

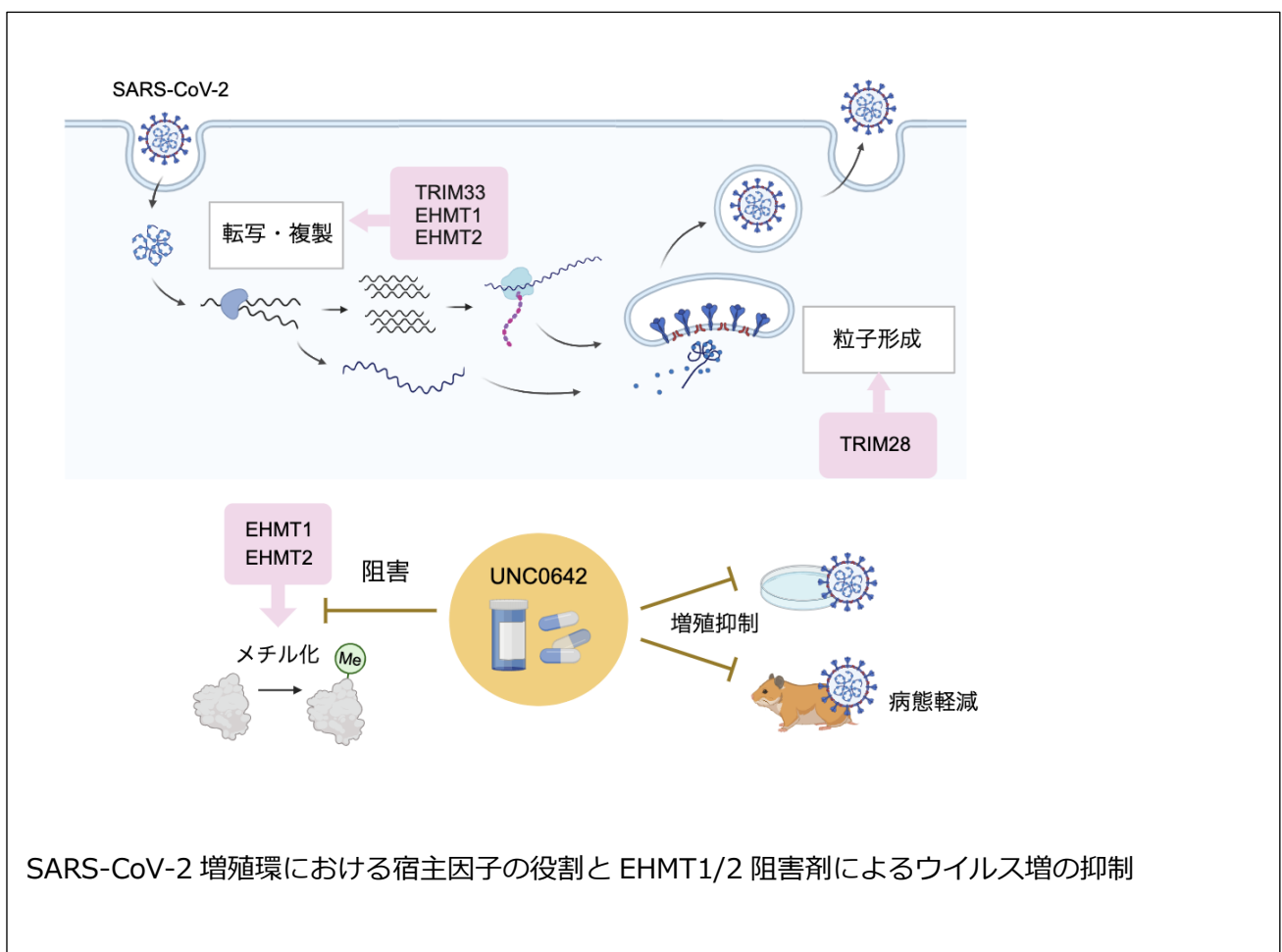
# 新型コロナウイルスの増殖に重要な宿主因子の発見

—新たな治療標的への期待—

## 概要

京都大学医生物学研究所の酒井まどか特定助教、牧野晶子准教授らの研究グループは、CRISPR-Cas9<sup>1</sup>を用いたヒト全ゲノムスクリーニングにより、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の増殖に重要な宿主因子として TRIM28<sup>2</sup>、TRIM33<sup>2</sup>、EHMT1<sup>3</sup>、EHMT2<sup>3</sup>を同定しました。同定した4つの遺伝子をノックアウトした細胞を用いた解析により、TRIM28はSARS-CoV-2の粒子形成、TRIM33、EHMT1、EHMT2は同ウイルスの転写または複製過程に関与することが示されました。またEHMT1/2の選択的阻害剤であるUNC0642<sup>4</sup>は同ウイルスの増殖を著しく抑制し、ハムスターモデルにおいても有効性を示しました。この発見は、新型コロナウイルスの新たな治療法の開発に貢献することが期待されます。

