

令和 4 年 9 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02662

研究課題名(和文) 包括的マルチオミクス解析によるウイルス感染ダイナミクスの時空間的理解

研究課題名(英文) Investigation of virus infection dynamics through comprehensive multi-omics approach

研究代表者

佐藤 佳 (Sato, Kei)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：10593684

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：生体内におけるHIV-1感染細胞の性状の多角的な解析に取り組んだ。HIV-1感染ヒト化マウスとマルチオミクス解析を実施し、生体内における「真の」HIV-1感染細胞の特徴を多角的に描き出すことに成功した。研究成果を、学術論文にまとめ、Cell Reports誌にcorresponding authorとして発表した。さらに、本研究を通して構築した解析方法を駆使し、新型コロナウイルスに関する研究も実施し、複数の学術論文をcorresponding authorとして発表した。具体的には、出現が続く新型コロナウイルスの変異株のウイルス学的性状を包括的に解析し、それらを世界に先駆けて解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で用いた研究手法は、きわめて汎用的であり、さまざまなウイルス研究への応用が可能である。つまり本研究は、ウイルスと宿主の新たな関係性の一端を明らかにした研究であり、また、ウイルスと宿主の相互作用のさらなる解明や、エイズの制圧法の開発に向けた基礎学術基盤の形成に直結する研究であると言える。

研究成果の概要(英文)：The project was undertaken to analyze the properties of HIV-1-infected cells in vivo from multiple aspects, and multi-omics analysis was performed with HIV-1-infected humanized mice to successfully depict the characteristics of "true" HIV-1-infected cells in vivo. The research results were summarized in a scientific paper and published in Cell Reports as corresponding author. Furthermore, I also conducted research on SARS-CoV-2 via the analysis methods established through this study, and published several scientific papers as corresponding author. Specifically, I comprehensively analyzed the virological properties of SARS-CoV-2 variants.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ウイルス学

## 1. 研究開始当初の背景

多剤併用療法の導入以降、エイズ/HIV-1 感染症の治療成績は改善したが、根治療法は未だ確立されていない。その主因は、(1) HIV-1 感染はヒト特異的であるため、それを動物モデルで再現できない；(2) 生体内における感染細胞の表現系の多様性（ウイルスを持続産生するのか、潜伏感染化するのか、死滅するのか）を規定する要因・原理が不明である、の2点に集約される。

## 2. 研究の目的

申請者は、実験動物中央研究所が作出した重度免疫不全マウスである NOG マウスに、ヒト造血幹細胞を移植することによって、ヒト造血能を有する「ヒト化マウス」という新たな小動物モデルを作出した。ヒト化マウスは HIV-1 に感受性であることから、新たな HIV-1 感染動物モデルを作出し、主因(1)を解決した (Nie and Sato et al, *Virology*, 2009; Sato et al, *Vaccine*, 2010)。また、さまざまなウイルス遺伝子を変異・欠損させた HIV-1 を作出し、生体内における HIV-1 感染動態の原理を解明してきた (Sato et al, *J Virol*, 2010; ; Sato et al, *J Virol*, 2012; Sato et al, *PLOS Pathog*, 2013\*; Sato et al, *PLOS Pathog*, 2014\*; Nakano et al, *PLOS Pathog*, 2017\*; Yamada et al, *Cell Host & Microbe*, 2018\*、他)。

本研究では、このヒト化マウス動物モデルを用い、主因(2)を解明することを目的とした。すなわち、マルチオミクス解析とウイルス学実験によって、感染細胞の表現型を規定する原理を解明・実証することを目的とした。生体内におけるウイルス感染細胞の運命決定機構は、ウイルス学としての根本的な問いであり、本研究の核心をなす学術的「問い」である。

## 3. 研究の方法

本研究課題では、特に「生体内におけるウイルス感染細胞の運命決定機構」を理解・解明することを目的とした。この課題を解決するために、申請者は、蛍光タンパク質を搭載した組換えウイルス「HIV-GFP」を作製した。HIV-GFP は HIV-1 のプロモーター依存的に発現するため、感染細胞を蛍光色で捕捉することができる。P3 施設に設置したセルソーターを用い、感染細胞を、蛍光色を基に分画・分取する。得られた各分画の感染細胞をさまざまな次世代シーケンス解析に用い、得られたビッグデータをマルチオミクス解析することにより、生体内におけるウイルス感染細胞の運命決定機構を理解することを目的とする解析を行った。

## 4. 研究成果

まず、droplet digital PCR 法による解析によって、GFP が陰性の CD4T 細胞、すなわち、ウイルス非産生細胞においても、ウイルス由来の DNA が存在することを確認した。このことは、ヒトのゲノムに組み込まれたウイルス DNA は保持しているが、ウイルスを産生しない細胞、すなわち、潜伏感染細胞になりうる細胞が、ヒト化マウスモデルを用いた再構築実験においても再現されていることを示唆する。また、digital RNA-sequencing 法による解析の結果、ウイルス産生細胞において、ウイルス由来の mRNA は、全遺伝子の中でも 5 番目に高い発現量であることが明らかとなった。すなわち、HIV-1 の転写・複製は、生体内においてもきわめて高いレベルで行われていることを示唆する。

