

## No.3 重点感染症シリーズ

# ジカ熱 オルガノイドを用いた小頭症モデル

2016年 WHO から緊急事態宣言が出されて一躍注目されるようになったジカ熱感染症。デング熱に比べて症状が比較的に軽いことから、それまで注目を浴びることが少なかった。しかし、ジカ熱に感染した妊婦の新生児に小頭症と認められる事例が相次いで報告され、この感染症への警戒がにわかにか高まった。妊婦のジカウイルス感染と新生児の小頭症にどのような関連性があるのか。その原因究明をめざす研究に新技術「オルガノイド(Organoid)」が貢献している。

### 幹細胞を培養して作製するミニ臓器「オルガノイド」

臓器や組織を模した 3 次元構造体をもつ細胞培養系がオルガノイドである。それゆえ「ミニ臓器」とも言われている。1960年代から1980年代にかけては成熟細胞や株化細胞を中心に研究されていた[1]が、近年では、多能性幹細胞(ES細胞やiPS細胞)や組織幹細胞をマトリゲル(細胞外マトリックス)に包埋し、多様な条件下で培養・作製できるようになり、論文数が急速に増えて来た(Fig.1)。

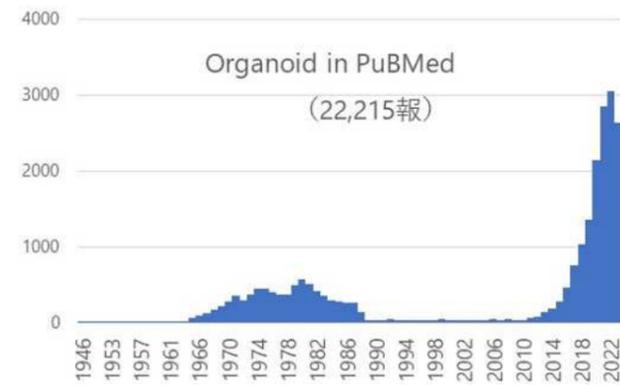


Fig.1 オルガノイド関連論文数 PubMed 2023.9

適切な細胞培養条件を用いると幹細胞自身が内包しているプログラムに従って、組織や器官が自発的に形成されるのが、多能性幹細胞や組織幹細胞から出発するオルガノイドの最大の特徴である。それまでもこの自律性は現象としては知られていたが、2008年、理研・笹井芳樹らがES細胞から大脳皮質を発生させて大きな注目を集めた[2]。

オルガノイドを用いれば、従来のように代替動物(マウスやサルなど)を介してではなく、直接的に「ミニ臓器」を対象とした研究開発ができることから、病態モデルの作製、医薬品の薬効解析・安全性解析、臓器移植などオルガノイドを活用した研究開発は多岐にわたる(Fig.2)。

一方で、(i) 個体発生期や成長段階の若い細胞群である、(ii) 入出力系統が確保されていない、(iii) 栄養循環をもたらす血管構造など

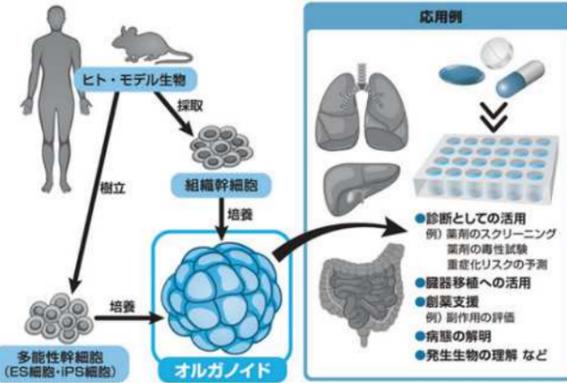


Fig.2 幹細胞を培養して作製するオルガノイドと応用例 (医学書院 週刊医学界新聞より引用[3])

がなくサイズや構造が限定的である、といった制約や限界も見えてきた。いまなお、日進月歩でこの技術は革新されている。

いずれにしても、ヒト組織を *in vitro* で直接取り扱える意義は非常に大きく、オルガノイドに関する論文は2015年以降急速に増えている(Fig.1)。日本勢では、慶大・佐藤俊朗、東京医歯大・武部貴則の論文数が国際的に多い (Table1)。

Table1 オルガノイド関連論文の著者と所属機関 Scopus 2023.9

論文数	著者	所属機関
230	Hans Clevers	ユトレヒト大医療センター
61	Jason Spence	ミシガン大
56	佐藤 俊朗	慶大
46	Jeffrey Beekman	ユトレヒト大医療センター
45	Luc van der Laan	蘭エラスムス医療センター
44	武部 貴則	東京医歯大/阪大/シンシナティ小児病院
40	James M. Wells	シンシナティ小児病院
39	Melissa Little	メルボルン大
38	Alysson Muotri	UCサンディエゴ校
37	Meritxell Huch	マックスプランク研究所
37	Bon-Kyoung Koo	ウィーン分子生物学研究所

### オルガノイドを用いたジカウイルス感染・小頭症モデル

新生児小頭症はジカウイルスによる胎児期神経細胞(神経前駆細胞)へ直接的に感染したことによる障害である可能性が高い。2016年5月、ブラジルと米国の研究グループからそれぞれ独立的に報告された内容は、ジカウイルスの感染と小頭症の結びつきを示唆するものであった。いずれもオルガノイドを用いた研究に基づく成果であった。

