

研究助成 2022 – 感染症領域 –

研究成果報告書（最終） <概要>

現 所 属	順天堂大学 大学院医学研究科 微生物学講座
氏 名	鈴木 達也
研 究 テーマ	蚊の唾液によるフラビウイルス感染増強を司る分子基盤の解明

- 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。
- 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。
(図表、写真等の貼付を含む)

本研究では、蚊の唾液による感染増強作用の解析を通して、フラビウイルスの病原性緩和に向けた新規の予防・治療薬の開発に繋げることを目的として研究を実施した。

応募者のこれまでの研究から、蚊の唾液刺激において感染局所に好中球や単球・マクロファージ系の細胞が浸潤してくることを示している。そこで、SGEs または TLR2 刺激によって誘導される免疫細胞のうち、どれがウイルスの標的細胞であるかを PrimeFlow RNA アッセイによって検討した。その結果、ウイルス RNA が陽性の細胞群は、主に単球・マクロファージ系の細胞集団であることが示され、好中球はウイルスの標的ではないことが示された。

好中球に対する中和抗体を用いて in vivo で除去することにより、蚊の唾液刺激がもたらす病原性増強を抑制できることを示している。一方で、好中球はウイルスの標的細胞でないことから、好中球が蚊媒介性フラビウイルス感染において、何らかの役割を担っていることが示唆された。そこで、好中球の役割を検討するため、in vitro で蚊の唾液刺激に対する好中球応答の解析を実施した。その結果、SGEs により野生型マウス由来の好中球では、CXCL2 や CCL3 などのケモカイン発現が誘導されることを示した。また、既知の TLR2 リガンドである Pam3CSK4 においても同様の結果が得られた。一方で、TLR2/4・9 の欠損マウス由来の好中球では、SGEs 刺激によってケモカインの発現誘導が生じないことが明らかとなった。提案者は先行研究によって、蚊の唾液中には TLR2 のリガンドが存在することを示唆するデータを得ている。したがって、蚊の唾液中の TLR2 リガンド刺激によって好中球の活性化・ケモカイン発現誘導を生じることが示唆された。また、この時の好中球の遺伝子発現変化を RNA-seq により網羅的に解析すると、様々なケモカイン・サイトカイン産生が誘導されることが明らかになった。

さらに、この刺激を受けた好中球が産生するケモカインによって、感染の標的となる単球系の細胞がリクルートされてくるかどうかを、in vitro のケモタキシスアッセイを用いて検討した。その結果、TLR2 リガンドや SGE 刺激した好中球の培養上清にモノサイトが遊走されることが示された。最後に TLR2 阻害剤を用いて、蚊の唾液による感染増強効果の抑制が可能かどうか検討を行った。その結果 2 種類の TLR2 阻害剤によって感染局所のウイルス RNA 量の低減さらにはマウスの生存率を改善することができることを示した。以上の結果から、蚊の唾液によるフラビウイルスの感染増強には TLR2 刺激によって活性化する好中球のケモカインにより感染局所にウイルスに感受性にある単球系の細胞をリクルートすることが重要であることを明らかにした。また、好中球自身や TLR2 シグナルを阻害することによって蚊の唾液による感染増強効果を抑制し、抗ウイルス効果が示されることを明らかにした。よって、蚊の唾液刺激による宿主応答を標的とした、蚊媒介性フラビウイルスに対する新たな感染制御法の開発の可能性を示した。(図 1、Suzuki et al, 論文投稿中)。

