

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670465

研究課題名(和文) H5N1高病原性鳥インフルエンザなどによる重症肺障害の治療薬の開発

研究課題名(英文) Study of the therapeutic agent for the treatment of highly pathogenic influenza

研究代表者

森島 恒雄 (Morishima, Tsuneo)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・特命教授

研究者番号：90157892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：高病原性インフルエンザに対する治療薬の検討を行った。AH5N1やAH7N9は、いずれも従来の抗インフルエンザ薬の効果は低い。今までの病態解析から、抗炎症・抗サイトカイン・抗酸化ストレス効果を示す薬剤について検討した。

その結果、チオレドキシン(抗酸化薬)と抗HMGB-1モノクローナル抗体(抗サイトカイン)が著明にマウスのインフルエンザ肺炎による致命率を改善した。これらは、ウイルスの増殖は抑制せず、好中球の肺浸潤・炎症性サイトカインの産生・酸化ストレスによる肺障害などを抑制した。現在、ヒトでの臨床応用に向け検討中。

以上の結果は、高病原性インフルエンザ治療薬開発に向けた重要な成果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：The discovery of a novel anti-influenza therapeutic approach would increase the effectiveness of traditional virus-based strategies. This study was undertaken to evaluate the therapeutic effects of anti-high mobility group box-1 (HMGB1) monoclonal antibody (mAb) treatment for influenza A virus (H1N1)-induced pneumonia in mice. Anti-HMGB1 mAb significantly improved the survival rate of H1N1-inoculated mice. The treatment also significantly attenuated histological changes and neutrophil infiltration in the lung of H1N1-inoculated mice; which was associated with inhibition of HMGB1 and suppression of inflammatory cytokine/chemokine expression and oxidative stress enhancement, which were observed in H1N1-inoculated mice. Anti-HMGB1 mAb may provide a novel and effective pharmacological strategy for severe influenza virus infection in humans by reducing the inflammatory responses induced by HMGB1.

研究分野：小児医科学、感染症学

キーワード：インフルエンザ 肺炎 HMGB-1 チオレドキシン H5N1 脳症 AH7N9

1. 研究開始当初の背景

AH5N1 は当初、中国における高病原性鳥インフルエンザからヒトに感染し、高い致死率を有していた。現在、北アフリカまで感染は拡大し、依然としてヒトでの高い致死率を示している。AH7N9 は、中国において3年前に出現し、ARDS などヒトに高い病原性を示し、致死率は20~30%を維持している。いずれも、ノイラミニダーゼ阻害薬など従来の抗インフルエンザウイルス薬が効果が低いとされ、「新型インフルエンザ」として日本国内に侵入した時、国内で大きな健康被害が発生することが予測される。また、2009年パンデミックを起こしたAH1N1pdmウイルスは、一部薬剤耐性を示す株が検出されており、今後の動向が注目されている。

2. 研究の目的

以上の背景のもと、重症インフルエンザの治療法の確立は喫緊の課題である。特に、ARDSを含む重症肺炎とインフルエンザ脳症の病態解析とそれに基づく治療法の確立は重要で、新たな治療薬の開発を含めて、本研究の目的と設定した。

3. 研究の方法

病態解析として、重症インフルエンザ(インフルエンザ肺炎・脳症)の急性期遺伝子発現をDNAマイクロアレイ法を用いて、解析した。また新規治療薬として、抗酸化薬であるチオレドキシシンと抗サイトカイン効果を有する抗HMGB-1モノクローナル抗体について、マウスの致死性インフルエンザ肺炎における効果を検討した。

4. 研究結果

(1)重症インフルエンザにおける宿主遺伝子発現の検討：

AH1N1pdmにおける肺炎及び中枢神経障害児における遺伝子発現の違いを急性期DNAマイクロアレイによる解析から検討した。

図1.

関連が強く示唆された遺伝子群 (新型インフルエンザ)

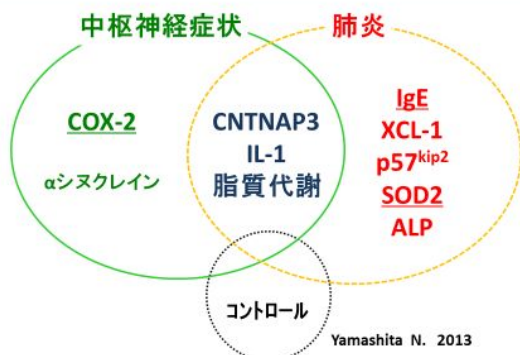


図1. に示した様に、神経障害と肺障害の2つの病態ではそれぞれ異なる遺伝子発現が認められた。特に、肺炎においてはIgE関連遺伝子と酸化ストレスマーカー関連遺伝子の発現が増強しており、実際に2009年パンデミックにおいて小児で気管支喘息を基礎疾患として有する児で重篤な肺炎を呈し、高いIgE値を示していたことと一致する。

一方、本研究において、神経障害(痙攣重積)を示す小児において、ロタウイルス胃腸炎とインフルエンザにおける痙攣重積の両者における遺伝子発現をDNAマイクロアレイ法により解析したところ、興味深いことに、同じ感染に伴う痙攣重積の病態においても、インフルエンザとロタウイルス胃腸炎による痙攣重積においては、急性期の遺伝子発現が異なるプロファイルを示すことが明らかになった。これはインフルエンザ脳症以外の急性脳症において、現在広く用いられている「インフルエンザ脳症ガイドライン」がインフルエンザ以外の病因による急性脳症に有用かどうか今後さらに検証を続けていくことの必要性を示している。

(2)チオレドキシシンのマウスインフルエンザ肺炎における治療効果：

表2. にチオレドキシシンの概要を示した。チオレドキシシンは、抗酸化薬として現在一般の普及が始まろうとしている。

表2.

