

ヒト iPS 細胞由来の気道および肺胞モデルでウイルス感染を再現

～気道と肺胞で異なる免疫応答を可視化した生体模倣システム～

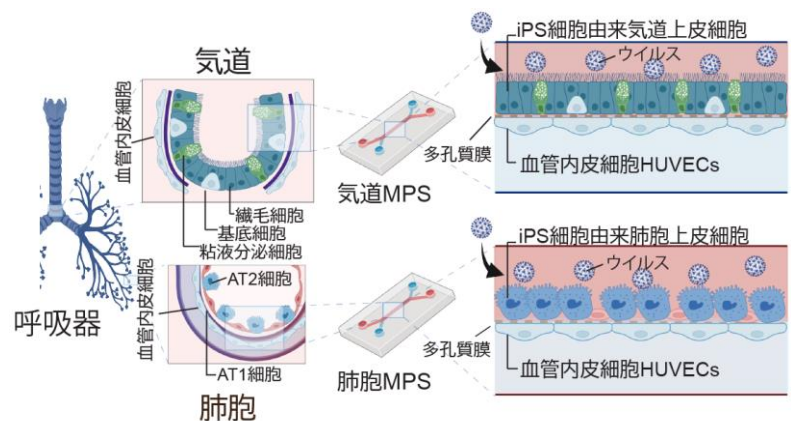
概要

京都大学大学院工学研究科横川隆司教授、Sachin Yadav 博士後期課程学生（現、アステラス製薬株式会社）らの研究グループは、医学部研究所野田岳志教授、iPS 細胞研究所後藤慎平教授らと共同で、ヒト iPS 細胞から作製した肺前駆細胞を用いて、気道および肺胞という 2 つの呼吸器部位を模倣する生体模倣システム（Microphysiological systems (MPS)）を開発しました。このモデルを用いて、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）およびインフルエンザウイルス感染後の細胞傷害や自然免疫応答を再現することに成功しました（図 1）。

生体模倣システムでは、ヒト臓器細胞をマイクロ流体デバイス（チップ）内で培養することで臓器機能を再現することが可能であり、近年では様々な幹細胞を用いて臓器モデルの開発が進んでいます。しかし、細胞の由来がモデルごとに異なるため、異なる臓器モデルの間の薬剤応答などを評価することは困難であり、個別化医療へのハードルとなっていました。特に、同一の遺伝的背景をもつ幹細胞から様々な臓器のモデルが作製できれば、新型コロナウイルス感染症で見られたような、ウイルス感染形態、宿主との相互作用、感染後の病態などの大きな個人間、臓器間の差を再現することができます。

本研究では、単一のヒト iPS 細胞株から作製した肺前駆細胞を用いて、気道および肺胞の上皮-内皮界面を再現した生体模倣システム（気道 MPS と肺胞 MPS）を開発し、SARS-CoV-2 およびインフルエンザウイルスのウイルス疾患メカニズムについて、組織およびウイルス種依存的な感染後の細胞傷害や自然免疫応答を再現しました。その結果、SARS-CoV-2 に対する初期自然免疫応答においては、気道 MPS では強いインターフェロン (IFN) 依存性の反応が早期に起こる一方で、肺胞 MPS では IFN 応答が遅れ、ケモカイン関連の経路が大きく活性化するなど、部位による違いが明らかになりました。また、インフルエンザウイルスでは、両モデルともに SARS-CoV-2 よりも顕著な免疫応答と細胞傷害が観察されました。

これらの成果は、ヒト iPS 細胞由来の MPS がウイルス疾患の病態解明や感染に対する新薬の迅速なスクリーニングに活用できる可能性を示したものであり、将来起こりうるパンデミックへの対処に貢献することが期待できます。本研究成果は 2025 年 7 月 16 日に国際学術誌「*Nature Biomedical Engineering*」のオンライン版に掲載されます。



【本研究のポイント】

- ◆ アイソジェニックな(同一の遺伝的背景を持つ)ヒト iPS 細胞を用いて、ヒト気道あるいは肺胞上皮組織と血管内皮組織が形成する界面構造を再現した生体模倣システムを開発しました。
- ◆ 開発した気道 MPS と肺胞 MPS により、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) が肺の近位部 (気道) と遠位部 (肺胞) で異なる自然免疫応答を引き起こすことを明らかにし、ヒト体内で起こる反応の再現に成功しました。
- ◆ SARS-CoV-2 およびインフルエンザウイルスの感染後に起こる病態と宿主の自然免疫応答を再現し、ウイルスごとの異なる作用メカニズムを可視化しました。

