

令和 6 年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		SARS-CoV-2 感染モデルを用いた、疾患重症化と後遺症における EGF 受容体シグナル伝達の役割		
新規・継続の別		新規		
研究代表者	所属	和歌山県立医科大学 薬学部 生体機能解析学 研究室	40 歳 以下○	35 歳 以下○
	職名・氏名	教授 那波 宏之		
研究分担者 (適宜行を追加し て下さい)	所属		/	/
	職名・氏名			
	所属		/	/
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名	教授・村上 正晃		
概要 (100～150 字程度)		新型コロナウイルス感染症の後遺症として、ブレインフォグに代表される脳神経系の障害が社会問題となっているが、その実態には不明な点が多い。そこで、村上教授らが保有する COVID-19 重症化マウスモデルを用いて、コロナ後遺症が脳神経系にどのように再現されているのか、また EGF 系および IL-6 アンプといったサイトカインシグナルがどのように関与しているのかを検討した。		
研究目的 (300 字程度)		申請者は、長年にわたりサイトカインや神経栄養因子の脳内作用について、分子レベルから個体レベルまで包括的に研究してきた。近年では、中枢神経系の炎症や末梢におけるサイトカインストームと、統合失調症などの精神疾患との関係性を検証している。とくに、申請者は新生仔動物（マウス、ラット、アカゲザル）に炎症性サイトカインを投与することで、成長後に統合失調症様の認知行動変化や脳波異常を示す動物モデルが作製できることを明らかにした。 一方、村上教授らは、非免疫細胞における NF-κB の増幅機構として「IL-6 アンプ」を発見し、さらにこの IL-6 アンプを活性化する特異的な神経回路の機構として「ゲートウェイ反射」を提唱した。最近では、独自に COVID-19 重症化マウスモデルを構築し、その血清および消化器においてケトン体が減少していることを見出している。また、このモデルに EGF 受容体シグナル阻害剤（Gefitinib 〈イレッサ〉）を投与することで、マウスの生存率が著しく改善することも明らかにした。 令和 6 年度は、これまでの研究成果を踏まえ、EGF 受容体シグナ		

	ルが IL-6 アンプの調節因子であるという知見に基づいて、コロナウイルス感染モデル動物においてコロナ後遺症（Long COVID）がどのように再現されているのか、また EGF 系と IL-6 アンプ系がどのように相互作用し、関与しているのかを明らかにすることを目的としている。
研究内容・成果 （1000 字程度・Web 会議の回数も記載）	【経過】 研究代表者は、諸般の実験計画書の修正を行うとともに、北海道大学において遺伝子実験、感染性微生物、動物倫理などに関する講習を受講していたため、研究計画の実施が一時的に遅延した。2025 年 3 月 24 日から同 29 日まで、研究代表者は北海道大学遺伝子病制御研究所を訪問し、以下の感染実験を実施した。ただし、訪問から本報告までの期間が限られていたため、現時点では解析が未完了であることをここに付記する。 【方法】 北條准教授の指導の下、マウス適合型 SARS-CoV-2 溶液を Balb/c マウスの鼻腔に注入し、COVID-19 の重症化モデルを作製した。対照群として、生理食塩水を鼻腔に投与したマウスを用いた。毎日、マウスの体重を計測し、体重減少を指標として感染の成立を確認した。感染後 3 日目および 5 日目に、感染群および対照群のマウスから採血を行い、さらに脳組織および肺組織を採取した。採取した組織の半分は 4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液に 2 日間浸漬して固定し、残りの半分は 1%SDS を含む溶液で可溶化処理を行った。固定した組織は PBS およびスクロース液で置換後、組織染色用にスライス標本を作製した。一方、SDS 溶液で可溶化した蛋白サンプルは SDS スタックゲルによる電気泳動後、ウェスタンブロットを実施した。 【結果】 脳および肺のウェスタンブロットにおいて、SARS-CoV-2 のヌcleoカプシド（Nucleocapsid）蛋白抗体でプローブしたところ、感染 3 日目には肺において強い陽性シグナルが観察されたが、5 日目にはその抗原性が約半分以下に低下していた。脳組織のウェスタンブロットにおいても陽性バンドが確認されたが、対照群では検出されなかった。一方、同抗体による免疫組織染色では、感染 5 日目でも肺において強い陽性細胞が観察された。なお、肺胞障害は極めて限局的であった。脳実質組織において感染細胞は観察されなかったため、ウェスタンブロットで検出されたウイルス蛋白は脳内に残存する血液由来である可能性が高いと推定され

	た。 次に、脳および肺のウエスタンブロットにおいて、EGF 受容体 (EGFR) およびそのリン酸化型 EGFR に対する抗体でブローピングを行った。対照群では EGFR のバンドが肺および脳組織において検出されたが、感染群では EGFR レベルが低下していた。リン酸化 EGFR についても同様に、感染群では低下傾向が認められた。 【考察】 重症化度の高いマウス適合型 SARS-CoV-2 ウイルスによる感染実験において、肺組織には高レベルのウイルス抗原が認められ、また運動能力の低下など重篤な症状も観察された。一方で、予想に反して、EGF 受容体の活性化は肺および脳において検出されなかった。これは、元株である SARS-CoV-2 (Wuhan 株) を用いて作製した COVID-19 モデルマウスで得られた知見とは一致しない。使用したマウス適合型ウイルスには複数の突然変異が含まれており、その変異が EGFR が複合体を形成する ACE2 受容体との結合性や立体構造に影響を及ぼし、結果として EGF シグナルの活性化が阻害された可能性がある。今後は、今回得られた組織サンプルを用いて、もう一つの研究標的である IL-6 アンプの動態を継続して分析していく予定である。
成果	【学会発表】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと 【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ、IF 入力のこと Nawa H and Murakami M, Neurobiology of COVID19-Associated Psychosis/Schizophrenia; Implication of Epidermal Growth Factor Receptor Signaling, Neuropsychopharmacology Reports, 2025 Mar;45(1):e12520 (IF = 2 .5). 【新聞報道】 【学位取得者】 学部名・学年または職名・氏名入力のこと