生体作用

i) 抗酸化作用

活性酸素種(ROS)を除去することで、酸化ストレスから細胞を保護する。

ii) 抗炎症作用

好中球の活性を制御することで炎症を抑制する。

チオレドキシシンのマウスのインフルエンザ肺炎における治療効果の概要は以下のとおりである。1. マウスインフルエンザ肺炎の死亡率を有意に軽減した。2. 肺局所における好中球の浸潤を抑制し、また病理学的に肺障害を軽減した。3. チオレドキシシンは、炎症性サイトカイン/ケモカインの上昇を抑え、4. 酸化ストレス関連遺伝子発現を抑制した。5. これらの効果はインフルエンザウイルスの増殖を抑えることなく得られたものであった。

(3)抗 HMGB-1 モノクローナル抗体のマウスインフルエンザ肺炎における治療効果:

図 2.

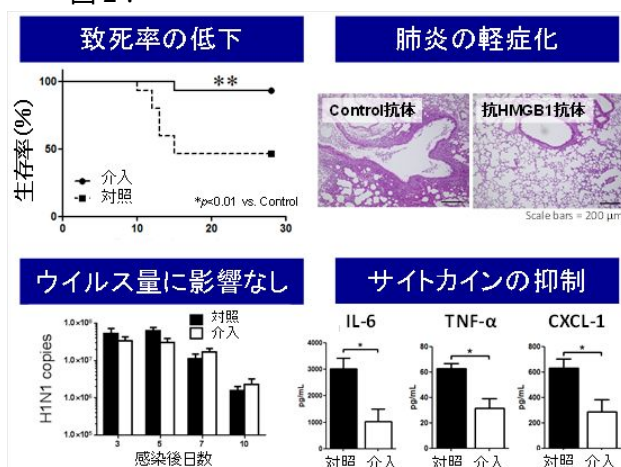


図 2. に抗 HMGB-1 マウスモノクローナル抗体のマウスインフルエンザ肺炎における治療効果を示した。HMGB-1 は、細胞外では炎症性メディエーターとして、サイトカイン/ケモカインの産生に関与し、局所及び全身の炎症反応を促進する。この HMGB-1 に対するモノクローナル抗体をマウスインフルエンザ肺炎の治療薬として用いたところ、死亡率を有意に改善し、局所のサイトカイン産生を抑制した。

考察とまとめ

現在、AH5N1 及び AH7N9 は中国およびアフリカなどで小流行を繰り返している。幸い日本国内への侵入は認められていないが、国内侵入時には、大きな脅威となる。特に、これらの亜型では、抗インフルエンザウイルス薬の効果が低いことが予測され、重症化した際に出現するサイトカインストームや酸化ストレスによる障害に対応する薬剤の出現が待たれていた。

この両剤は、今後重症インフルエンザで抗インフルエンザウイルス薬の効果が低い場合に、非常に有用となる可能性がある。今後、さらに臨床応用に向け追加実験など繰り返していく必要がある。

なお、本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金「重症インフルエンザによる肺炎・脳症の病態解析・診断・治療に関する研究」とも関連して実施された。

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 3 件)

1. Ishida Y, Kawashima H, Morichi S, Yamanaka G, Okumura A, Nakagawa S, Morishima T. Brain magnetic resonance imaging in acute phase of pandemic influenza A (H1N1) 2009-associated

encephalopathy in children. *Neuropediatrics* 46(1) 20-5. 2015

2. Tsuge M, Oka T, Yamashita N, Morishima T et al.

Gene expression analysis in children with complex seizures due to influenza A(H1N1)pdm09 or rotavirus gastroenteritis. *J Neurovirol* 20 73-84 2014

3. Hasegawa S, Wakiguchi H, Okada S, Gui Kang Y, Fujii N, Hasegawa M, Hasegawa H, Aina A, Atsuta R, Shirabe K, Toda S, Wakabayashi-Takahara M, Morishima T, Ichiyama T. Cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during seasonal H1N1 infection. *Cytokine* 69(2) 206-10 2014

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 藤井洋輔 急性脳症における COX2 の DNA メチル化の関与 第 62 回日本ウイルス学会 学術集会 神奈川 2014 年(11 月 11 日)

2. 津下充 痙攣重積を示したインフルエンザ A (H1N1) pdm09 及び口タウイルス胃腸炎の宿主遺伝子発現の解析 第 46 回日本小児感染症学会 東京 2014 年(10 月 19 日)

〔図書〕(計 1 件)

1. Yashiro M, Tsukahara H, Morishima T. Thioredoxin therapy: Challenges in translational research. In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K. Springer, Berlin, Germany, 2014; 233-252.

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: インフルエンザ治療薬としての抗 HMGB-1 抗体

発明者: 西堀正洋

権利者: 西堀正洋、森島恒雄 他

番号: 特願 2014-265514

出願年月日: 2014 年 12 月 26 日

国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森島 恒雄 (MORISHIMA, Tsuneo)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科小児医学・特命教授

研究者番号：90157892

(2)研究分担者

なし

(3)研究協力者

1. 藤井 洋輔(FUJI, Yousuke)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科小児急

性疾患学講座・助教

研究者番号：80549775

2. 津下 充(TSUGE, Mitsuru)

松山赤十字病院・小児科

研究者番号：80625004