

# 心臓オルガノイドを用いたウイルス性心筋炎の包括的研究

酒井宏治

国立感染症研究所

## 【研究の背景】

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の主な病態はウイルス性肺炎であるが、心筋炎を含む心臓障害も報告されている。申請者は、これまでに iPS 細胞から分化・誘導した肺オルガノイドとシングルセル解析を用い、SARS-CoV-2 やインフルエンザウイルス感染モデルの構築と詳細な病原性発現機序の解析を実施した<sup>1-3)</sup>。一方、ウイルス性心筋炎の病原性発現機序は詳細には解明されていないため、ヒト iPS 細胞から分化・誘導した心筋細胞を用いて、ウイルス学的研究基盤の構築を試みた。

## 【目 的】

新型コロナウイルス感染症は呼吸器疾患を主に引き起こし、「既存の心臓障害の増悪」や「新たな心臓障害を発生」させ、病態の重症化と関連しているが、それら詳細なメカニズムは不明である。本研究では、iPS 細胞由来の心臓オルガノイドとシングルセル解析を用いて、ウイルス性心筋炎の病原性発現機序の解明を試みる。また、本研究は、感染細胞の網羅的な遺伝子発現解析による新たな治療戦略の開発、複数のウイルスを用いた包括的な解析によるウイルス性心筋炎全般の病態解明にも寄与できると考えられる。

## 【方 法】

- (1)ウイルス感染モデルの確立:野生型 iPS 細胞から心臓オルガノイドを用いて、SARS-CoV-2(複数の変異株含む)及びインフルエンザウイルス(H1N1)、コクサッキーウイルス B 群(CVB)のウイルス学的解析を行った。また、SARS-CoV-2 受容体 ACE2 遺伝子を機能欠損させた遺伝子改変 iPS 細胞から心臓オルガノイドを用いて、心臓オルガノイドの SARS-CoV-2 感染において、ACE2 非依存的な細胞侵入機構の有無の検証を行った。
- (2)シングルセル解析:「どのような細胞に感染し、どのような細胞に感染しないのか?」「感染後、細胞にどのような変化をもたらすか?」について、個々の細胞での網羅的な遺伝子発現解析を行った。
- (3)新規治療戦略の開発:新たな治療戦略や治療標的の探索のために、SARS-CoV-2 WK521 株感染心臓オルガノイドの Bulk RNA-seq 解析(野生型細胞と ACE2 遺伝子改変細胞の比較解析)を行い、有意に増減した遺伝子発現リストを作成した。

## 【結 果】

- (1)ウイルス感染モデルの確立:ウイルス増殖能について、SARS-CoV-2 の親株 WK521 株と同様に、5 つの SARS-CoV-2 変異株、H1N1、CVB の全てにおいて、効率的な多段階増殖が認められた。子孫ウイルス増殖率において、臨床では病原性が強い Alpha 株、Gamma 株、Delta 株は、他の 3 株より有意に高い増殖性が認められた。また、ACE2 遺伝子改変 iPS 細胞由来心臓オルガノイドでは、全ての SARS-CoV-2 でウイルス増殖は認められなかった。更に、本申請の心臓オルガノイドは、ボール状の細胞塊で、自律的な収縮を伴う心筋細胞集団であるが、SARS-CoV-2 や H1N1 感染後、高力価攻

- 撃でも収縮運動は停止せず、細胞死も観察されなかったが、CVB 感染では、収縮運動の停止及び細胞死が誘導された。
- (2) シングルセル解析: SARS-CoV-2 WK521 株感染心臓オルガノイドのシングルセル解析において、SARS-CoV-2 感染クラスターと非感染クラスターに分類された。シュードタイム解析では、「Early infection」細胞集団、感染がより進行した(感染によって大きく変化した)「Advanced infection」細胞集団に分類され、心筋細胞集団の中での異なるウイルス感受性を明確に識別できた。遺伝子発現解析では、602 遺伝子において有意な高発現が観察され、169 遺伝子において有意な低発現が観察された。
- (3) 新規治療戦略の開発: ACE2 遺伝子改変細胞に比べ、野生型細胞では、64 遺伝子が有意に減少し、13 遺伝子が有意に増加した。

## 【考 察】

本研究では、ヒト iPS 細胞由来の心臓オルガノイドを用いることで、SARS-CoV-2 等による心筋炎の病態発現機序を詳細に解析した。心臓オルガノイドにおいて、SARS-CoV-2 株間でウイルス増殖能に有意な差があり、臨床で病原性が強かった Alpha 株、Gamma 株、Delta 株では増殖性が高いことが明らかになった。シングルセル解析により、感染細胞と非感染細胞の遺伝子発現の違いや、感染の進行段階ごとに細胞群が識別され、ウイルスに対する心筋細胞の異なる感受性が浮き彫りとなった。また、感染によって特定の遺伝子発現が増減することが確認され、新たな治療標的の候補となる遺伝子が特定された。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は、これまでの株化細胞ではなく、iPS 細胞由来の心臓オルガノイドとシングルセル解析を用いることで、SARS-CoV-2 や他のウイルスによる心筋炎の病態発現機序を詳細に解明した。特に、SARS-CoV-2 が ACE2 依存的に心筋細胞へ感染し、ウイルス株ごとに増殖能が異なることを示した点は、臨床における重要な知見である。また、感染細胞の遺伝子発現変動やウイルス感受性の違いが明確化されたことにより、筋炎の早期診断や重症化予測が可能となり、新たな治療標的の探索や個別化医療の開発に寄与する。これにより、ウイルス性心筋炎の新規治療戦略や予防法の構築が期待される。

## 【参考・引用文献】

- (1) Cell Reports. 34(2):108628. (2021)
- (2) Cell Reports Methods. 2: 100314. (2022)
- (3) Front Cell Dev Biol. 11:1290876. (2023)