

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K08792

研究課題名(和文)ヘム型ペルオキシダーゼに着目したインフルエンザ重症肺炎の治療戦略

研究課題名(英文)Therapy for severe influenza virus pneumonia focused on heme-peroxidase

研究代表者

鈴木 章一 (Suzuki, Shoichi)

帝京大学・公私立大学の部局等・准教授

研究者番号：40253695

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)：ヘム型ペルオキシダーゼの産物であるヒポチオシアン酸がインフルエンザウイルスなどのRNAウイルス感染に対してどのような影響を及ぼすのか、ほとんど明らかにされていなかった。本研究により、ヒポチオシアン酸はpoly I:C(疑似RNAウイルス)による抗ウイルス応答(アポトーシス誘導及びI型インターフェロンの発現誘導)を強く抑制することを見いだした。さらなる解析により、ヒポチオシアン酸はオートファジーを促進している可能性も見いだした。これらの発見により、ヒポチオシアン酸が肺炎の重症化に関与していることを示唆するとともにヘム型ペルオキシダーゼの阻害剤が重症肺炎の治療に有効であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

RNAウイルスによる肺炎の重症化の機構は未だ不明な点が多い。本研究によりヒポチオシアン酸がその重症化の要因になっている可能性が強く示され、このことはRNAウイルスによる重症肺炎の新規治療薬の開発につながることを期待される。また、ここ数年大問題となっている新型コロナウイルスもRNAウイルスであることから、新型コロナウイルス感染による重症化機構にもヒポチオシアン酸が関与している可能性が十分考えられ、本研究結果は新型コロナウイルス感染症の重症化の予防薬や治療薬の開発にも有用であると考えられる。

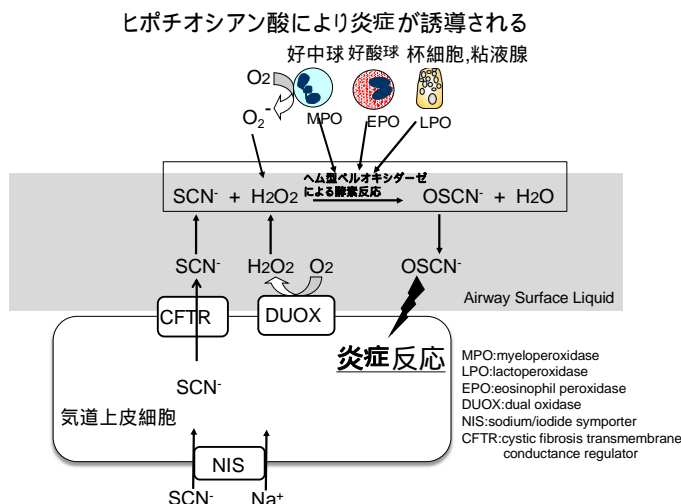
研究成果の概要(英文)：The effects of hypothiocyanous acid (HOSCN), which is a product of heme-peroxidases, on host antiviral responses are still unknown. In this research project, we clarified the role of HOSCN in host antiviral responses against RNA viruses in airway epithelial cells (H292) using polyinosinic-polycytidylic acid (polyI:C), a mimic of viral RNA. Our results show that HOSCN decreased poly I:C-induced apoptosis and the expression levels of IFN-beta1 and IFN-lambda1 mRNA. Further analysis shows that there is a possibility that HOSCN may induce autophagy in H292 cells. These results suggest that HOSCN is associated with pathogenic mechanisms of RNA virus-induced severe pneumonia and inhibitors of heme-peroxidases may be useful for treatment of the disease.

研究分野：免疫学

キーワード：LPO MPO 重症肺炎 ヒポチオシアン酸 インフルエンザウイルス IRF3 ヘム型ペルオキシダーゼ

1. 研究開始当初の背景

季節型インフルエンザウイルスの感染は死亡率も低く対処療法のみで済む場合が多く、また劇症型と呼ばれる重篤な肺炎を併発することもほとんどない。しかし、1918-19年に大流行したスペイン風邪や、近年大きな問題となっている高病原性トリインフルエンザ(A/H5N1型)ではヒトで60%もの高死亡率を示している。これらの高病原性インフルエンザでは劇症型の急性呼吸窮迫症候群(acute respiratory distress syndrome: ARDS)の急性症状を示し呼吸不全に至る。高病原性インフルエンザウイルス感染による重症肺炎の発症機構にはサイトカインストームが関与していると考えられているが未だ不明な点が多い。我々は既にヘム型ペルオキシダーゼの産物であるヒポチオシアン酸がNF-κBの活性化を通して気道炎症を増悪させる因子であることを見いだしており、この分子がインフルエンザウイルス感染による肺炎の重症化にも関与している可能性が十分考えられた。