本研究成果は、2024年7月7日に国際学術誌「*iScience*」にオンライン掲載されました。



## 1. 背景

ウイルスは自身の増殖のために宿主細胞の機能（タンパク質）を利用します。新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）についても2019年12月に発生してから世界中の研究者がその感染メカニズムを解析しています。これまでに、感染受容体のアンジオテンシン変換酵素2（ACE2）をはじめとした様々な宿主因子を使って増殖することが明らかになりましたが、その全容は未解明です。ウイルスの感染メカニズムを詳細に解明することは、効果的な治療法の開発に繋がる重要なステップです。本研究は、SARS-CoV-2の増殖に関与する新たな宿主因子を同定し、ウイルスと宿主細胞の相互作用を理解することを目的としました。

## 2. 研究手法・成果

本研究では、CRISPR-Cas9による全ゲノムスクリーニング技術を用いて、ヒト肺上皮細胞であるA549細胞におけるSARS-CoV-2増殖に関与する重要な宿主因子としてTRIM28、TRIM33、EHMT1、EHMT2を同定しました。従来の研究では、SARS-CoV-2感染がA549細胞に細胞死を引き起こさないため、スクリーニングに時間を要したり、ウイルスのスパイク（S）タンパク質に欠損変異を導入したりする必要がありました。今回、精製したウイルスを使用することでA549細胞に細胞死を誘導できることを発見し、この方法をスクリーニングに応用しました。

スクリーニングの結果、TRIM28とTRIM33、EHMT1とEHMT2がウイルス増殖に関与することが明らかになりました。これらの遺伝子をノックアウトした細胞では、ウイルスの増殖が抑制されましたが、ACE2の発現量には変化がなく、ウイルスの細胞内侵入過程にも影響はありませんでした（図1）。

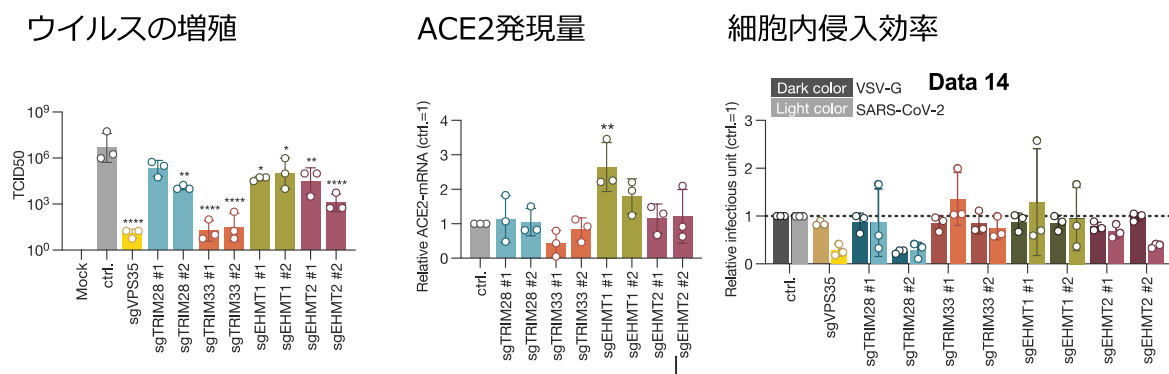


図1 同定した宿主因子のノックアウトによるSARS-CoV-2の増殖と細胞内侵入への影響

さらに、各遺伝子のノックアウトが自然免疫の誘導に与える影響を評価したところ、IFN $\beta$ 、IL-6、TNF $\alpha$ の発現量は変化しませんでした。TRIM33、EHMT1、EHMT2をノックアウトした細胞ではウイルスRNAとタンパク質の量が減少しましたが、TRIM28のノックアウトではこれらの量が増加しました。SARS-CoV-2は小胞体-ゴルジ体中間区画(ERGIC)でウイルス粒子を形成するため、感染細胞においてSタンパク質はERGICに局在します。しかし、TRIM28をノックアウトした細胞では、この局在が観察されず、電子顕微鏡下でもウイルス粒子が検出されませんでした（図2）。これらの結果から、TRIM28はウイルスの粒子形成に、TRIM33はウイルスの転写または複製に関与することが示唆されました。

