿主免疫機構の解析		
研究テーマ（英文）	Studying host immune system against SARS-CoV-2 infection with organoids		
研究期間	2021年 ～ 2023年	研究機関名　国立感染症研究所	
研究代表者	氏名（漢字）	林　豪士	
	氏名（カタカナ）	ハヤシ　ツヨシ	
	氏名（英文）	Tsuyoshi Hayashi	
	所属機関・職名	国立感染症研究所　ウイルス第二部　主任研究官	
共同研究者 ＊２名をこえる場合は、【別紙追加用紙】(P3)に３人目以降を追記してください。	氏名（漢字）	村上　耕介	
	氏名（カタカナ）	ムラカミ　コウスケ	
	氏名（英文）	Kosuke Murakami	
	所属機関・職名	国立感染症研究所　感染症危機管理研究センター　室長	
	氏名（漢字）	染谷　雄一	
	氏名（カタカナ）	ソメヤ　ユウイチ	
	氏名（英文）	Yuichi Someya	
	所属機関・職名	国立感染症研究所　ウイルス第二部　室長	

概要 （600 字～800 字程度にまとめてください。）

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)感染症（COVID-19）患者において、発熱や呼吸器症状（咳、肺炎など）の他に、腹痛や下痢などの消化器症状を伴うことが知られている。また患者の気道分泌物のみならず糞便からもウイルスが検出されることから、腸管にも SARS-CoV-2 の標的細胞が存在することが示唆されている。事実、SARS-CoV-2 が *in vitro* において腸管細胞内で効率的に増殖することが報告されている。よって、SARS-CoV-2 の病原機構の全容を理解するうえで、呼吸器のみならず腸管内における増殖機構の解明も重要である。本研究では、培養細胞と比較してよりヒト生体（*in vivo*）に近い性質を持つオルガノイド培養系を駆使して SARS-CoV-2 に対する宿主免疫機構を解明することを目指した。

宿主抗ウイルス応答に主要な役割を担う JAK-STAT 経路を標的とした阻害剤ライブラリーを用いてスクリーニングを行ったところ、薬剤未処理群と比較して、JAK2 阻害剤（ガンドチニブ）処理した腸管オルガノイド内で SARS-CoV-2 の増殖が促進されることを見出した。次に、CRISPR/Cas9 法を用いて、JAK-STAT 経路の構成因子である STAT1 遺伝子を欠損した腸管オルガノイドを樹立した。当該細胞の SARS-CoV-2 増殖を評価したところ、STAT1 を発現する親細胞と比較して、顕著なウイルス増殖の促進が認められた。以上の結果から、JAK-STAT 経路が腸管オルガノイド内での SARS-CoV-2 増殖阻害に関与することが明らかとなった。さらに、JAK-STAT 経路非依存的に抗ウイルス活性を示すことが報告されている宿主因子の一つである NFKB1 遺伝子を欠損した腸管オルガノイドの作製にも成功した（現在解析中である）。

本研究により、SARS-CoV-2 感染に対する宿主免疫機構の一端が明らかとなった。今後さらに詳細な解析を進めることで、宿主の防御機構を利用した革新的な COVID-19 治療薬の開発に繋がることが期待される。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）

雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

It has been known that COVID-19 patients sometimes show gastrointestinal symptoms (e.g., abdominal pain, diarrhea) in addition to respiratory symptoms (e.g., cough, pneumonia). The viruses are detected in feces collected from the patients, suggesting the presence of cells susceptible to SARS-CoV-2 infection in the intestines. Indeed, SARS-CoV-2 efficiently replicates in intestine cell lines *in vitro*. Therefore, it is important to analyze the mechanism underlying SARS-CoV-2 infection and replication in the intestinal tract as well as in respiratory tract, in order to understand the comprehensive insight regarding SARS-CoV-2 infection mechanism. In this study, we aimed to elucidate the host immune mechanism against SARS-CoV-2 infection using an organoid culture system.

Through compound screening targeting JAK-STAT pathway, which plays a major role in host antiviral responses, we found that JAK2 inhibitor (gandotinib) promotes SARS-CoV-2 replication in human intestinal organoids (HIOs). We then established STAT1 gene-knockout HIOs by means of CRISPR/Cas9. The deletion of STAT1 gene in HIOs supported viral replication more efficiently than parental cells, demonstrating that JAK-STAT pathway contributes to the restriction of SARS-CoV-2 replication in HIOs.

More detailed analysis is encouraged to elucidate molecular mechanism underlying SARS-CoV-2 infection, which will contribute to development of innovative COVID-19 therapeutics.