

口腔内からの SARS-CoV-2 感染リスク因子としての TMPRSS2 発現について ～TMPRSS2 の発現は「女性」、「飲酒」により増加する～

名古屋大学大学院医学系研究科生体反応病理学の豊國 伸哉（とよくに しんや）教授の研究グループは同大学院医学系研究科顎顔面外科学の佐藤 康太郎（さとう こうたろう）助教、日比 英晴（ひび ひではる）教授らの研究グループとの共同研究により、ヒトの舌では SARS-CoV-2^{※1} の感染に重要な ACE2^{※2} は比較的発現が低く、TMPRSS2^{※3} が多く発現しており、それぞれ神経周膜および味蕾での発現を確認しました。また、38 例のヒトの舌サンプルを用いて解析したところ、TMPRSS2 は「女性」、「飲酒」で発現が増強する傾向にあることを明らかにしました。本研究により ACE2 および TMPRSS2 の局在を確認できたため、今後はそれらに結合している関連タンパク質を解析することによる COVID-19^{※4} に伴う味覚障害の機序解明など、さらなる研究を計画しています。

本研究は、科学技術振興機構（JST） 戦略的創造研究推進事業 CREST「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」研究領域（研究総括：馬場 嘉信 名古屋大学教授）における研究課題名「細胞外微粒子への生体応答と発がん・動脈硬化症との関連の解析」（研究代表者：豊國 伸哉 名古屋大学教授）（JPMJCR19H4）の支援を受けたものです。

本研究結果は、科学誌「Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition」（電子版）に 2022 年 9 月 1 日に掲載されました。

ポイント

- ヒトの舌における ACE2 発現はマウスと比較して少なく、むしろ TMPRSS2 の発現が多くみられた。
- 舌における TMPRSS2 の発現は「女性」、「飲酒」により増加する傾向にあった。
- 以上より、口腔内からの感染には ACE2 に加え TMPRSS2 の発現も重要だと考えられた。

1. 背景

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) は新たな株が次々と出現するなど、いまだ脅威となっています。原因ウイルスである severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2) は、受容体である angiotensin-converting enzyme 2(ACE2)に結合し、その後、transmembrane serine protease 2(TMPRSS2)によって細胞内への侵入が促進されることで感染が成立するといわれています(図 1)。口腔内にはこれら2つの分子が多いと言われており、感染初期に味覚障害が出現することから口腔内が感染に重要な役割を担っていると考えられています。そこで本研究では、舌における ACE2 と TMPRSS2 の発現を舌のサンプルを使用して、ヒトおよびマウスで比較し、それぞれが発現する局在、および増強させる因子を明らかにすることを目的としました。本研究は本学生命倫理審査委員会および動物実験委員会での承認のもと実施しました。