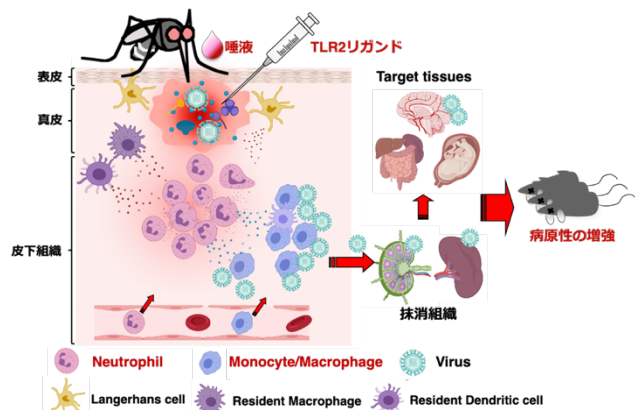


図 1: 蚊の唾液中による TLR2 刺激により蚊媒介性フラビウイルスの病原性が増強される

研究助成 2022 – 感染症領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

現 所 属	順天堂大学 大学院医学研究科 微生物学講座
氏 名	鈴木 達也
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 欄が足りない場合は増やして記入すること。 	
1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入すること。なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引くこと。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のアブストラクトは含めない。 	
1	Yumi Itoh, Yoichi Miyamoto, Makoto Tokunaga, <u>Tatsuya Suzuki</u> , Akira Takada, Akinori Ninomiya, Tomomi Hishinuma Mami Matsuda, Yoshihiro Yoneda, Masahiro Oka, Ryosuke Suzuki, Yoshiharu Matsuura, Toru Okamoto. Importin-7-dependent nuclear translocation of the Flavivirus core protein is required for infectious virus production. <i>PLoS pathogens</i> 20(8) e1012409 2024 年 8 月,
2	Urano E, Itoh.Y, <u>Suzuki T (Co-first)</u> , Sasaki T, Kishikawa J, Akamatsu K, Higuchi Y, Sakai Y, Okamura T, Mitoma S, Sugihara F, Takada A, Kimura M, Nakao S, Hirose M, Sasaki T, Koketsu R, Tsuji S, Yanagida S, Shioda T, Hara E, Maotba S, Matsuura Y, Kanda Y, Arase H, Okada M, Takagi J, Kato T, Hoshino A, Yasutomi Y, Okamoto T. An inhaled ACE2 decoy confers protection against SARS-CoV-2 infection in preclinical models. <i>Sci Transl Med.</i> 2023 Aug 30;15(711):eadi2623.
3	Mitsui Y, <u>Suzuki T (Co-first)</u> , Kuniyoshi K, Inamo J, Yamaguchi K, Komuro M, Watanabe J, Edamoto M, Li S, Kouno T, Oba S, Hosoya T, Masuhiro K, Naito Y, Koyama S, Sakaguchi N, Standley D, W. Shin. J, Akira S, Yasuda S, Miyazaki Y, Kochi Y, Kumanogoh A, Okamoto T, and Satoh T. Expression of the readthrough transcript CiDRE in alveolar macrophages boosts SARS-CoV-2 susceptibility and promotes COVID-19 severity. <i>Immunity.</i> 2023 Jul 4;S1074-7613(23)00271-6.
4	Havranek B, Walker Lindsey G, Higuchi Y, Itoh Y, <u>Suzuki T</u> , Okamoto T, Hoshino A, Procko E and M. Islam S. Broad efficacy of a computationally designed ACE2 decoy against SARS-CoV-2 omicron variants and related viruses in vitro and in vivo. <i>Commun Biol.</i> 2023 May 12;6(1):513
5	Arai Y, Yamanaka I, Okamoto T, Isobe A, Nakai N, Kamimura N, <u>Suzuki T</u> , Daidoji T, Ono T, Nakaya T, Matsumoto K, Okuzaki D, Watanabe Y. Stimulation of interferon- β responses by aberrant SARS-CoV-2 small viral RNAs acting as retinoic acid-inducible gene-I agonists. <i>iScience</i> , Jan 20;26(1):105742, 2023
6	
7	
8	
9	

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。 ● 国内外を問わない。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2024年9月	HCV-Flavi 2024 - 30 th International Symposium、 Tatsuya Suzuki , Yasuko Orba, Yuki Eshita, Hirofumi Sawa, Yoshiharu Matsuura, and Toru Okamoto. Selective TLR ligands stimulation through mosquito saliva contributes in vivo pathogenicity of mosquito borne Flaviviruses.
2	2024年6月	American Society for Virology 43rd Annual Meeting、 Tatsuya Suzuki , Yasuko Orba, Yuki Eshita, Hirofumi Sawa, Yoshiharu Matsuura, and Toru Okamoto. Selective TLR ligands stimulation through mosquito saliva contributes in vivo pathogenicity of mosquito borne Flaviviruses.
3	2023年9月	第70回日本ウイルス学会学術集会、 鈴木達也 、大場靖子、江下優樹、澤 洋文、松浦善治、岡本徹 蚊の唾液による選択的 TLR 刺激がフラビウイルスの病原性に関与する
4	2023年9月	第29回トガ・フラビ・ベスチウイルス研究会、 鈴木達也 、大場靖子、江下優樹、澤 洋文、松浦善治、岡本徹、 蚊の唾液による選択的 TLR 刺激がフラビウイルスの病原性に関与する
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2024年度投中	Tatsuya Suzuki , Yuka Miyata , Saori Haga , Yumi Itoh, Tsukika Tanaka , Tomomi Hishinuma , Yasuko Orba , Yuki Eshita , Yusuke Sakai , Takeshi Kurosu , Shigeru Tajima , Chang-Kweng Lim , Masayuki Saijo , Atshushi Yamanaka 7, Thipruethai Phanitchat , Ronald Enrique Morales Vargas, Daisuke Okuzaki , Hirofumi Sawa, Takashi Satoh, Shizuo Akira, Yoshiharu Matsuura , and ToruOkamoto* 、 Selective TLR ligand stimulation enhances <i>in vivo</i> mosquito-borne flavivirus pathogenicity (投稿中)
2		
3		
4		
5		