

令和元年6月6日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11115

研究課題名(和文) 妊娠時インフルエンザウイルス感染重症化に關与する自然免疫リンパ球(ILC)の解析

研究課題名(英文) Analysis of innate immune lymphocytes (ILC) involved in the aggravation of influenza virus infection during pregnancy

研究代表者

山崎 元美 (YAMAZAKI, Motomi)

日本大学・医学部・研究員

研究者番号：40376794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：H1N1インフルエンザウイルスに感染した妊娠マウスにおいて、著しい母体重の抑制が認められた。胎仔重量の抑制は認められたが、胎児数に違いは認められなかった。感染妊娠マウスの肺組織において、感染防御に重要な働きをするIFN- $\gamma$ の発現は、H1N1の感染により非妊娠マウスでは300倍程度の増加であったが、妊娠マウスでは3000倍程度の増加が認められた。また、H1N1の感染により、自然免疫リンパ球の1つであるILC-2の転写因子であるGATA-3が妊娠マウスの肺でのみ増加していた。Foxp3、IL-10の発現増加も感染妊娠マウスでのみ確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パンデミックを引き起こしたインフルエンザウイルス(H1N1)は妊婦、基礎疾患のある人や乳幼児などで重症化が報告されている。妊婦は非妊婦に比べて、ウイルスや細菌に対して、易感染性、感染御症状の重篤化がおきやすく、妊娠中は胎児の存在により母体免疫の応答が変化し、感染症に対する免疫機能の低下が起きるとされている。本研究結果から、H1N1感染により自然免疫リンパ球をはじめとした免疫応答が妊娠することで変化することが分かった。

研究成果の概要(英文)：Significant suppression of maternal weight was observed in pregnant mice infected with H1N1 influenza virus. Although fetal weight suppression was observed, there was no difference in the number of fetuses. In lung tissues of infected pregnant mice, expression of IFN- $\gamma$ , which plays an important role in infection protection, was increased by about 300-fold in non-pregnant mice due to H1N1 infection. On the other hand, about 3000 times increase was recognized in the pregnant mouse. In addition, infection with H1N1 increased GATA-3, which is a transcription factor for ILC-2, one of the innate immune lymphocytes, only in the lungs of pregnant mice. Only in infected pregnant mice, increased expression of Foxp3 and IL-10 was also confirmed.

研究分野：粘膜免疫

キーワード：インフルエンザ重症化 妊娠

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

季節性インフルエンザウイルスは冬期に毎年流行しているが、乳幼児・高齢者・基礎疾患を有するものや妊婦らではしばしば重症化を引き起こすことが報告されている。2009年にパンデミックを引き起こしたインフルエンザウイルスでも妊婦などで重症化が報告されている。幸い本邦では、妊婦の死亡は報告されていないが、海外では死亡や入院率の増加が報告されている。しかし、なぜ重症化を引き起こしたのか、そのメカニズムは解明されていない。高齢出産、少子化傾向にある本邦において、母体および胎児へのリスク軽減は重要な課題であると考えられた。妊娠中のインフルエンザウイルス感染重症化メカニズムが解明されれば、その予防法および新規治療法の開発に繋がる。インフルエンザウイルスの多くは季節性のものであるが、パンデミックを引起こす新型インフルエンザウイルスがいつ出現するか分からない状態であるため、本研究は重要性が高いと考えた。

ウイルス感染時には、まず初めにナチュラルキラー細胞(NK)細胞など自然免疫系が誘導されることが知られている。本来、免疫は自己と非自己を認識し、外来の細菌・ウイルス・毒素など生体に不要なものを排除する一方で、生体に必要な食餌は排除しないという、生物が生きていくのに重要なシステムの一つである。妊娠中は母体にとって非自己である胎児を排除しないようにするために、制御性T細胞(Treg)や子宮特異的に存在するNK細胞(CD56+CD16-)などの免疫細胞が関与しており、妊娠維持には絶妙な免疫バランスで成り立っている。一方で、妊娠中は細菌やウイルスなどの感染症疾患に罹りやすい状態である。細菌やウイルス感染に対する免疫応答と妊娠を維持するための免疫応答は異なっており、このバランスの破綻がインフルエンザウイルス感染重症化に関与しているものと考えられる。NK細胞はウイルス感染細胞や腫瘍細胞を標的とし、細胞障害活性を示すことが知られており、NK細胞の細胞障害性の活性化に関わる受容体として natural cytotoxicity receptors (NCRs)がある。最近発見された自然免疫リンパ球(ILC)にもNCRsは存在している。ILCは3つのサブタイプがあり、ILC-1やILC-3の一部でNCRsの発現が確認されている。ILC-1はIFN- $\gamma$ 、ILC-3はNCRs陽性細胞がIL-22を産生することが報告されている。また、インフルエンザ感染マウスの肺で炎症に伴い、ILCsが集積することや組織修復に関与していることが報告されているが、妊娠中の報告は未だ無い。本研究により、未だ不明な点の多い妊娠時の母体免疫応答の変化が解明されれば、インフルエンザウイルス以外のウイルス感染に応用することも可能であると考えられ、妊娠時のインフルエンザウイルス感染重症化メカニズムの解明は、ヒトでの検討は倫理的な面から不可能であり、臨床の現場でも問題となる妊娠後期に着目し、インフルエンザウイルス感染による母体と胎児への影響と重症化メカニズムの検討は重要である。