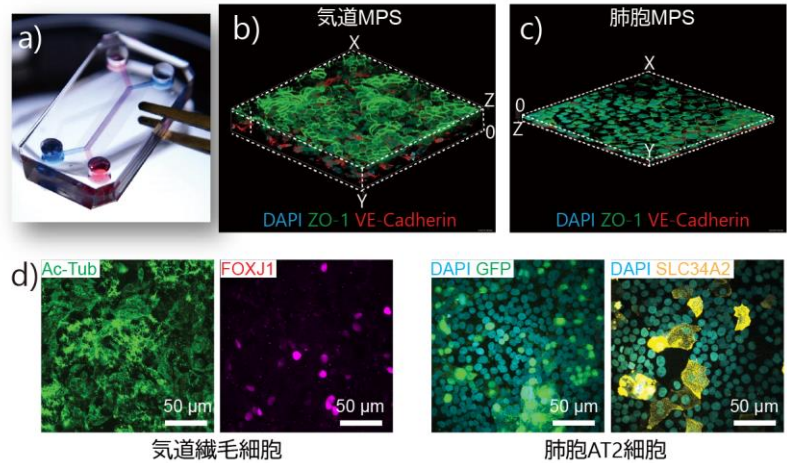


図2：a)マイクロ流体デバイス(チップ)の全体写真。ZO-1の発現からb)気道およびc)肺胞上皮組織が形成されていることがわかる。d)気道および肺胞に特徴的な細胞が分化誘導されている。

1. 背景

肺は、ヒトの呼吸器官として空気中の酸素を取り込み、二酸化炭素を排出する「ガス交換」の役割を担っています。しかし外気に常にさらされているため、ウイルスをはじめとするさまざまな病原体に感染しやすい器官でもあります。近年の新型コロナウイルス感染症に代表されるように、呼吸器感染症はこれまでに幾度もパンデミックを引き起こし、医療現場に大きな負担をもたらしてきました。

感染は、ウイルスの受容体を持つ気道の多繊毛細胞等にウイルスが取りつくことで始まります。その後、肺の奥にある肺胞の細胞へと感染が進行し、肺胞の機能低下や組織損傷を引き起こします。重症化すると、肺以外の臓器にも感染が広がり、多臓器障害を引き起こすこともあります。最近の研究では、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) が肺の近位部 (気道) と遠位部 (肺胞) で異なる免疫応答を引き起こすことも報告されています。

さらに、ウイルス感染症の性質は宿主 (ヒト) の免疫システムとの複雑な相互作用に支配されていることから、従来の研究手法ではウイルス感染がヒトに与える影響を正確に予測・再現することが困難です。動物実験モデルもウイルス感染や薬剤スクリーニングなどに広く用いられてきましたが、倫理的な問題やヒトとの種差の課題が残ります。培養皿での細胞培養に代表される *in vitro* (試験管内) モデルも、ヒト肺の環境を再現するには限界があります。

近年では、肺の生体模倣システム (Microphysiological systems (MPS)) を用いて、感染症の病態をより忠実に再現したり、治療薬候補を効率的に評価したりする取り組みが進んでいます。しかし、広く使われてきた不死化細胞株には遺伝子変異により、ウイルスへの感受性や免疫応答の再現に懸念がありました。また、ヒト試料から取得する初代細胞では細胞種やロットごとに遺伝的背景が異なるため免疫反応にも差があることが予想され、特に SARS-CoV-2 のように、自然免疫の抑制や遅延が病態に關与するウイルスにおける利用には限界があります。

そこで本研究では、同一の遺伝的背景を持つアイソジェニックなヒト iPS 細胞 (人工多能性幹細胞)

を用いて、気道と肺胞の2つの領域を再現する新しいMPSを構築しました。このMPSを用いることで、SARS-CoV-2 およびインフルエンザウイルスに対する組織ごとの自然免疫応答の違いを詳しく調べることが可能となりました。

2. 研究手法・成果

本研究では、肺の2つの主要部位である「気道」と「肺胞」をそれぞれ再現するための分化プロトコルを応用しました。後藤教授らが以前確立した分化方法を応用し、本研究ではマイクロ流体デバイス（チップ）内で分化誘導を実現してモデル構築を進めました。まず、ヒトiPS細胞を21日間培養・分化させたのち、肺前駆細胞を磁気分離法（MACS）により精製し、気道または肺胞MPSにそれぞれ播種しました。

マイクロ流体デバイスは、CNC加工により作製した金型を用いてシリコンゴムであるPDMSに形状を転写するソフトリソグラフィーにより作製しました。チップは、微細な流路（長さ1cm × 幅1mm × 深さ1mm）を有する2層のPDMS構造で、中央には多孔質膜であるPET膜が挟まれており、上皮組織と血管内皮組織の界面を模倣しています。膜の上下にはそれぞれ細胞播種・培養のための流路があり、直径2mmの穴が入口・出口として設けられています。

