

平成 29 年 6 月 17 日現在

機関番号：82609

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860776

研究課題名(和文) インフルエンザウイルス感染におけるHIF-1aの役割；ARDS治療に向けて

研究課題名(英文) The role of HIF-1a in the influenza infection

研究代表者

池尻 藍 (IKEJIRI, Ai)

公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・研究員

研究者番号：30528295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)感染は重症化すると、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)を発症する。ウイルスの中和には抗体が必要であるため、抗体産生において重要な抗原提示細胞の一つである樹状細胞に着目した。H5N1感染ではT細胞と結合する樹状細胞が減少し、抗体産生が低下していた。更にH5N1感染を効果的に防御するワクチニアウイルスをベースとしたワクチンを接種したところ、T細胞と結合する樹状細胞の数が増加したことから、H5N1感染によるARDS発症には樹状細胞数低下による液性免疫応答の低下が原因であることを証明した。

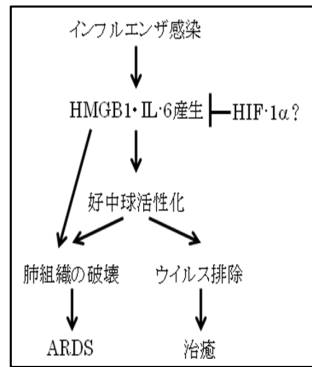
研究成果の概要(英文)：H5N1 high pathogenic avian influenza causes elevated mortality and acute respiratory distress syndrome (ARDS). I focused on the antigen presenting cell, dendritic cells, which have an important roll of the production of antibody against virus. In H5N1 infection, the number of dendritic cells interacted with T cells was decreased and impaired the production of antibody. Furthermore, H5N1 vaccine based on Vaccinia virus protected effectively against H5N1 infection due to the increase of the number of dendritic cells interacted with T cells and the induction of antibody. I identified the mechanism of associated with the severe symptoms seen with H5N1 infection.

研究分野：感染免疫

キーワード：Influenza HIF-1a Dendritic cells

1. 研究開始当初の背景

インフルエンザウイルスに感染すると、様々なサイトカインやケモカインが産生され、免疫応答を惹起し、ウイルスの排除を行う。しかし一部のインフルエンザウイルス感染では、発症後一週間程度で急激な急性呼吸窮迫症候群 (acute respiratory distress syndrome ; ARDS) に陥り死に至るケースが報告されている。ウイルス感染による ARDS は、マクロファージや上皮細胞等から IL-6 に代表される炎症性サイトカインが過剰に放出され (サイトカインストーム)、多量の好中球が肺に集積し、ガス交換障害や肺が直接損傷を受けるために発症する。



これまで適切な免疫応答が惹起されウイルスの排除を行うのか、もしくはサイトカインストームが生じ重症化に転じるのかは、ウイルス株の違いにより方向づけられていると考えられてきた。しかし同一のウイルスに感染しても人によって病状が異なることから、宿主側因子も大きく関与していることが想像できるため、宿主因子を明らかにすることとした。

2. 研究の目的

インフルエンザウイルス感染により発症する ARDS は急速に進行し高い死亡率を呈するが、現在の治療法ではコントロールが困難であるため、臨床現場において問題となっている。低酸素やウイルス感染により発現する転写因子である低酸素誘導因子 (hypoxia-inducible factor 1 ; HIF-1) を、樹状細胞及びマクロファージ特異的に欠損させたマウス (HIF-1 conditional knockout ; HIF-1 CKO) を作製し、インフルエンザウイルスを感染させると、ARDS 様症状を呈したため、この動物モデルや、実際にマウス及びカニクイザルに高い病原性を示すインフルエンザウイルスである高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) を感染させたモデルを用いて、宿主側因子を明らかにすることで、効果的な治療法の開発に繋げることとした。

3. 研究の方法

(1) HIF-1 CKO マウスでの ARDS 発症と IL-6 産生増加、好中球浸潤の因果関係を骨髓由来樹状細胞を用いて解析した。

(2) マウス及びサルに高い病原性を示す高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) を

感染させた際の、抗体産生を ELISA で解析した。

(3) 脾臓における H5N1 感染時の抗体産生に関与する B 細胞濾胞領域の構造を免疫染色で解析した。

(4) 脾臓における H5N1 感染時の樹状細胞と T 細胞の interaction を高解像度顕微鏡を用いて免疫染色で解析した。

(5) 脾臓及び肺における H5N1 感染時の樹状細胞の数を flow cytometry 法で解析した。

(6) H5N1 感染を効果的に防御できる、ワクチニアウイルスをベースに作製したワクチンを投与した際の、抗体産生及び樹状細胞と T 細胞の動態を解析した。

4. 研究成果

HIF-1 CKO マウスの骨髓由来樹状細胞では、インフルエンザウイルス感染により、好中球浸潤に関与する IL-6 産生が増加し、感染マウスの肺への好中球浸潤が亢進していたことから、HIF-1 は樹状細胞において IL-6 産生抑制的に働いていることが示唆された (図 1)。