本研究により、インフルエンザウイルス感染以外の感染症への応用につながる可能性が考えられ、インフルエンザウイルス感染マウスのコントロールとして妊娠非感染マウスの解析を行うことにより、未だ不明な点が多い妊娠維持に関与する免疫メカニズムの一端が解明されることが期待され、この結果から免疫異常が関与していると考えられる産婦人科疾患についても解明の足掛かりになると考えた。

## 2. 研究の目的

2009年にパンデミックを引き起こしたインフルエンザウイルスは妊婦などで重症化が報告されているが、なぜ重症化を引き起こしたのか、そのメカニズムは未だ解明されていない。高齢出産、少子化傾向にある本邦において、インフルエンザウイルス感染による妊娠時の重症化メカニズムの解明は急務である。

本研究では、妊娠感染動物モデルを用いて、自然免疫系の一つである自然免疫リンパ球(ILC)に着目し、妊娠中のインフルエンザウイルス感染が母児に及ぼす影響と重症化メカニズムの解明を目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 季節性インフルエンザウイルス(H3N2)とパンデミックを引き起こしたインフルエンザ(H1N1)を非妊娠マウスと妊娠マウスに感染させ、感染ウイルス量による違い、ウイルスの種類による違い、感染時の体重変化、血液中のインフルエンザウイルス量などを検討する。

(2) H1N1感染時の非妊娠マウス、妊娠マウスの肺組織中のサイトカインやILCsの転写因子などの発現を検討する。

## 4. 研究成果

(1) 高濃度のインフルエンザウイルス感染では、H1N1(パンデミック)はH3N2(季節性)の感染よりも体重抑制が大きく、感染5~10日で死亡した。低濃度のインフルエンザウイルス感染では、死亡例は確認されなかった。非妊娠マウスでは、H3N2よりもH1N1のほうが、体重抑制が著しかった。妊娠マウスでのH1N1感染は、母体重の著しい体重抑制が認められたが、死産は認められなかった。妊娠マウスでは、コントロール群に比べ、H1N1感染群で胎児重量の著しい抑制が認められた。

(2) H1N1感染させた非妊娠マウスと妊娠マウスの肺組織中のサイトカインや転写因子(IFN- $\gamma$ 、IFN- $\beta$ 、IL-1、IL-6、IL-10、IL-17、MIP2、TGF- $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、Foxp3、T-bet、GATA-3、ROR $\gamma$ T)の発現を検討した。感染初期に誘導されるIFN- $\gamma$ は、非妊娠マウス、妊娠マウスの両

群で発現を確認したが、妊娠マウスでより著しい発現増加が認められた。  
また、非妊娠マウスと妊娠マウスで発現が異なったものとして、Foxp3 と IL-10 は、どちらも感染妊娠マウスで増加、GATA-3 は減少が認められた。

H3N2(季節性)よりも H1N1(パンデミック)感染でより重症化した。インフルエンザウイルス感染時の免疫応答は、非妊娠と妊娠で異なることが分かった。妊娠時の母体免疫の応答変化は、妊娠維持と感染防御によるものと考えられた。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Motomi Yamazaki, Takayuki Murase, Tatsuo Yamamoto, Mitsuhiro Moriyama : Effects of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection on maternal and fetal in pregnant mouse model . 第 4 7 回日本免疫学会学術集会 . 福岡国際会議場 (福岡県福岡市) . 2018.12.11.

2. Motomi Yamazaki, Takayuki Murase, Tatsuo Yamamoto, Mitsuhiro Moriyama : Effects of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection on maternal and fetal in pregnant mouse . 第 4 6 回日本免疫学会学術集会 . 仙台国際センター(宮城県仙台市) . 2017.12.12.

〔図書〕(計 1 件)

村瀬 隆之、山本 樹生 : インフルエンザ . 特集 周産期のウイルス感染 妊娠・分娩・産褥時の対応 . 周産期医学 2017 ; 47(2), 243-248. 東京医学社

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名 : 山本 樹生

ローマ字氏名 : YAMAMOTO, Tatsuo

所属研究機関名 : 日本大学

部局名 : 医学部

職名 : 客員教授

研究者番号 (8 桁) : 40167721

研究分担者氏名 : 東 裕福

ローマ字氏名 : AZUMA, Hiromitsu

所属研究機関名：日本大学  
部局名：医学部  
職名：助教  
研究者番号（8桁）：60772936

研究分担者氏名：村瀬 隆之  
ローマ字氏名：MURASE, Takayuki  
所属研究機関名：独立行政法人国立病院機構災害医療センター(臨床研究部)  
部局名：その他  
職名：その他  
研究者番号（8桁）：70276723

研究分担者氏名：千島 史尚  
ローマ字氏名：CHISHIMA, Fumihisa  
所属研究機関名：日本大学  
部局名：医学部  
職名：准教授  
研究者番号（8桁）：50277414

研究分担者氏名：市川 剛  
ローマ字氏名：ICHIKAWA, Go  
所属研究機関名：日本大学  
部局名：医学部  
職名：兼任講師  
研究者番号（8桁）：80599994