精製した肺前駆細胞は、ラミニン-511でコートされた膜の上流流路に播種し、それぞれ気道用・肺胞用の分化培地で培養しました。気道MPSでは繊毛細胞が主な構成細胞で、他にも杯細胞、クラブ細胞、基底細胞などが共存しています。一方、肺胞MPSではII型肺胞上皮細胞（AT2）が主で、少数のI型肺胞細胞（AT1）も含まれていました。気道モデルは28日間、肺胞モデルは7日間のオンチップ培養を経て最適な分化状態に達しました。また、血管内皮細胞としてヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を使用し、多孔質膜の反対側に播種して気道および肺胞のインターフェースを再現しました（図2）。

その後、作製したiPS由来の肺モデルにSARS-CoV-2を感染させ、感染後3日間にわたってウイルス量を測定しました。その結果、気道および肺胞の各モデルでウイルス量が増加しましたが、下側の流路（血管側）ではウイルスは検出されず、上皮組織の損傷はほとんど見られませんでした。さらに、RNAseq解析により、気道MPSではI型インターフェロン（IFN）関連の遺伝子や経路が顕著に活性化し、強い自然免疫応答が認められました。一方、肺胞MPSではIFN応答が抑制されると共に遅れて反応が見られ、免疫反応の強度にも差があることが明らかとなりました。本研究は、臓器ごとにおける自然免疫の違いを、MPSモデルで初めて再現した成果です（図3）。

さらに、インフルエンザウイルスを同様に感染させて比較実験を行ったところ、SARS-CoV-2とは異なる反応が観察されました。インフルエンザウイルスは気道・肺胞の両MPSでウイルス量が増加し、いずれも著しい上皮組織の損傷を引き起こしました。気道MPSでは繊毛細胞の数が大きく減少し、上皮の

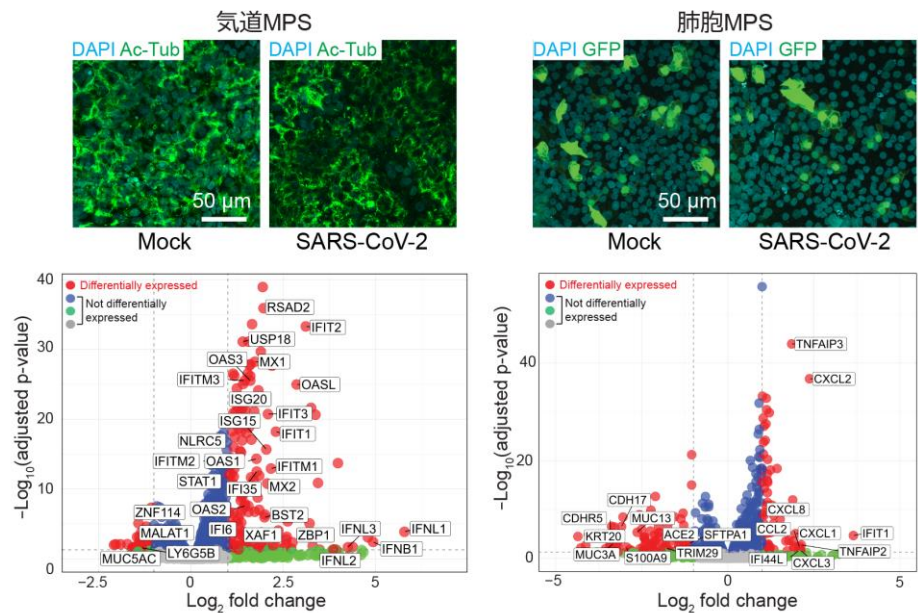


図3：SARS-CoV-2の感染により、気道MPSでは強いインターフェロン（IFN）依存性の反応が早期に起こる一方で、肺胞MPSではIFN応答が遅れ、ケモカイン関連の経路が大きく活性化するなど、部位による違いが明らかになった。

<論文タイトルと著者>

タイトル： Isogenic induced-pluripotent-stem-cell-derived airway- and alveolus-on-chip models reveal specific innate immune responses

著者： Sachin Yadav、藤本和也、武長徹、高橋千絵、村本裕紀子、三河隆太、野田岳志、後藤慎平、横川隆司*

掲載誌： *Nature Biomedical Engineering* DOI： [10.1038/s41551-025-01444-2](https://doi.org/10.1038/s41551-025-01444-2)

* 責任著者

<用語解説>

注：マイクロ流体デバイス（チップ）は、半導体微細加工技術を用いて流路をガラスや樹脂基板上に作製したものである。臓器細胞を培養して生体内に近い環境を創成したチップは、Microphysiological systems (MPS)あるいは生体模倣システムと呼ばれる。