# COVID-19の全身炎症における スパイクタンパク質の役割および習慣的運動の効果の解析

# 白 土 健

杏林大学医学部衛生学公衆衛生学教室

2019年12月に発生した重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2(SARS-CoV-2)による新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は現在も世界的に大流行している。COVID-19の重症度および死亡率には重度炎症が深く関係しており、そのリスクは特に高齢者、肥満者および2型糖尿病患者など軽度の慢性全身炎症の状態にある人々において高いことがわかっている。これらハイリスク者は、感染症のみならず敗血症のリスクも高いことが従来から知られていた。私達は、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質のS1サブユニット(S1)が、リポ多糖(LPS)と同様にToll様受容体TLR4を介したマクロファージの炎症性応答を促すことを明らかにした<sup>1)</sup>。スパイクタンパク質がTLR2を介してマウスの全身炎症を引き起こすことも報告されている<sup>2)</sup>。

一方、習慣的運動には、宿主の感染防御能を高める効果だけでなく、全身炎症を抑える効果があることも示唆されている。例えば、成熟マウスに強制走運動を8週間負荷すると、腸内細菌叢において病原性細菌の減少と抗炎症・抗肥満性細菌の増加が促され、盲腸結紮穿刺誘発性敗血症による多臓器不全が改善した³。高齢マウスに自発走運動を8週間負荷した場合も、抗炎症作用をもつ内皮型一酸化窒素合成酵素eNOSの発現量が骨格筋において高まり、便懸濁液誘発性敗血症による肺および肝障害が軽減した⁴。しかし、S1による全身炎症に対する習慣的運動の予防効果については、実験科学的な知見がまだ得られていない。

将来的にSARS-CoV-2とヒトの共生社会になる可能性も示唆されているため、COVID-19の全身炎症におけるスパイクタンパク質の役割および習慣的運動の効果を明らかにすることは、その重度炎症機構を解明して宿主の感受性対策を確立する上で、予防医学の立場から見て極めて重要な検討課題である。1)S1による全身炎症とそのメカニズム、2)S1による全身炎症に対する習慣的運動の効果を明らかにすることにより、COVID-19の重症者および死亡者を

抑制するための科学的根拠に基づいた運動処方の確立に貢献できることが期待される。

#### 1. S1による全身炎症とそのメカニズム

本研究計画の申請当初は、COVID-19の全身炎症におけるS1の役割とTLR4を介したマクロファージの炎症性応答の関与を個体レベルで明らかにすることを目的としていた。しかし、海外の研究グループによる各種のTLRノックアウトマウスを用いた研究によって、SARS-CoV-2の感染による全身炎症は、TLR4ではなくTLR2を欠損させることで大きく抑制されると共に、マクロファージの炎症性応答誘発効果には、スパイクタンパク質ではなく主にエンベロープタンパク質が寄与していることが報告された50。そのため、本研究計画については、際立った成果を挙げることができなかった。

## 2. S1による全身炎症に対する習慣的運動の効果

本研究計画の申請当初は、COVID-19の全身炎症に対する習慣的運動の予防効果とその作用点を明らかにすることを目的としていた。しかし、上記の研究状況から、S1によるマクロファージの炎症性応答に対する習慣的運動の効果を細胞レベルで検討するまでに留まった。具体的には、4週齢雄性C57BL/6Jマウスを自発走運動群と対照群に分けて10週間飼育した後、腹腔滲出マクロファージを採取して、100 ng/mlのS1またはLPSで8時間刺激した。培養上清中に分泌されたIL-1 $\beta$ の濃度をELISA法で測定した結果、分泌誘導の程度は両群間で有意な差がなかった(図1)。従って、習慣的運動は、少なくともS1およびLPSに対するマウス腹腔滲出マクロファージの感受性には影響を及ぼさないと考えられる。今後は、エンベロープタンパク質によるマウス全身炎症モデルを確立した上で、本研究計画を引き続き実施していく予定である。

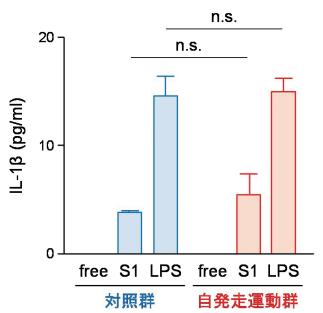


図 1 S1およびLPSによるマクロファージのIL-1 β 分泌誘導 に対する習慣的運動の効果 平均値±標準誤差 (n=4).