次に、HIV-GFP 感染ヒト化マウスを用いた 1 細胞 RNA-sequencing (scRNA-Seq) 解析

を実施した。その結果、生体内における HIV-1 感染細胞は、ウイルス産生レベルという点において、表現型が不均一な細胞の集団であることを見出した。具体的には、生体内における HIV-1 感染 CD4T 細胞 (HIV-1 の主たる感染標的細胞) は、細胞のトランスクリプトーム情報に基づくと、少なくとも 9 つの亜集団 (クラスター) に分類されることを見出した。また、それぞれのクラスターにおけるウイルス RNA の発現レベルが顕著に異なり、特に、クラスター 4, 5, 8 におけるウイルス RNA の発現レベルが顕著に高いことを見出した。特に、ウイルス RNA の発現レベルが顕著に高いクラスター 4 においては、CXCL13 を高発現する細胞亜集団が、クラスター 5 においては、インターフェロン誘導遺伝子が低発現の細胞亜集団がそれぞれ確認された。これらのことは、これらの細胞集団が、生体内におけるウイルスの感染拡大に寄与している可能性を示唆する。一方で、クラスター 6, 7, 9 におけるウイルス RNA の発現レベルが顕著に低いことも見出した。特に、ウイルス RNA の発現レベルが顕著に高いクラスター 7 においては、SAMHD1 という HIV-1 の複製を強力に阻害する遺伝子の発現レベルが顕著に亢進していた。

以上のように、本年度は、ヒト化マウスモデルを用いた HIV-1 感染細胞のマルチオミクス解析によって、既存の手法では解析がきわめて困難な、生体内における「真の」HIV-1 感染細胞の特徴を多角的に描き出すことに成功した。以上の研究成果を、学術論文にまとめ、Cell Reports 誌に corresponding author として発表した (Aso et al., Cell Reports, 2020)。

