

平成 21 年 4 月 2 日現在

研究種目：若手研究(B)
研究期間：平成 19-20 年度
課題番号：19790748
研究課題名（和文） RSV 感染症における Mast cell の役割の解明
研究課題名（英文） Studies on the role of Mast cell in RSV infection
研究代表者 白戸憲也
国立感染症研究所ウイルス 3 部
研究者番号 40415477

研究成果の概要：

RSV 感染症では気道過敏症などのアレルギー様症状が見られ、これらの病態悪化には Th2 免疫応答レベルの上昇が関連すると考えられている。肥満細胞は好塩基性顆粒や Th2 サイトカインを分泌し、アレルギー疾患においてエフェクター細胞として作用するため、RSV 感染症の病原性に肥満細胞が関与している可能性が考えられる。一方で、肥満細胞は Fractalkine(CX₃CL1) のレセプター(CX₃CR1)を多量に発現しているが、RSV の G 蛋白は CX₃CL1 を構造が近似し、CX₃CR1 と結合することが報告されている。よって RSV が肥満細胞に直接的に影響を与える可能性が考えられる。そこでヒト肥満細胞株 HMC-1 を用いて RSV が肥満細胞に与える影響について検討した。HMC-1 は CX₃CR1 を発現しているが、ヒト呼吸器細胞株の A549 と比較して RSV の吸着量に違いは見られなかった。さらに、RSV は A549 細胞で効率的に複製するが、HMC-1 ではほとんど複製しないことが明らかとなった。脱顆粒へ与える影響を検討したところ、RSV を直接接種した場合、HMC-1 の脱顆粒は見られなかったが、RSV 感染 A549 細胞と共培養したところ、HMC-1 の有意な脱顆粒が確認され、TNF-αの発現も確認された。しかしながら、RSV 感染 A549 細胞の培養上清で HMC-1 を培養した時は有意な脱顆粒は見られなかった。以上のことから、RSV 感染 A549 細胞に発現するなんらかの分子や cytokine の paracrine signal などの非免疫系シグナルが、肥満細胞の脱顆粒を誘導することが示唆され、RSV は間接的に肥満細胞機能に影響を与えることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	1,500,000	0	1,500,000
平成 20 年度	1,800,000	0	1,800,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000		3,300,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：小児科学

キーワード：小児感染症学

1. 研究開始当初の背景

重症ケースの RSV 感染症の病態悪化には、Th2 免疫応答レベルの上昇が関連することが報告されており、アレルギー性疾患の病態と類似している。肥満細胞は全身組織の血管付近に広く分布し、肥満細胞から放出される好塩基性顆粒はアレルギー性疾患でケミカルメディエーターとして働いている。しかしながら、肥満細胞の感染症における役割は不明であり、RSV 感染症でもその機能は良くわかっていない。また、RSV の構造蛋白である G 蛋白はフラクタルカイン(CX₃CL1)と構造が近似しているため、そのレセプターである CX₃CR1 と結合することが報告されているが、肥満細胞は CX₃CR1 を多量に発現しているため、RSV は肥満細胞へ吸着、感染する可能性が高い

2. 研究の目的

ヒト肥満細胞株 HMC-1 細胞を用いて RSV 感染における肥満細胞の役割について検討した。

3. 研究の方法

肥満細胞株として HMC-1 を用いた。RSV の HMC-1 への吸着性、感染性はプラークアッセイおよびリアルタイム PCR で測定した。また HMC-1 の脱顆粒は Tryptase assay および β -hexosaminidase 測定法により行った。Luminex システムおよび Th2 サイトカインパネルを用いてサイトカイン発現を測定した。