#### 3. 本研究課題と関連が深いその他の検討

S1によるマクロファージの炎症性応答のメカニズムお よびアスパラガス茎抽出物ETAS®(アミノアップ社, 札幌) の抗炎症効果を検討した。S1はLPSと同様に、マクロ ファージのTLR4を介して, NF-κBとc-Jun N末端キナー ゼをそれぞれ活性化することにより、IL-6の遺伝子発現を 促す<sup>1)</sup>。一方, S1によるIL-6の遺伝子発現は, MAPキナー ゼの阻害剤 U0126によってほぼ半減するが、LPSによる応 答に対しては抑制効果が認められないことを新たに見出し た。これらの結果から、S1とLPSは、マクロファージの TLR4を介して炎症性応答を引き起こすことは共通してい るが、その細胞内シグナル伝達経路には相違があることが 示唆された。さらに、ETAS®は、S1によるNF-κBと c-Jun N末端キナーゼの活性化には影響せずに、MAPキ ナーゼの活性化を抑制することによってマクロファージの 炎症性応答を軽減することを明らかにした (Shirato K., et al. : Molecules. 26 : 6189, 2021).

### 参考文献

1) Shirato K, Kizaki T: SARS-CoV-2 spike protein S1 subunit

- induces pro-inflammatory responses via toll-like receptor 4 signaling in murine and human macrophages. *Heliyon*. 7: e06187, 2021
- Khan S, Shafiei MS, Longoria C, Schoggins JW, Savani RC, Zaki H: SARS-CoV-2 spike protein induces inflammation via TLR2-dependent activation of the NF-κB pathway. *Elife*. 10: e68563, 2021
- Kim D, Kang H: Exercise training modifies gut microbiota with attenuated host responses to sepsis in wild-type mice. FASEB J. 33: 5772-5781, 2019.
- 4) Tyml K, Swarbreck S, Pape C, Secor D, Koropatnick J, Feng Q, Veldhuizen RAW, Gill SE: Voluntary running exercise protects against sepsis-induced early inflammatory and pro-coagulant responses in aged mice. *Crit. Care.* 21: 210, 2017.
- 5) Zheng M, Karki R, Williams EP, Yang D, Fitzpatrick E, Vogel P, Jonsson CB, Kanneganti TD: TLR2 senses the SARS-CoV-2 envelope protein to produce inflammatory cytokines. *Nat. Immunol.* 22: 829-838, 2021.

#### List of publications

- Ken Shirato, Jun Takanari, Takako Kizaki: Standardized extract of Asparagus officinalis stem attenuates SARS-CoV-2 spike protein-induced IL-6 and IL-1 β production by suppressing p44/42 MAPK and Akt phosphorylation in murine primary macrophages. Molecules. 26: 6189, 2021.
- Ken Shirato, Shogo Sato: Macrophage meets the circadian clock: Implication of the circadian clock in the role of macrophages in acute lower respiratory tract infection. Front. Cell. Infect. Microbiol. 12: 826738, 2022.

### 講演記録

- 1. 白土 健,木崎節子:マクロファージの誘導型一酸化窒素合成酵素とアルギナーゼの基質競合における O-結合型N-アセチルグルコサミン転移酵素の役割. 第50回杏林医学会総会、三鷹,2021年11月20日.
- 白土 健, 高成 準, 木崎節子: SARS-CoV-2 Sタンパク質 によるマクロファージのIL-6/1 β発現誘導に対する EASの 阻害機序. 第92回日本衛生学会学術総会, 西宮, 2022年3 月21-23日.
- 3. 白土 健,木崎節子:マクロファージのNO産生における O-結合型 N-アセチルグルコサミン転移酵素の生理的役割. 第 92回日本衛生学会学術総会,西宮,2022年3月21-23日.
- 4. 白土 健, 高成 準, 小笠原準悦, 木崎節子: ETAS®50 は SARS-CoV-2 スパイクタンパク質によるマウス腹腔滲出マクロファージの炎症性応答を抑制する. 統合医療機能性食品国際学会 第30回年会, 札幌. 2022年7月9-10日.