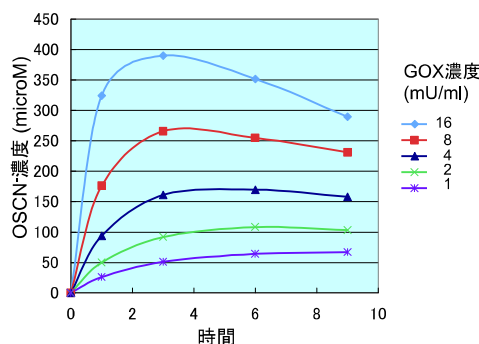
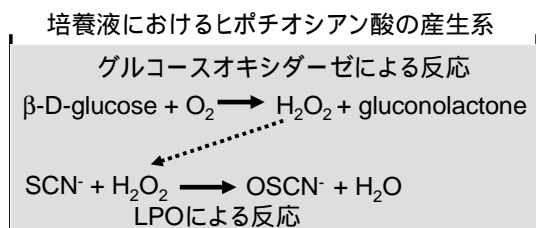
2. 研究の目的

本研究は気道上皮細胞や肺胞上皮細胞に対するヒポチオシアン酸の作用を明らかにするとともに、インフルエンザ肺炎の重篤化抑制に、ヘム型ペルオキシダーゼの阻害剤が有効であることを示すことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) in vitroにおけるヒポチオシアン酸の産生方法

下図(左)のように培養液にグルコースオキシダーゼ(GOX)とLPOとSCN⁻を添加すると酵素反応が生じて最終的にはヒポチオシアン酸(OSCN⁻)がGOX濃度依存的に産生される(下図、右)。この系を用いて細胞をヒポチオシアン酸処理を行った。



(2) ウイルス感染におけるヒポチオシアン酸の作用解析

poly ICを疑似RNAウイルスとして用いた。poly ICで1時間刺激した後、ヒポチオシアン酸で3-5時間処理した。この細胞を用いて、アポトーシス解析、各種遺伝子発現および機能解析をおこなった。

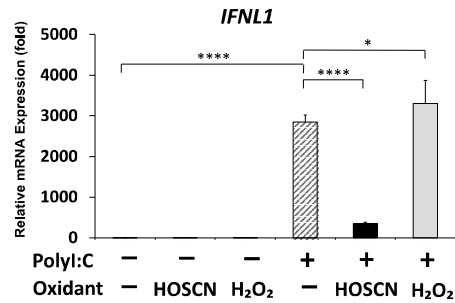
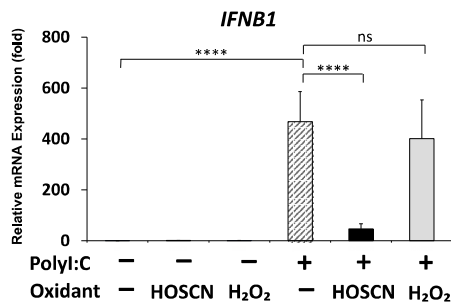
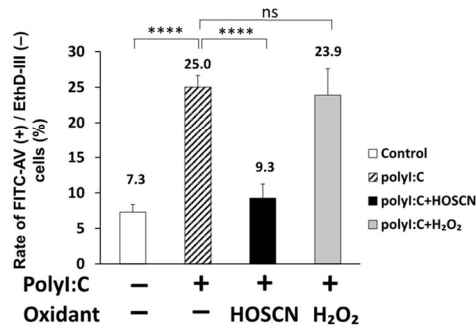
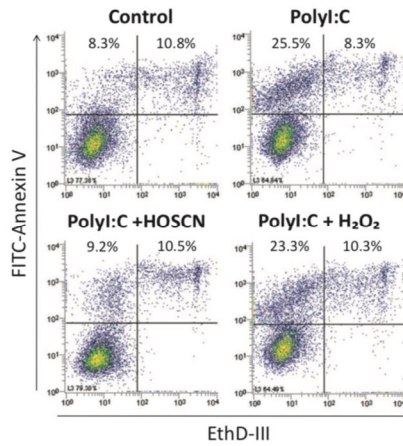
(3) ヒポチオシアン酸がIRF3の活性化に及ぼす影響