リオデジャネイロ連邦大のパトリシア・ガルセス(Garcez, Patricia P)、ステイブンス・レーエン(Rehen, Stevens K.)らは、ヒト iPS 細胞を用いて作

製した脳オルガノイド(35日齢)から分化した神経細胞にジカウイルスを感染させた[4]。すると、細胞増殖の過程で細胞の一部が脱落するなどして成長が鈍り、感染11日後では非感染細胞群に比べて約40%小さくなった。また、iPS細胞から作製した神経幹細胞に直接ジカウイルスを感染させたところ、3日後には変形し、やがて6日後にはほぼ死滅した。一方、デングウイルスを感染させた場合には、いずれの実験系においても差異は認められなかった。

他方、ジョンズホプキンス大のソン・ホンギョン(Song, Hongjun)、ミン・グオリ(Ming, Guo-li)らもヒト iPS 細胞から作製したオルガノイドを用い、小頭症とジカウイルスの関連について、神経前駆細胞への直接的な感染による障害であることを示唆する報告をセル誌に掲載した[5]。ソングが開発したオルガノイド培養システム SpinΩ で作製した脳オルガノイドは、前駆細胞叢の組織化、神経発生、遺伝子発現、グリア細胞層など、ヒト大脳皮質発生の主要な特徴を再現していた。また同様の手法を用いると、培養条件を変えることで中脳と視床下部のオルガノイドの培養も可能であり、異なる脳の部位のオルガノイド化が可能であることを示している(Fig.3)。

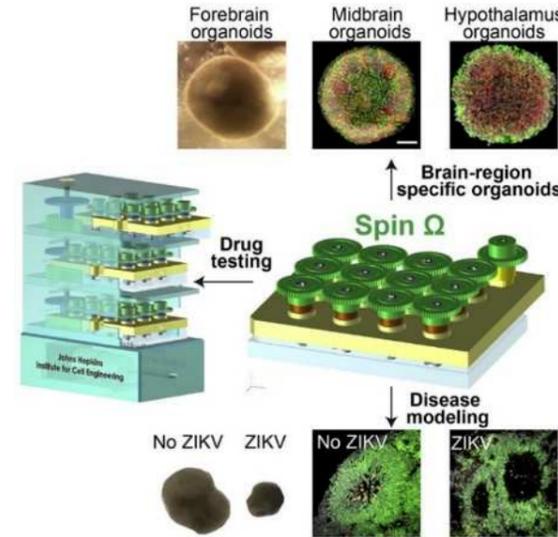


Fig.3 脳オルガノイド培養システム SpinΩ [5]

ジョンホプキンス大・ミンらのグループは、続いてこの前脳オルガノイドプラットフォームによるジカウイルス暴露モデルを用いて定量解析を行った(Fig.4)。その結果、神経前駆細胞はアフリカまたはアジアのジカウイルス株に感染することが明らかになった。ウイルスに感染すると細胞死が増大し、細胞増殖が低下するため、小頭症に類似する神経細胞層の体積減少が生じた。

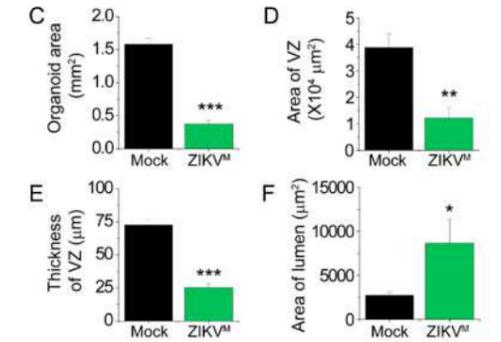


Fig.4 前脳オルガノイドにおけるジカウイルス感染[5] (C) それぞれの条件下で培養したオルガノイドの平面積 (D)免疫染色画像から測定したVZ面積 (E) VZの厚さ (F)内腔の面積 VZ:脳室様構造物

このように二つのグループがほぼ同時期(2016年5月)に、母体に感染したジカウイルスが胎児の神経細胞もしくは神経前駆細胞へ直接感染することによって小頭症を引き起こすことを示すオルガノイド実験結果を報告した。その一方でサンパウロ大のグループでは同年6月に、妊娠マウスを用いたジカウイルス感染による動物実験を行い、やはり小頭症胎児が生まれる試験結果を得てネイチャー誌に発表している[6]。

### 感染症研究におけるオルガノイドを用いた新たな展開

2020年、ジョンホプキンス大・ミンらは前出の SpinΩ システムを用い、COVID-19による神経障害のメカニズムについて検討結果を発表した[7]。すなわち SARS-CoV-2 ウイルスは、神経細胞への直接感染よりもむしろ非神経細胞である内皮細胞への感染が主であり、これが神経症状の要因である可能性を報告している。これもオルガノイドが感染症研究の汎用的なツールになり得ることを示す一例といえよう。

### Reference

- [1] Hans Clevers, Cell, 165, 1586, 2016
- [2] Mototsugu Eiraku et al, Cell Stem Cell, 3, 519, 2008
- [3] 医学書院 週刊医学界新聞 (通常号), 3441, 2021
- [4] Patricia P. Garcez, et al, Science, 352, 816, 2016
- [5] Xuyu Qian et al, Cell, 165, 1238, 2016
- [6] Fernanda R. Cugola et al, Nature, 534, 267, 2016
- [7] Fadi Jacob et al, Cell Stem Cell, 27, 937, 2020