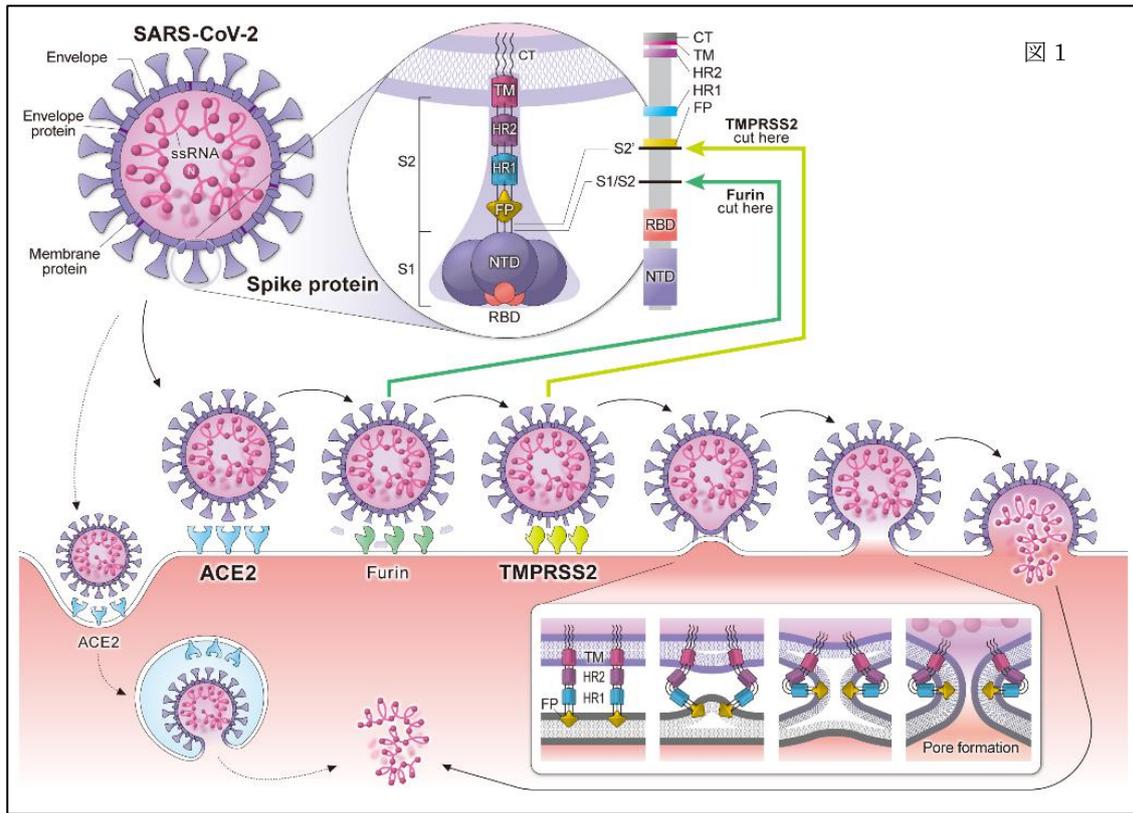


図 1

図 1 : SARS-CoV-2 が細胞内へ侵入する流れ

SARS-CoV-2 の表面にある Spike(S) protein の Receptor Binding Domain (RBD) が ACE2 に結合し、Furin と TMPRSS2 がスパイクタンパク質を切断する。それにより Fusion Peptide (FP)が露出し、細胞膜へ結合することで ssRNA が細胞内へ侵入する。また、ACE2 と結合しエンドソームで細胞内に侵入する補助的な経路も存在する。

CT, cytoplasmic tail; TM, transmembrane domain; HR, heptad repeat; NTD, N-terminal domain.

2. 研究成果

ACE2 に関して免疫組織化学染色では、マウスの舌と比較してヒトでは相対的に発現が低く、舌上皮、血管、神経周膜、味蕾に軽度の発現がみられ、免疫ブロット法でも同様の傾向でした。逆に、TMPRSS2 についてはヒトでの発現はマウスと比較して高く、舌上皮、血管、神経周膜、唾液腺、味蕾に高度の発現がみられ、こちらも免疫ブロット法でも同様の傾向でした。次に、ヒトの舌ホルマリン固定パラフィン包埋組織標本を使用し、免疫組織化学染色により ACE2 および TMPRSS2 の発現に影響を及ぼす因子として「年齢」「性別」「喫煙」「飲酒」をロジスティック回帰分析により検討を行ったところ、ACE2 に関して関連因子は同定されなかったものの、TMPRSS2 では「飲酒」と「性別」が増強因子として同定されました。

5 週齢の BALB/c (♂)

当科における舌がん(舌が原発であり、かつ初発である)の手術患者

①既存検体は 2016 年 1 月から 2020 年 4 月までの間に
当科にて手術が行われた患者(38 例)

②新規検体は当科に入院または通院中の患者(3 例)

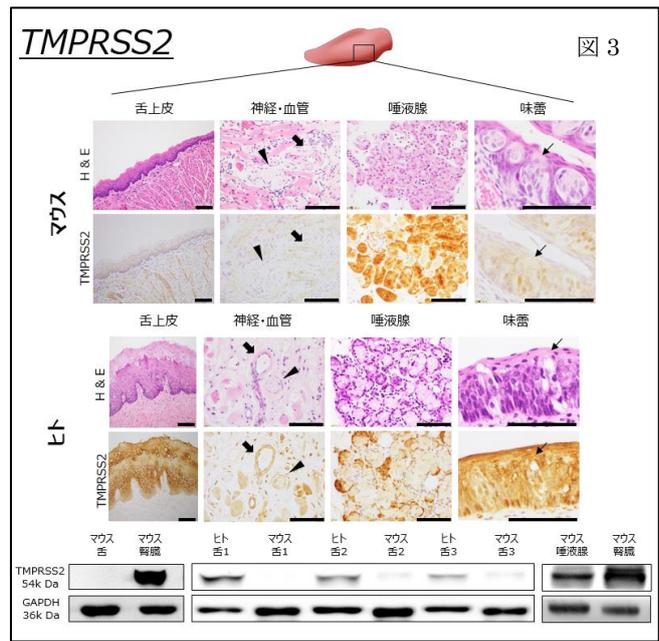
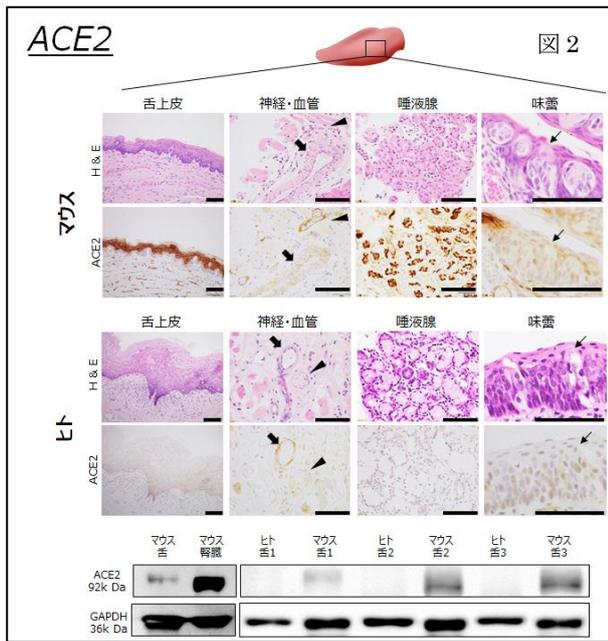