ヒポチオシアン酸処理をした細胞からタンパク質を全細胞及び核から抽出し、抗リン酸化IRF3抗体を用いて解析した。

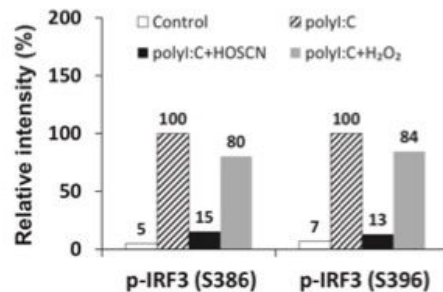
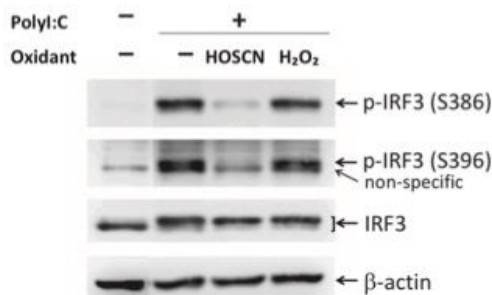
4. 研究成果

(1) ヒポチオシアン酸は RNA ウイルスに対する抗ウイルス応答であるアポトーシス誘導と 1 型インターフェロンの誘導を抑制する。

H292 気道上皮細胞を疑似 RNA ウイルスである poly IC で処理すると、アポトーシス誘導や 1 型インターフェロンの誘導といった抗ウイルス応答が起こることが報告されている。そこで、これらの抗ウイルス応答に対するヒポチオシアン酸の作用を解析した。アネキシン V の発現を指標としてアポトーシス細胞を判定したところ、ヒポチオシアン酸は顕著にアポトーシス誘導を阻害した。また、1 型インターフェロンであるインターフェロン (INF) -beta1 や IFN-lambda1 の発現誘導も阻害することを見いだした。



このヒポチオシアン酸による阻害機構を IFN-beta の転写に必須な転写因子である IRF3 の活性化に着目して解析を進めたところ、ヒポチオシアン酸が IRF3 のリン酸化を阻害することで、IFN-beta の転写を抑制することを見いだした。さらなる解析により TBK1 という IRF3 のリン酸化タンパク質を介してヒポチオシアン酸は IRF3 のリン酸化を阻害することを見いだした。以上の結果より、ヒポチオシアン酸はインフルエンザウイルスを含め、RNA ウイルス感染による抗ウイルス応答を抑制することで、肺炎の重症化に寄与していることが強く示唆された。



(2) ヒポチオシアン酸は H292 気道上皮細胞のオートファジーに影響を及ぼす。

インフルエンザウイルスによる重症肺炎とオートファジーとの関連性が注目されているのでヒポチオシアン酸が気道上皮細胞のオートファジーに及ぼす影響を解析した。オートファジーのマーカーである抗リン酸化 p62 抗体, 及び 抗 LC3 抗体を用いたウェスタンブロット法にて調べたところ、ヒポチオシアン酸は p62 のリン酸化を促進し、かつ LC3-II の発現を増加することを見いだした。これらの結果から、ヒポチオシアン酸によりオートファジーが促進され、これがインフルエンザウイルスによる肺炎の重症化に関与している可能性が考えられた

<引用文献>

Tohoku J. Exp. Med., 2018, **245**, 131-140

Thuy Thu Nguyen, Shoichi Suzuki, Ryuichi Sugamata, Fuyu Ito, Dat Huu Tran, Tomoko Yamamoto, Shoji Kawachi and Kazuo Suzuki

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nguyen Thuy Thu, Suzuki Shoichi, Sugamata Ryuichi, Ito Fuyu, Tran Dat Huu, Yamamoto Tomoko, Kawachi Shoji, Suzuki Kazuo	4. 巻 245
2. 論文標題 Hypothiocyanous Acid Suppresses PolyI:C-Induced Antiviral Responses by Modulating IRF3 Phosphorylation in Human Airway Epithelial Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 131 ~ 140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1620/tjem.245.131	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0件

〔図書〕 計0件

〔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	菅又 龍一 (Sugamata Ryuichi) (70595917)	帝京大学・公立大学の部局等・講師 (32643)	

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