本研究で用いた研究手法 (マルチオミクス解析) は、きわめて汎用的であり、さまざまなウイルス研究への応用が可能である。つまり本研究は、ウイルスと宿主の新たな関係性の一端を明らかにした研究であり、また、ウイルスと宿主の相互作用のさらなる解明や、エイズの制圧法の開発に向けた基礎学術基盤の形成に直結する研究であると言える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 7件 / うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Ito Jumpei, Gifford Robert J., Sato Kei	4. 巻 117
2. 論文標題 Retroviruses drive the rapid evolution of mammalianAPOBEC3genes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 610 ~ 618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1914183116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kumata Ryuichi, Ito Jumpei, Sato Kei	4. 巻 56
2. 論文標題 Inherited chromosomally integrated HHV-6 possibly modulates human gene expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Virus Genes	6. 最初と最後の頁 386 ~ 389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11262-020-01745-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kurusu Tatsuya, Kim Kwang Su, Koizumi Yoshiki, Nakaoka Shinji, Ejima Keisuke, Misawa Naoko, Koyanagi Yoshio, Sato Kei, Iwami Shingo	4. 巻 498
2. 論文標題 Quantifying the antiviral effect of APOBEC3 on HIV-1 infection in humanized mouse model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Theoretical Biology	6. 最初と最後の頁 110295 ~ 110295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtbi.2020.110295	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kumata Ryuichi, Ito Jumpei, Takahashi Kenta, Suzuki Tadaki, Sato Kei	4. 巻 18
2. 論文標題 A tissue level atlas of the healthy human virome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12915-020-00785-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Aso Hirofumi, Nagaoka Shumpei, Kawakami Eiryō, Ito Jumpei, Islam Saiful, Tan Benjy Jek Yang, Nakaoka Shinji, Ashizaki Koichi, Shiroguchi Katsuyuki, Suzuki Yutaka, Satou Yorifumi, Koyanagi Yoshio, Sato Kei	4. 巻 32
2. 論文標題 Multiomics Investigation Revealing the Characteristics of HIV-1-Infected Cells In Vivo	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107887 ~ 107887
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107887	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Liu et al	4. 巻 16
2. 論文標題 Endogenization and excision of human herpesvirus 6 in human genomes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 1008915 ~ 1008915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1008915	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shibazaki Misato, Kato Akihisa, Takeshima Kosuke, Ito Jumpei, Suganami Mai, Koyanagi Naoto, Maruzuru Yuhei, Sato Kei, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 94
2. 論文標題 Phosphoregulation of a Conserved Herpesvirus Tegument Protein by a Virally Encoded Protein Kinase in Viral Pathogenicity and Potential Linkage between Its Evolution and Viral Phylogeny	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 1055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01055-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano et al	4. 巻 16
2. 論文標題 A role for gorilla APOBEC3G in shaping lentivirus evolution including transmission to humans	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 1008812 ~ 1008812
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1008812	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Konno Yoriyuki, Kimura Izumi, Uriu Keiya, Fukushi Masaya, Irie Takashi, Koyanagi Yoshio, Sauter Daniel, Gifford Robert J., Nakagawa So, Sato Kei	4. 巻 32
2. 論文標題 SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108185 ~ 108185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108185	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ito Jumpei, Kimura Izumi, Soper Andrew, Coudray Alexandre, Koyanagi Yoshio, Nakaoka Hirofumi, Inoue Ituro, Turelli Priscilla, Trono Didier, Sato Kei	4. 巻 6
2. 論文標題 Endogenous retroviruses drive KRAB zinc-finger protein family expression for tumor suppression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 3020
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abc3020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hwang Young Sun, Suzuki Shinnosuke, Seita Yasunari, Ito Jumpei, Sakata Yuka, Aso Hirofumi, Sato Kei, Hermann Brian P., Sasaki Kotaro	4. 巻 11
2. 論文標題 Reconstitution of prospermatogonial specification in vitro from human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19350-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Abe T, Ikeda T, Tokuda Y, Ito J, Suzuki Y, Narahara C, Iriyama H, Sato K	4. 巻 114
2. 論文標題 A patient infected with SARS-CoV-2 over 100 days	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 QJM: An International Journal of Medicine	6. 最初と最後の頁 47 ~ 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/qjmed/hcaa296	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Soper Andrew, Koyanagi Yoshio, Sato Kei	4. 巻 65
2. 論文標題 HIV 1 tracing method of systemic viremia in vivo using an artificially mutated virus pool	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiology and Immunology	6. 最初と最後の頁 17~27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1348-0421.12862	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inagaki Tomoki, Sato Yoshitaka, Ito Jumpei, Takaki Mitsuaki, Okuno Yusuke, Yaguchi Masahiro, Masud H. M. Abdullah Al, Watanabe Takahiro, Sato Kei, Iwami Shingo, Murata Takayuki, Kimura Hiroshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Direct Evidence of Abortive Lytic Infection-Mediated Establishment of Epstein-Barr Virus Latency During B-Cell Infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 575255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2020.575255	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirofumi Aso, Jumpei Ito, Yoshio Koyanagi & Kei Sato	4. 巻 10
2. 論文標題 Comparative description of the expression profile of interferon-stimulated genes in multiple cell lineages targeted by HIV-1 infection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2019.00429.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Daichi Yamasoba, Kei Sato, Takuya Ichinose, Tomoko Imamura, Lennart Koepke, Simone Joas, Elisabeth Reith, Dominik Hotter, Naoko Misawa, Kotaro Akaki, Takuya Uehata, Takashi Mino, Sho Miyamoto, Takeshi Noda, Akio Yamashita, Daron M. Standley, Frank Kirchhoff, Daniel Sauter, Yoshio Koyanagi & Osamu Takeuchi	4. 巻 4
2. 論文標題 N4BP1 restricts HIV-1 and its inactivation by MALT1 promotes viral reactivation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Microbiology	6. 最初と最後の頁 1532-1544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41564-019-0460-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Jumpei Ito, Robert J. Gifford, Kei Sato	4. 巻 117
2. 論文標題 Retroviruses drive the rapid evolution of mammalian APOBEC3 genes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 610-618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1914183116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Konno Y, Nagaoka S, Kimura I, Yamamoto K, Kagawa Y, Kumata R, Aso H, Takahashi TM, Nakagawa S, Kobayashi T, Koyanagi Y, Sato K*.	4. 巻 15
2. 論文標題 New World feline APOBEC3 potently controls inter-genus lentiviral transmission	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Retrovirology	6. 最初と最後の頁 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12977-018-0414-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Aso H, Ito J, Koyanagi Y, Sato K*.	4. 巻 10
2. 論文標題 Comparative description of the expression profile of interferon-stimulated genes in multiple cell lineages targeted by HIV-1 infection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2019.00429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Kei Sato
2. 発表標題 Human-specific adaptations in Vpu conferring anti-tetherin activity are critical for efficient early HIV-1 replication in vivo
3. 学会等名 Highlights in Basic and Clinical Research in HIV/AIDS (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 河岡 義裕、岩見 真吾、大場 靖子、川口 寧、佐藤 佳、澤 洋文、鈴木 信弘、高橋 英樹、朝長 啓造、中川 草、長崎 慶三、西浦 博、野田 岳志、古瀬 祐気、堀江 真行、牧野 晶子、松浦 善治、松野 啓太、村田 和義、望月 智弘、渡辺 登喜子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 集英社	5. 総ページ数 320
3. 書名 ネオウイルス学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中岡 慎治  (Nakaoka Shinji)  (30512040)	北海道大学・先端生命科学研究院・准教授    (10101)	
研究分担者	鈴木 穰  (Suzuki Yutaka)  (40323646)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授    (12601)	
研究分担者	城口 克之  (Shiroguchi Katsuyuki)  (00454059)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー    (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------