



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Endothelial cell senescence enhances the endocytosis of SARS-CoV-2 leading to vascular dysfunction in COVID-19 [an abstract of entire text]
Author(s)	桜井, 優弥
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第16462号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95160
Type	doctoral thesis
File Information	Yuya_Sakurai_summary.pdf



学位論文内容の要約

学位論文題目

Endothelial cell senescence enhances
the endocytosis of SARS-CoV-2
leading to vascular dysfunction in COVID-19
(血管内皮細胞の老化によるエンドサイトーシスを介した
SARS-CoV-2 の取り込み増強は
COVID-19 における血管内皮機能障害の一因である)

博士の専攻分野名称 博士（歯学） 氏名 桜井 優弥

SARS-CoV-2 感染によって引き起こされる新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、2019 年 12 月に中国武漢で報告されて以来、これまで世界中で 700 万人以上を死亡に至らしめている。全数把握ではないにもかかわらず、2024 年 12 月現在、WHO が発表する累積感染者数および死亡者数は一定レベルで増加しており、依然として本感染症の脅威は減弱していない。COVID-19 は高齢者において重症化頻度が高いことが知られており、加齢が重症化リスクファクターであると認識されている。

COVID-19 患者剖検肺の病理組織学的所見として、びまん性肺胞障害に加えて、血管内膜の損傷、毛細血管の微小血栓および血管炎などの血管内皮機能障害が認められている。さらに重症 COVID-19 患者の約 40 %に血栓性合併症が発生していたという報告やインフルエンザ感染症に比べ COVID-19 では脳梗塞発生頻度が 8 倍高いという報告もある。そのため COVID-19 における血管内皮機能障害は SARS-CoV-2 感染に特徴的な所見と考えられており、重症化に血管内皮細胞 (Endothelial cell: EC) が深く関与していることが示唆されてきた。剖検患者肺 EC において SARS-CoV-2 が検出されている一方で、肺 EC における SARS-CoV-2 の主要な侵入受容体であるアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) の発現は極めて低いことから感染メカニズムが明らかになっておらず、血管への SARS-CoV-2 感染について一致した見解はなかった。

我々は以前に、SARS-CoV-2 感染マウスにおける血管内皮病態について報告した (Tsumita T, ..., Sakurai Y, ..., Hida K. Aging Cell. 2023)。病理組織学的解析から、感染によって重症 COVID-19 に類似した血栓を伴うびまん性肺胞障害像を示す加齢マウスを重症化モデルとして肺 EC を単離し RNA-seq 解析を行った結果、若齢マウスに比較して、加齢マウス肺 EC においては SARS-CoV-2 遺伝子検出レベルが顕著に高く、さらに炎症応答パスウェイ・血栓形成関連パスウェイなどが活性化していた。しかし既報同様に、肺 EC の ACE2 発現は認められず、EC へのウイルス感染機構は未知のままであった。そこで本研究は、EC の加齢に伴うウイルス感染増強機構を明らかにすることを目的とした。

まず加齢のホールマークの 1 つである老化が EC に及ぼす影響を検討した。老化研究で用いられることが多い放射線照射による老化誘導血管内皮細胞 (Senescent EC) を SARS-CoV-2 と共に培養す

ると、コントロールの血管内皮細胞（Young EC）に比較して、細胞内ウイルス RNA 量が顕著に高く検出された。しかし、ACE2 は老化によっても発現は誘導されず、また EC における SARS-CoV-2 ウイルス複製はみられなかった。

EC の老化がウイルス取り込み増加に及ぼす影響をより詳細に調べるため、次に EC に対するウイルス付着を解析した。ACE2 以外の SARS-CoV-2 レセプターの遺伝子発現を調べたところ、Young EC に比較して、Senescent EC においては BSG の発現が亢進していた。しかし、ウイルス付着量に違いは見られなかったことから、EC の老化はウイルス取り込みプロセスのうち、細胞膜への付着に対しては影響せず、それ以降のエンドサイトーシスに影響していることが示唆された。

siRNA によるエンドサイトーシス阻害実験および超解像顕微鏡を用いた SARS-CoV-2-pseudovirus と初期・後期エンドソームのイメージングにより、EC の SARS-CoV-2 取り込みはクラスリン媒介性およびクラスリン・カベオリン非媒介性のエンドサイトーシス経路によることが示唆された。さらに取り込んだウイルス量に応じて、NF- κ B 活性化を介して炎症応答遺伝子の発現亢進がみられたことから、老化血管の感染後の機能障害には、ウイルス取り込み量の増加が関与していることが示された。

つづいて蛍光標識エンドサイトーシス取り込みマーカーの定量評価から、Young EC に比較して Senescent EC ではエンドサイトーシス能が亢進していることが示されたことから、そのメカニズムについて解析を進めた。Senescent EC において発現亢進していた BSG を siRNA により発現抑制すると、エンドサイトーシス能が低下し、ウイルス取り込み量の減少がみられた。さらに、BSG が EC の増殖因子 VEGF とその受容体 VEGFR2 結合後の細胞内シグナル伝達を正に制御するという報告と、VEGF-VEGFR2 シグナル伝達がエンドサイトーシス能亢進に関与するという報告に注目し、Senescent EC のエンドサイトーシスに対する VEGF の影響を評価した。その結果、VEGF によりエンドサイトーシス能が亢進し、ウイルス取り込み量の増加がみられ、一方 VEGFR2 キナーゼ阻害剤によってウイルス取り込みが抑制された。以上の結果から、Senescent EC で発現亢進している BSG が VEGF-VEGFR2 シグナル活性化を介して SARS-CoV-2 エンドサイトーシスを増加させ、炎症応答を誘導することが

示唆された。

本研究により, EC の老化による ACE2 非依存的なウイルスエンドサイトーシス亢進が重症 COVID-19 の血管内皮機能障害をもたらすことが示され, 加齢が COVID-19 重症化に寄与するメカニズムの一部が明らかにされた。さらに, EC のウイルスエンドサイトーシスを標的とする重症 COVID-19 治療戦略の可能性が示された。