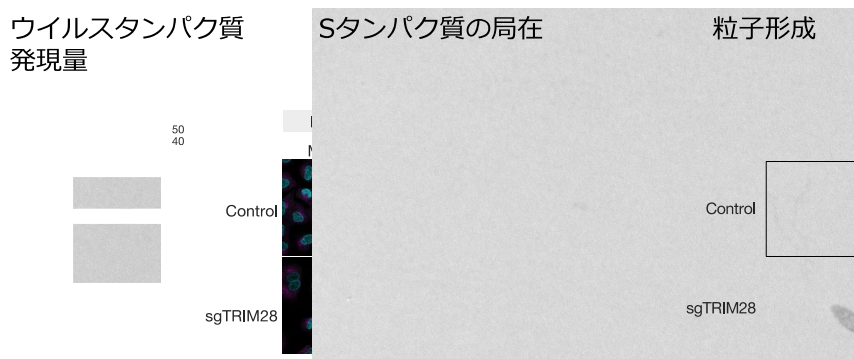


図2 TRIM28 は SARS-CoV-2 の粒子形成に関与する

EHMT1 と EHMT2 はヒストンと非ヒストンタンパク質のメチル化を行う酵素で、その活性は UNC0642 によって選択的に阻害されます。SARS-CoV-2 感染細胞に UNC0642 を添加したところ、濃度依存的にウイルスの増殖が抑制され、10  $\mu$ M の濃度では陰性対照と比較してウイルスの増殖が顕著に抑制されました。ハムスターに SARS-CoV-2 を感染させて UNC0642 を投与した実験でも、肺におけるウイルス量の減少と病態の軽減が観察されました (図 3)。これらの結果から、EHMT1 と EHMT2 がウイルスの転写または複製に関与し、EHMT1/2 が新たな治療標的として有望であることが示されました。

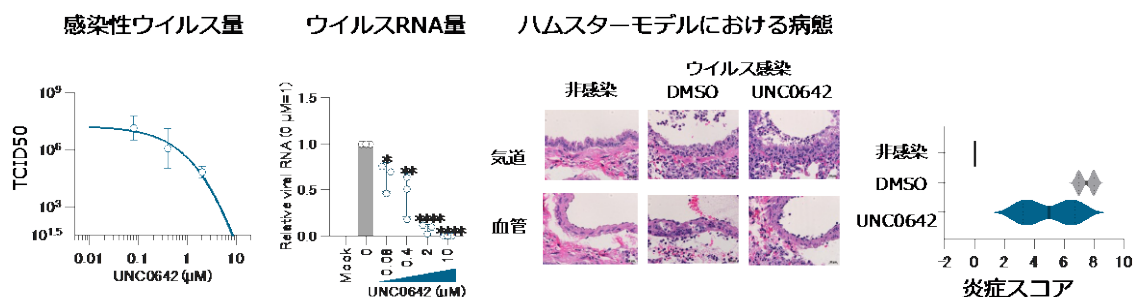


図3 EHMT1/2 阻害剤 UNC0642 によるウイルスの増殖抑制とハムスターモデルにおける病態の軽減

### 3. 波及効果、今後の予定

ウイルス感染症治療薬の開発は主にウイルスのみがもつタンパク質を標的として行われます。宿主因子を標的とする抗ウイルス薬は副作用の懸念から積極的に開発されてきませんでした。ウイルス感染症に対する多様な制御戦略を立てることは、今後の感染症対策の発展において重要であると考えられます。本研究成果は、新型コロナウイルス感染症の治療法開発における新たなアプローチを提供します。しかし、EHMT1/2 阻害剤の生体内での効果は限られており、最適な投与方法や副作用、耐性ウイルスの評価など、さらなる研究が必要です。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本医療研究開発機構 新興・再興感染症研究基盤創生事業 (多分野融合研究領域) 「先端的順逆遺伝学手法を用いた SARS-CoV-2 の伝播機構解明 (研究代表者: 牧野晶子)」の支援を受けて実施されました。

#### <用語解説>

1. CRISPR-Cas9 : 遺伝子編集技術の一つで、二本鎖 DNA を切断してゲノム配列の任意の場所に欠失、置換、

挿入することができます。

2. TRIM28/TRIM33：TRIM (Tripartite Motif) タンパク質ファミリーの一員で、転写制御などを行い、様々な生命現象と疾患に関与しています。
3. EHMT1/EHMT2：ヒストンメチル基転移酵素 Euchromatic histone-lysine N-methyltransferase で、ヒストンや非ヒストンタンパク質のメチル化を行います。
4. UNC0642：EHMT1/2 のメチルトランスフェラーゼ活性を選択的に阻害する化合物。

#### <研究者のコメント>

パンデミックが起これ世界中の研究者が凄まじいスピードでこのウイルスの詳細を解明していく中で、本研究に着手しました。研究規模の違いに気後れすることもありましたが、ウイルス学で初学で習うウイルス感染による細胞変性効果の観察に立ち返り、ウイルス精製というちょっとした工夫から先行研究とは異なる研究結果を得られた時は達成感がありました。本研究成果が今すぐ社会の役に立つわけではありませんが、予測不能な感染症に対する多様な戦略の一助となることを期待しています。(牧野晶子)

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：Genome-scale CRISPR-Cas9 screen identifies host factors as potential therapeutic targets for SARS-CoV-2 infection. (CRISPR-Cas9 スクリーニングによる SARS-CoV-2 感染の治療標的となり得る宿主因子の同定)

著者：Madoka Sakai, Yoshie Masuda, Yusuke Tarumoto, Naoyuki Aihara, Yugo Tsunoda, Michiko Iwata, Yumiko Kamiya, Ryo Komorizono, Takeshi Noda, Kosuke Yusa, Keizo Tomonaga, Akiko Makino

掲載誌：*iScience* DOI：10.1016/j.isci.2024.110475