

異分野融合による新型コロナウイルスをはじめとした感染症との共生に資する
技術基盤の創生

2020 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

野田 岳志

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所
教授

オルガノイドを用いた呼吸器チップの開発とウイルス病態解析への応用

§ 1. 研究成果の概要

ヒト呼吸器における SARS-CoV-2 の増殖機構を明らかにするため、ヒトの鼻腔オルガノイド、気道オルガノイド、肺胞オルガノイドに様々な SARS-CoV-2 変異株を感染させ、その増殖機構を解析した。鼻腔オルガノイドを用いた研究では scRNA-seq 解析を実施し、SARS-CoV-2 は初めに鼻腔上皮の繊毛細胞に感染し、その後、嗅上皮の嗅神経前駆細胞に感染することを見出した。

呼吸器チップ用の 2 次元オルガノイドの開発に関しては、肺前駆細胞を凍結保存後に起眠させ気液界面培養することで、気道上皮細胞や肺胞上皮細胞へと分化誘導する方法を開発した。本手法により、未分化状態のヒト多能性幹細胞から分化誘導するときと比較して、気道上皮細胞や肺胞上皮細胞を 3 週間短縮して準備できるようになった。また、鼻腔上皮細胞をチップに搭載するために平面培養する方法を開発し、現在は scRNA-seq により誘導された細胞種の解析を進めている。さらに、これら平面培養したオルガノイドに SARS-CoV-2 変異体を感染させ、各上皮細胞におけるウイルス増殖能の比較解析を行った。

マイクロ流体デバイスの開発に関しては、本年度は iPS 細胞から分化誘導した気道上皮前駆細胞と血管内皮細胞 HUVEC の共培養条件を検討し、デバイス内で気液界面培養による気道上皮細胞への分化誘導を行った。また、本デバイスを用いて、気道上皮細胞に SARS-CoV-2 を感染させ、ウイルス感染、ウイルス増殖、宿主細胞応答などを解析する実験系を構築した。さらに、蛍光顕微鏡を用いたタイムラプス解析のため、マイクロ流体デバイスの改良を進め、P3 実験室内の蛍光顕微鏡を用いてデバイス内の上皮細胞および血管内皮細胞の蛍光シグナルを経時的に観察する実験系を構築した。今後は、本デバイスを用いて、SARS-CoV-2 やインフルエンザウイルスを用いた感染実験を行い、ウイルス増殖機構や宿主応答の解析を進める。

§ 2. 研究実施体制

(1) 野田グループ

- ① 研究代表者:野田 岳志 (京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・オルガノイドにおける SARS-CoV-2 感染動態の解析

(2) 永樂グループ

- ① 主たる共同研究者:永樂 元次 (京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・嗅オルガノイドにおける SARS-CoV-2 感染動態の解析
 - ・チップに最適化した嗅オルガノイド培養法の探索

(3) 後藤グループ

- ① 主たる共同研究者:後藤 慎平 (京都大学 大学院医学研究科 特定准教授)
- ② 研究項目
 - ・気道オルガノイド/肺胞オルガノイドの供給システムの構築
 - ・チップに適した気道/肺胞上皮細胞の最適化

(4) 横川グループ

- ① 主たる共同研究者:横川 隆司 (京都大学 大学院工学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・呼吸器チップの開発