図 2 : マウスとヒトの舌における ACE2 の発現

(A) マウスの舌サンプル : 舌上皮、神経周膜、唾液腺に高発現であった。(スケールバー = 100 μ m; 矢頭, 神経; 細い矢印, 味蕾; 太い矢印, 血管壁)。(B) ヒトの舌サンプル : 舌上皮、神経、血管壁、唾液腺、味蕾では低発現であった。(スケールバー = 100 μ m; 矢頭, 神経; 細い矢印, 味蕾; 太い矢印, 血管壁)。(C) 免疫ブロット法 : マウス (n=3)の舌での ACE2 はヒト (n=3)と比較して高発現であった。

図 3 : マウスとヒトの舌における TMPRSS2 の発現

(A)マウスの舌サンプル : 唾液腺に高発現であった。(スケールバー = 100 μ m; 矢頭, 神経; 細い矢印, 味蕾; 太い矢印, 血管壁)。(B) ヒトの舌サンプル : 舌上皮、神経、血管壁、唾液腺、味蕾に高発現であった。(スケールバー = 100 μ m; 矢頭, 神経; 細い矢印, 味蕾; 太い矢印, 血管壁)。(C) 免疫ブロット法 : ヒト (n=3)の舌での TMPRSS2 はマウス (n=3)と比較して高発現であった。

表 1

ACE2			TMPRSS2				
項目		p Value	項目	オッズ比	95%CI	p Value	
年齢	<50	0.95	年齢	<50	0.512	0.084-3.103	0.466
	≥50						
性別	男性	0.301	性別	男性	13.878	1.662-115.914	0.015*
	女性						
喫煙	Pack-years<30	0.969	喫煙	Pack-years<30	8.017	0.820-78.371	0.074
	Pack-years≥30						
飲酒	あり	0.929	飲酒	あり	7.048	1.005-49.426	0.049*
	なし						

表 1：ロジスティック回帰分析

ACE2 では各因子で有意差は認めなかったものの TMPRSS2 では「女性」および「飲酒」が発現を上昇させる因子であった (* $p < 0.05$)。

3. 今後の展開

本研究成果により、口腔内からの感染には TMPRSS2 が重要である可能性が示唆され、「飲酒」および「女性」がその発現を増強させることを初めて示しました。味蕾および神経周膜に ACE2 および TMPRSS2 の発現を確認できたため、今後はそれらに結合している関連タンパク質を解析することで味覚障害の機序を解明することを目指し、さらには口腔内からのアプローチによる COVID-19 予防法開発を目指します。

4. 用語説明

※1 SARS-CoV-2 : severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

新型コロナウイルス感染症の原因ウイルスである。

※2 ACE2 : angiotensin-converting enzyme 2

アンジオテンシン変換酵素 II 受容体のことであり、SARS-CoV-2 が同受容体に結合することで感染するといわれている。

※3 TMPRSS2 : transmembrane serine protease 2。

II 型膜貫通型セリンプロテアーゼのことであり、SARS-CoV-2 の表面に存在するスパイクタンパク質を切断することで感染を促進するといわれている。

※4 COVID-19: coronavirus disease 2019

2019 年に発生した新型コロナウイルス感染症のことである。

5. 発表雑誌

掲雑誌名 : Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition

論文タイトル : Association of alcohol intake and female gender with high expression of TMPRSS2 in tongue as potential risk for SARS-CoV-2 infection

著者 : Kotaro Sato,^{1,2} Koki Fujii,¹ Noriyuki Yamamoto,² Norihisa Ichimura,² Satoshi Yamaguchi,² Hirohisa Yamada,³ Hideharu Hibi^{3,4} and Shinya Toyokuni^{1,4}

所属名 :

¹Department of Pathology and Biological Responses, Nagoya University Graduate School of

Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Nagoya University Hospital, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

³Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

⁴Center for Low-temperature Plasma Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa, Nagoya 464-8603, Japan

DOI : 10.3164/jcbs.21-172

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Jou_220913en.pdf