



Title	SARS-CoV-2感染重症化マウスモデルにおけるCelastrol の効果検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	手代木, 孝仁
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15959号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92593
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takahito_Teshirogi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(歯学) 氏 名 手代木 孝仁

学 位 論 文 題 名

SARS-CoV-2 感染重症化マウスモデルにおける Celastrol の効果検討

キーワード(5つ) COVID-19, SARS-CoV-2, Celastrol, 重症化マウスモデル, 重症化治療

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は重症性呼吸器症候群コロナウイルス-2 (SARS-CoV-2) によって引き起こされるウイルス性疾患である。感染者数は世界中で 7 億 7000 万人以上報告されており, 690 万人以上が死亡している。COVID-19 重症化予防のために世界規模で集団ワクチン接種の取り組みが行われているが, 新たな SARS-CoV-2 変異株出現により, 感染者数の総数は増加しており, いまだ医療への負担が懸念される。我が国においても 5 類感染症に移行した 2023 年今春以降も 5000 人を超える死亡者が報告されている。COVID-19 は発熱や咽頭痛, 咳嗽などの呼吸器症状を呈し, 一部の感染者では肺炎症状の悪化, 血管炎, 血栓症を発症して重症化する。単純胸部 X 線検査や CT によって広範なすりガラス様陰影が観察され, 剖検肺の病理組織学的な所見においてはびまん性肺胞損傷, 炎症性細胞浸潤, 血栓形成が報告されている。血栓塞栓症は COVID-19 の全症例の 40% に観察されており, 回復期の突然死, 長期にわたる重篤な治療, 多臓器不全の原因として報告されている。SARS-CoV-2 感染による血栓塞栓症の原因として, 肺炎に伴うサイトカインストームによる重度の血管内皮細胞損傷に起因した外因性凝固経路の活性化が示唆されている。しかし, 血栓症はインフルエンザなどの他のウイルス性肺炎において殆ど

生じないため、その原因としてはサイトカインストーム以外のメカニズムの存在が示唆されてきた。

COVID-19 治療薬として、発症初期には抗ウイルス薬と SARS-CoV-2 ウイルスの中和抗体が使用されているが、中等症・重症以上の患者に承認されている薬剤は抗炎症薬であるステロイドのみであり、重症 COVID-19 に有効な薬剤はいまだ存在しておらず、新たな治療薬の開発が望まれている。我々はこれまで腫瘍血管内皮細胞が、炎症性に変化しており Damage-associated molecular patterns (DAMPs) の 1 つである Biglycan が高発現していること、多年草タイワンクロヅル（中国名：雷公藤）から単離された天然化合物である Celastrol が Biglycan 発現血管内皮細胞に対して抗炎症作用を示すことを明らかにしてきた。最近 *in vitro* 腎上皮細胞における Celastrol の抗 SARS-CoV-2 効果が報告されている。しかし、*in vivo* における治療効果は十分に検討されていない。そこで、本研究では既に樹立した SARS-CoV-2 感染重症化マウスモデルを用いて Celastrol の治療効果を検討した。

Celastrol は肺上皮細胞、肺血管内皮細胞における LPS 誘導炎症性サイトカイン発現亢進を抑制した。さらに ACE2 過剰発現不死化肺毛細血管内皮細胞 iHMVEC-L/ACE2 において、ウイルスの細胞内エントリーを抑制し、Celastrol によるウイルスと ACE2 の結合阻害が示唆された。これは先行研究を支持する結果であった。また preliminary な結果ではあるが、ウイルス感染による炎症性サイトカインの発現上昇の抑制もみられている。

次に、加齢マウスにのみ血栓症を伴う致死的肺炎を発症する重症化マウスモデルを用いて Celastrol の治療効果を検討した。Celastrol の感染初期投与により、肺におけるウイルスレベルが低下した。高用量の Celastrol を投与すると感染肺におけるウイルス量の減少、抗ウイルス効果が示された一方で、マウスの死亡もみられ毒性を示すことがわかった。また、Celastrol の感染初期投与では、投与量が多いとむしろウイルス量は増加した。Celastrol を有効に使用するためには、適切な用量を適切なタイミングで使用する必要があることが示唆された。さらに Celastrol を感染後期に投与し、重症化予防効果を検討した。対照群は感染後に全マウスが死亡したのに対して、Celastrol 投与群では 40 %のマウスが生存し、生存個体の肺組織内では炎症所見がみられず、ウ

イルスタンパクも検出されなかった。これらのことから、重症化病態に対しても Celastrol が治療効果を示す可能性が示された。

本研究では Celastrol による COVID-19 に対する治療効果、重症化抑制薬としての可能性を検討した。Celastrol が SARS-CoV-2 ウイルスの細胞内侵入と血管炎症を抑制することを *in vitro* で示した。また、*in vivo* 重症化マウスモデルを用いて、Celastrol が SARS-CoV-2 感染による重症化を抑制する可能性を *in vivo* で示した。Celastrol による COVID-19 重症化抑制戦略は、有力な治療法になることが期待される。