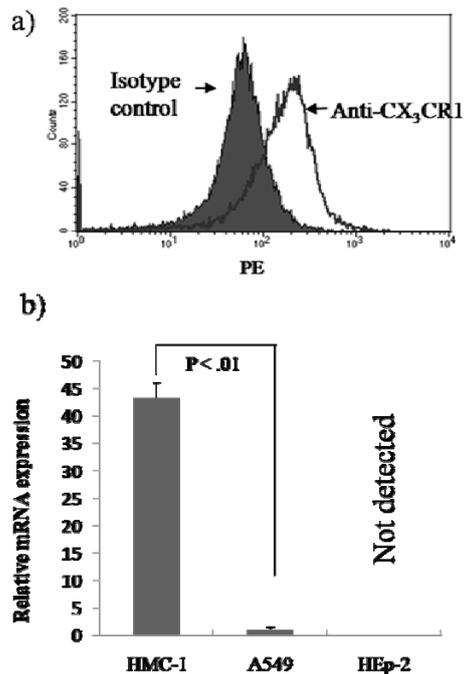
4. 研究成果

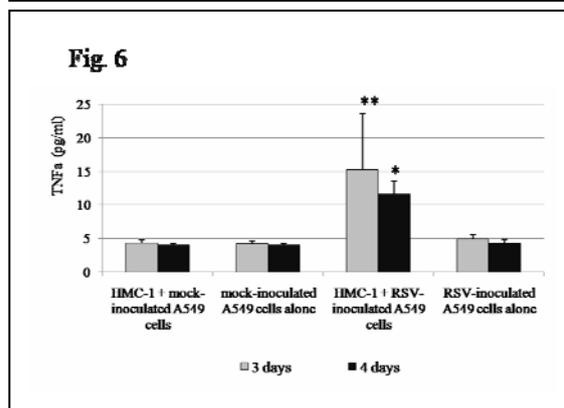
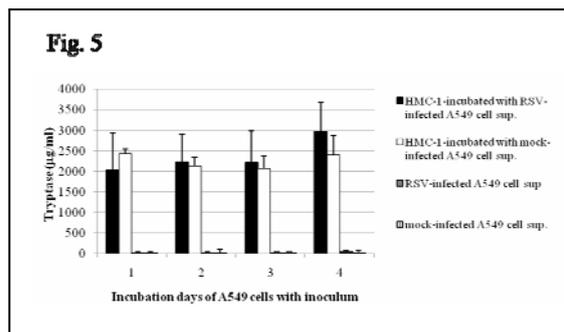
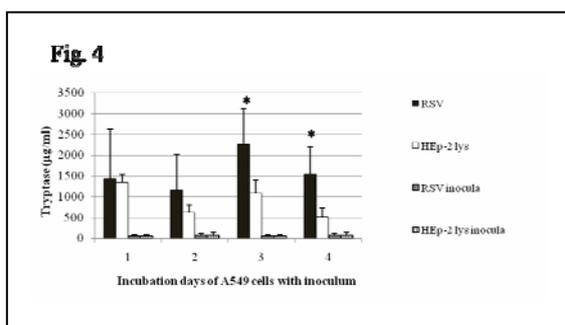
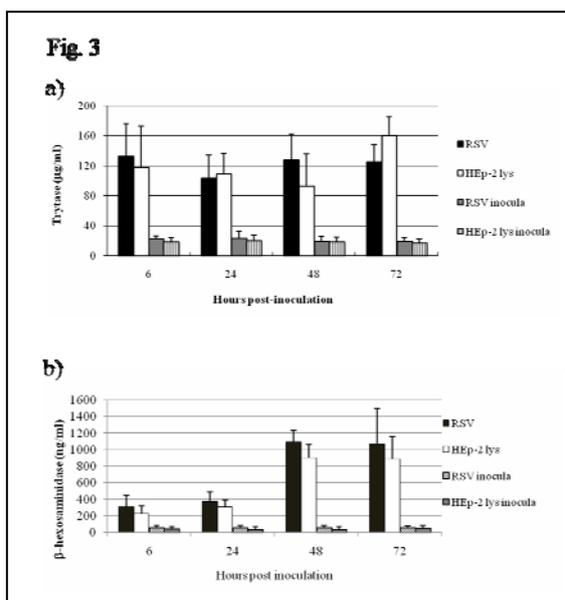
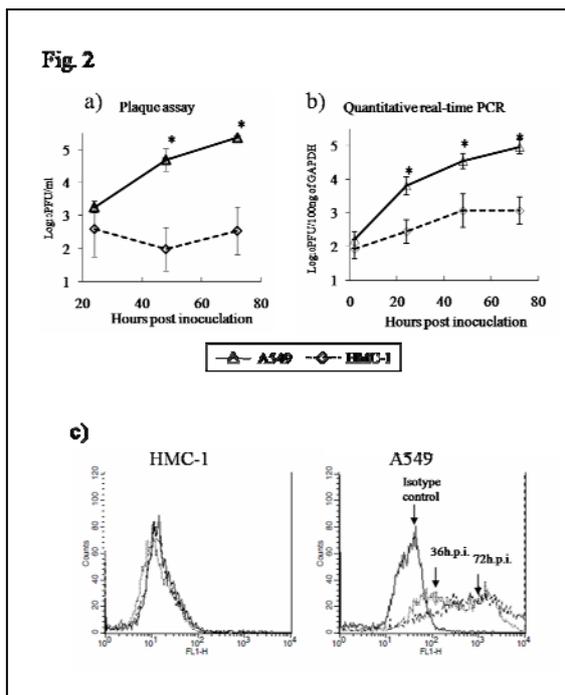
HMC-1 は CX₃CR1 を恒常的に発現しており、呼吸器上皮細胞の A549 と比較して 40 倍以上の mRNA を発現していた(Fig.1)。しかし HMC-1 への RSV の吸着性は $1.93 \pm 0.28(\log_{10}\text{PFU}/100\text{ng of GAPDH})$ であり、A549 の 2.20 ± 0.24 と同程度であった。RSV 接種 72 時間後の A549 培養上清では 1×10^5 PFU/ml 以上のウイルス力価が検出されたが、HMC-1 では検出されず、細胞内の RSV 蛋白もフローサイトメトリーにより検出できなかった(Fig.2)。RSV 感染による HMC-1 細胞の脱顆粒は、HMC-1 に RSV を直接接種した場合は認められなかったが(Fig.3)、RSV 感染 A549 細胞と HMC-1 を共培養したところ、RSV 感染後 3、4 日目に、HMC-1 の有意な脱顆粒が

見られた(Fig.4)。しかしながら、RSV 感染後の A549 培養上清中には HMC-1 の脱顆粒を促進する効果はなかった(Fig.5)。さらに、RSV 感染 A549 細胞と HMC-1 の共培養においてのみ、TNF α 発現の有意上昇が見られた(Fig.6)。

本研究から、CX₃CR1 は RSV の吸着性に影響を与えないこと、および HMC-1 細胞は RSV の複製に関するなんらかの因子を欠くことが示唆された。さらに、RSV 感染 A549 細胞と HMC-1 の共培養においてのみ脱顆粒が見られたことより、RSV 感染における肥満細胞の脱顆粒には RSV 感染細胞との直接作用が重要であり、RSV 感染 A549 細胞において発現しているなんらかの膜型分子やサイトカインの paracrine が関与している可能性が示唆された。

Fig. 1





5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Kazuya Shirato*, and Fumihiro Taguchi. (2009). Mast cell degranulation is induced by A549 airway epithelial cell infected with respiratory syncytial virus. *Virology*. 386:88-93

[学会発表] (計 1 件)

「Respiratory syncytial virus (RSV) 感染における肥満細胞の役割」
白戸憲也、田口文広
第 56 回日本ウイルス学会学術集会 2008 年 10 月 26-28 日 (岡山)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白戸憲也

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者