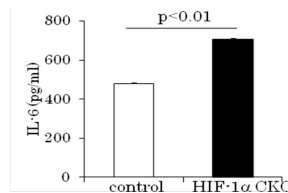


図 1  
インフルエンザウイルス感染 BMDCs 24 時間後の培養上清中 IL-6 量は、control (白) と比較して HIF-1 CKO (黒) で上昇していた

より強い病原性を示すモデルである H5N1 感染において、マウス及びサルで低病原性を示す H1N1 と比較して、低い中和抗体価の産生が観察された (図 2)。

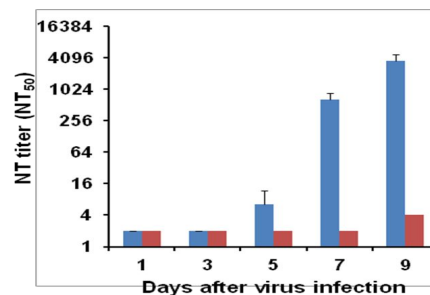


図 2  
H1N1 感染により誘導される中和抗体価 (青) と比較し、H5N1 感染において誘導される中和抗体価 (赤) は有意に低下していた。

そこで抗体産生を行う B 細胞の局在についてマウス及びサルで比較したところ、脾臓において H5N1 感染では、胚中心を取り囲む B 細胞濾胞領域が不明瞭であることから、B 細胞が十分に活性化されていないことを発見した。

抗体産生に關与する樹状細胞と T 細胞の動態を免疫組織染色及び Flow cytometry 法で解析したところ、H5N1 感染では、脾臓において T 細胞と結合する樹状細胞の数が減少していた(図 3)。また高解像度顕微鏡を用いて樹状細胞と T 細胞の結合を観察したところ、H1N1 感染では複雑な結合が観察されたが、H5N1 感染では結合自体が単純かつ緩くなっていることを新たに発見した。

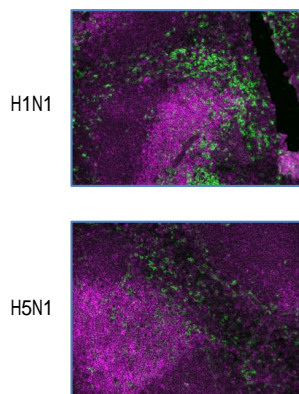


図 3  
H5N1 感染 5 日目では、脾臓において T 細胞(紫)と結合する樹状細胞(緑)の数が減少していた。

また、感染局所である肺における樹状細胞の数を H1N1 又は H5N1 感染で比較したところ、H5N1 感染で樹状細胞の数が有意に低下していた。

この樹状細胞数の減少と、結合の低下は、H5N1 ワクチンを投与することにより復活し、抗体産生も有意に上昇していた。

以上のことから、ARDS を発症する様な強い病原性を有する H5N1 感染では、樹状細胞と T 細胞の細胞間結合が緩いために抗原提示を行う樹状細胞が減少することで B 細胞が活性化されず、B 細胞濾胞の形成不全が生じ、抗体が産生されないことが明らかとなった。また H5N1 ワクチンを用いることで、抗原提示を行う樹状細胞の数が増加し、B 細胞が活性化され抗体産生が誘導されることを発見し、論文にまとめた。

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)  
*Scientific Reports*. 6, 37915, (2016), DOI 10.1038/srep37915, 査読有  
Yasui F, Itoh Y, Ikejiri A, Kitabatake M, Sakaguchi N, Munetaka K, Shichinohe S, Hayashi Y, Ishigaki H, Nakayama M, Sakoda Y, Kida H, Ogasawara K, Kohara M  
「Sensitization with vaccinia virus encoding H5N1 hemagglutinin restores immune potential against H5N1 influenza virus.」

[学会発表](計 5 件)  
Ikejiri A, Highly pathogenic avian influenza A H5N1 virus causes severe symptoms due to insufficient induction of humoral immune response. 第 43 回日本免疫学会学術集会, 国立京都国際会館, (京都府, 京都市)

Ikejiri A, Highly pathogenic avian influenza A H5N1 virus causes severe symptoms due to insufficient interaction of dendritic cells with T cells. 第 44 回日本免疫学会学術集会, 札幌コンベンションセンター, (北海道, 札幌市)

Ikejiri Ai, Highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) causes severe symptoms due to insufficient induction of humoral immune response. European Congress of Immunology Vienna 2015, (ウィーン, オーストリア)

Ikejiri Ai, Highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) causes severe symptoms due to insufficient induction of humoral immune response. International Conference of Influenza 2015, (ロンドン, イギリス)

Ikejiri Ai, Highly pathogenic avian influenza virus causes severe symptoms due to insufficient contact between DCs and T cells. International Congress of Immunology, (メルボルン, オーストラリア)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.igakuken.or.jp/project/detail/infectious.html>

6．研究組織

(1)研究代表者

池尻 藍(IKEJIRI, Ai)

公益財団法人東京都医学総合研究所

ゲノム医科学研究分野・研究員

研究者番号：30528295

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし