

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17469

研究課題名（和文）インフルエンザウイルス感染重症化におけるヒストン修飾酵素SETDB2の機能解明

研究課題名（英文）Functional elucidation of the histone modification enzyme SETDB2 in severe influenza virus infection

研究代表者

今北 菜津子（Imakita, Natsuko）

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：50865566

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：インフルエンザウイルス感染症患者において合併症のない群と、脳症あるいは肺炎を生じた群における血清SETDB2を比較検討したところ、脳症や肺炎を生じた群において血清SETDB2が有意に上昇していた。また、インフルエンザ脳症およびインフルエンザ肺炎の剖検例の組織検体にてSETDB2の発現がみとめられた。これらの結果から、ヒトにおいてインフルエンザウイルス感染症の重症化に、SETDB2が関与していることが示唆された。その一方で、新型インフルエンザウイルス感染症患者の血清においても重症例ほどSETDB2が上昇している傾向があり、ウイルス感染症に共通した重症化影響因子となっている可能性も考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インフルエンザ脳症はインフルエンザウイルス感染症の重篤な合併症であり、致死率・後遺症残存率が未だ高いため、特異的な治療法の開発が望まれている。我々はインフルエンザ脳症マウスモデルを確立し、ヒストン修飾酵素の一つであるSET domain, bifurcated 2 (SETDB2)が重症化に関与していることを明らかにしてきた。今回、SETDB2の重症化予測マーカーとしての有用性に加え、重症化病態における役割について検討したところ、インフルエンザウイルス感染症においてSETDB2が重症化に関与しているとの結果であり、重症化予測マーカーとしてだけでなく新規薬剤の標的ともなりうる事が期待できる。

研究成果の概要（英文）：A comparison of serum SETDB2 in patients with influenza virus infection in the uncomplicated group and the group with encephalopathy or pneumonia showed that serum SETDB2 was significantly elevated in the group with encephalopathy or pneumonia. In addition, SETDB2 expression was found in tissue samples from autopsy cases of influenza encephalopathy and influenza pneumonia. These results suggest that SETDB2 is involved in the severity of influenza virus infection in humans. On the other hand, SETDB2 levels in sera from patients with novel influenza virus infection also tended to be elevated in more severe cases, suggesting that SETDB2 may be a common factor influencing the severity of viral infections.

研究分野：感染症

キーワード：インフルエンザウイルス 脳症 ヒストン修飾酵素 SETDB2

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

インフルエンザウイルスは毎年 1000 万人の感染者数をだし、社会活動に大きな影響を与えている。一般的に致死率は低い、特に重篤な合併症であるインフルエンザ肺炎やインフルエンザ脳症では致死率が非常に高くなる。特に、インフルエンザ脳症は東アジアで比較的発症率が高く、日本では年間 100 ~ 200 例が発症する。インフルエンザ脳症は、インフルエンザウイルス感染中に発症する意識障害を主とする症候群と定義されており、主な初発神経症状は、意識障害、けいれん、異常行動や異常言動である。その半数は 10 歳未満の小児であり、近年インフルエンザ脳症ガイドラインの作成により、適切な治療なしでは約 30%と高かった死亡率は約 10%程度までに低下したが、重篤な後遺症の残存率が未だ 20%以上と高値である。その理由として、インフルエンザ脳症に対する治療は依然として対症療法に留まっていることが大きな要因と考えられ、より特異的な治療法の開発が望まれている。

一方、近年、エピジェネティクスは、さまざまな生命機能を調節していることから、多種の疾患の発症に関与していると報告されており、創薬ターゲットとしての可能性も非常に高まってきた (Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 303: L557, 2012)。感染症領域においても、特に敗血症をはじめとした重症感染症を中心にその関与が示唆されている (Eur. J. Immunol. 40, 998, 2010, Adv. Protein. Chem. Struct. Biol. 106, 191, 2017)。申請者はこれまでにインフルエンザ脳症モデルマウスを確立し、インフルエンザ脳症の発症メカニズムとして、エピジェネティクスの関与を追求してきた。そこでインフルエンザ脳症マウスモデルの脳におけるエピジェネティクス関連因子をマイクロアレイ法により網羅的に解析した。有意な上昇を認められた唯一の因子として、SET domain, bifurcated 2 (SETDB2)を見出した (Sci Rep. 9; 284, 2019)。SETDB2 はヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) をメチル化するヒストン修飾酵素で、標的遺伝子の発現抑制に働く。SETDB2 はインフルエンザ脳症マウスモデルだけに限らず、インフルエンザ肺炎マウスモデルでもその上昇が指摘されている (PLoS Pathog. 11:e1005338, 2015)。

さらに申請者らは、インフルエンザ感染症患者での検討においても、肺炎や脳症を合併した重症例では、合併症のない例と比較して、血清 SETDB2 値の有意に上昇することを明らかにした。インフルエンザ脳症ならびに肺炎患者例のいずれも血清 SETDB2 値が上昇していることから、マウスだけではなくヒトにおいても SETDB2 がインフルエンザウイルス感染症の重症化への関与していることが強く示唆された。インフルエンザウイルス含めたウイルス感染症の重症化における SETDB2 の役割とその分子メカニズムについて明らかにすることが、重症化の予測や新規予防法・治療法の開発に発展に繋がるのではないかとこの着想に至ったことが期待できる。

### 2. 研究の目的

- 1) SETDB2 のインフルエンザウイルス感染症の重症化予測マーカーとしての有用性を検証する
- 2) 組織における SETDB2 の発現を担う細胞を同定する
- 3) インフルエンザウイルス感染症の重症化病態における SETDB2 の役割を検証する
- 4) 呼吸器感染症における SETDB2 と重症化の関連を探る

### 3. 研究の方法

1) 小児のインフルエンザウイルス罹患患者において、重症化がみられなかった群、脳症を呈した群、肺炎を呈した群の各々の血清 SETDB2 濃度を ELISA にて測定した。また、成人の基礎疾患のないインフルエンザウイルス感染者、基礎疾患を有するインフルエンザウイルス感染者、インフルエンザ肺炎患者における血清 SETDB2 濃度を ELISA にて測定し、比較検討した。

2) インフルエンザ脳症ならびに肺炎の剖検例の組織検体を確保し、SETDB2 を発現する細胞の有無につき評価を行う。また、同様に脳症マウスモデルおよび肺炎マウスモデルから採取した組織検体を用いて SETDB2 産生細胞につき免疫組織化学染色や in situ hybridization にて評価を行った。

3) インフルエンザ脳症ならびに肺炎モデルにて、マクロファージ特異的に SETDB2 が欠損した *Setdb2<sup>fllox</sup>-LysM-Cre* マウス、血管内皮細胞特異的に SETDB2 が欠損した *Setdb2<sup>fllox</sup>-Tie2-Cre* マウス、と Cre-コントロールマウスを比較して病態解析を行った。具体的には病理組織・肺炎炎症細胞分画・各種標的遺伝子発現・サイトカイン産生量である。

4) 新型コロナウイルス感染症の流行に伴い、2020 年 ~ 2022 年にかけてインフルエンザウイルス感染症の患者は少なくなっていたため、インフルエンザウイルス罹患患者の血清回収が進まなかった。そこで、インフルエンザウイルス同様、呼吸器感染を生じる新型コロナウイルス感染症を罹患した患者の血清を収集し、新型コロナウイルス感染症罹患患者の血清を用いて重症化における SETDB2 の有用性につき、軽症例、中等症例、重症例の血清 SETDB2 濃度を MYBiosource 社の Human SETSB2 ELISA kit を用いて ELISA 法にて測定し、比較検討した。また、既報告から重

症化との関連が示唆されているインターロイキン 6(IL-6)値について Invitrogen 社 Human IL-6 ELISA Kit を用いて測定した。

#### 4. 研究成果

1)小児のインフルエンザウイルス罹患患者血清において、重症化なしの群と比較して、脳症を呈した群および肺炎を呈した群では有意に SETDB2 の濃度上昇を認めており、血清 SETDB2 濃度と重症化との関連が示唆される結果であった。成人においてはインフルエンザウイルス非感染群と基礎疾患のないインフルエンザウイルス感染群、基礎疾患のあるインフルエンザウイルス感染群において血清 SETDB2 濃度に有意差はなかったが、インフルエンザ肺炎を呈した群においては検体数が少なかったため有意差はなかったものの、血清 SETDB2 濃度が高い傾向がみられた。以上より、小児においても成人においても SETDB2 はインフルエンザウイルス感染症の重症化マーカーとなりうる可能性が示唆された。

2)インフルエンザ脳症の剖検例の脳組織において in situ hybridization にて深部白質の血管内皮を疑う形態の細胞にて SETDB2 の発現を認めた。また、インフルエンザ脳症モデルマウスの脳組織においても in situ hybridization にて深部白質に SETDB2 の発現を認める細胞を認めた。一方、インフルエンザ肺炎の剖検例の肺組織においては、免疫組織化学染色にて血管内皮細胞で SETDB2 の発現を認め、インフルエンザ肺炎モデルマウスにおいても同様の結果であった。以上より、血管内皮細胞で SETDB2 は発現上昇し、機能を発揮することが示唆された。

3)Setdb2<sup>flox</sup>-LysM-Cre マウス、Setdb2<sup>flox</sup>-Tie2-Cre マウスを用いてインフルエンザ脳症モデルを作製し、コントロールマウスと比較して脳症の発症のしやすさ、炎症性サイトカインの発現量などを比較検討したが、有意差はみられなかった。ミクログリアや血管内皮細胞にそれぞれ SETDB2 を発現するものの、いずれも発現量は少なく、各々の寄与度について比較をするためには細胞単位に分離しての比較検討が必要と考えられた。

4) 新型コロナウイルス感染症患者で血清を取得できた例のうち、軽症（酸素投与不要）8 例、中等症（酸素投与を要するが、HFNC や人工呼吸器などは不要）5 例、重症（HFNC や人工呼吸器を要する）5 例、それぞれの患者血清を用いて SETDB2 量を測定した。いずれも入院時に採血した際の残血清を用いており、軽症群・中等症群・重症群の 3 群間で明らかな有意差は見られなかったものの、重症例で高い傾向がみられた。そこで、既報告から重症化との関連が示唆されているインターロイキン 6(IL-6)値について検索した。軽症 18 例、中等症 4 例、重症例 5 例のいずれも入院時の血清で検索したところ、3 群間で明らかな有意差はなく、中等症、重症は入院中に増悪した症例を選択して時系列(入院時、増悪時(酸素需要発生時)、重症では人工呼吸器導入日と回復期も追加)で検討し、IL-6 値の動きに有意な傾向はみられなかった。今回、入院時の SETDB2 および入院時の IL-6 と重症化との有意な関連はみられなかった。今回の検討で用いた症例は、特に中等症・重症においては入院中に増悪し、時系列で検討可能な症例を選択するために症例数が限られていたことから流行期を統一できなかったことが影響している可能性がある。IL-6 においては流行期で分けるとそれぞれは同じ傾向を示していたことからウイルス株によって誘導しやすいサイトカインや誘導されるタイミングが異なる可能性があり、臨床的にも肺炎を生じてくるタイミングもウイルス株によって異なっていることも、この考えを支持しえる。以上から、重症度とサイトカインの相関をみるには同流行期内症例で、時系列で、症例数を増やして比較する必要があり、今後の検討課題である。

本研究ではインフルエンザウイルス感染症において SETDB2 は重症化の予測マーカーとなりうることを示唆された。一方、それに最も寄与する細胞の同定および分子メカニズムについても解析を行ったが特定には重要な標的分子や標的細胞の特定には至らず、さらなる検討が必要である。また、研究期間中に甚大なる流行を生じた新型コロナウイルス感染症においてもインフルエンザウイルス同様に SETDB2 の関与の可能性もありえる結果である一方、インフルエンザウイルス感染症と SARS-CoV-2 感染症では SETDB2 上昇の機序が異なる可能性が示唆され、今後、COVID-19 における SETDB2 発現上昇の機序、および SETDB2 が抑制している標的遺伝子の探索も検討したい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Nishihara Yuji, Hirai Nobuyasu, Sekine Takahiro, Okuda Nao, Nishimura Tomoko, Fujikura Hiroyuki, Furukawa Ryutaro, Imakita Natsuko, Fukumori Tatsuya, Ogawa Taku, Suzuki Yuki, Nakano Ryuichi, Nakano Akiyo, Yano Hisakazu, Kasahara Kei	4. 巻 32
2. 論文標題 Chorioamnionitis and early pregnancy loss caused by ampicillin-resistant non-typeable Haemophilus influenzae	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 IDCases	6. 最初と最後の頁 e01751 ~ e01751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.idcr.2023.e01751	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 -

1. 著者名 Fujikura Hiroyuki, Imakita Natsuko, Ogawa Taku, Kasahara Kei	4. 巻 50
2. 論文標題 Graft-duodenal fistula as a cause of recurrent bacteremia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Infection	6. 最初と最後の頁 1635 ~ 1636
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s15010-022-01920-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirai Nobuyasu, Nishioka Yuichi, Sekine Takahiro, Nishihara Yuji, Okuda Nao, Nishimura Tomoko, Fujikura Hiroyuki, Imakita Natsuko, Fukumori Tatsuya, Ogawa Taku, Hishiyama Naokuni, Suzuki Yuki, Nakano Ryuichi, Yano Hisakazu, Sato Masatoshi, Maeda Koichi, Imamura Tomoaki, Kasahara Kei	4. 巻 27
2. 論文標題 Factors associated with viral clearance periods from patients with COVID-19: A retrospective observational cohort study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 864 ~ 868
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2021.02.015	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 -

1. 著者名 Ogawa Taku, Fukumori Tatsuya, Nishihara Yuji, Sekine Takahiro, Okuda Nao, Nishimura Tomoko, Fujikura Hiroyuki, Hirai Nobuyasu, Imakita Natsuko, Kasahara Kei	4. 巻 131
2. 論文標題 Another false-positive problem for a SARS-CoV-2 antigen test in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Virology	6. 最初と最後の頁 104612 ~ 104612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcv.2020.104612	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 -

1. 著者名 Terada-Ikeda Chiyoko, Kitabatake Masahiro, Hiraku Akari, Kato Kumiko, Yasui Satsuki, Imakita Natsuko, Uji-Sageshima Noriko, Iwabuchi Noriyuki, Hamada Kaoru, Ito Toshihiro	4. 巻 15
2. 論文標題 Maternal supplementation with Bifidobacterium breve M-16V prevents their offspring from allergic airway inflammation accelerated by the prenatal exposure to an air pollutant aerosol	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0238923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0238923	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 -

1. 著者名 Sonobe Shota, Kitabatake Masahiro, Hara Atsushi, Konda Makiko, Uji-Sageshima Noriko, Terada-Ikeda Chiyoko, Furukawa Ryutaro, Imakita Natsuko, Oda Akihisa, Takeda Maiko, Takamura Shiki, Inoue Satoki, Kunkel Steven L., Kawaguchi Masahiko, Ito Toshihiro	4. 巻 60
2. 論文標題 THE CRITICAL ROLE OF THE HISTONE MODIFICATION ENZYME SETDB2 IN THE PATHOGENESIS OF ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Shock	6. 最初と最後の頁 137 ~ 145
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SHK.0000000000002145	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 -

1. 著者名 Yamamoto Kei, Asai Yusuke, Nakagawa Hidenori, Nakatani Issaku, Hayashi Kenichi, Imakita Natsuko, Ohmagari Norio	4. 巻 29
2. 論文標題 Characteristics of preventive intervention acceptance for international travel among clients aged 60?years and older from a Japanese multicenter pretravel consultation registry	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 1137 ~ 1144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2023.08.013	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 -

1. 著者名 Maruki Taketomo, Yamamoto Kei, Yamato Masaya, Sahara Toshinori, Shirano Michinori, Sakamoto Naoya, Hase Ryota, Shinohara Koh, Yoshimura Yukihiko, Imakita Natsuko, Kodama Fumihiro, Yamamoto Yoshihiro, Yokota Kyoko, Yoshimi Yusuke, Hasegawa Chihiro, Kutsuna Satoshi, Ohmagari Norio	4. 巻 5
2. 論文標題 Epidemiological trends of traveler's diarrhea in Japan: An analysis of imported infectious disease registry data from 2017?2022	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Global Health & Medicine	6. 最初と最後の頁 372 ~ 376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35772/ghm.2023.01079	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 -

1. 著者名 Ito Wataru, Fukumori Tatsuya, Asaoka Nao, Imakita Natsuko, Nishimura Tomoko, Furukawa Ryutarō, Nishihara Yuji, Fujikura Hiroyuki, Sekine Takahiro, Yamaguchi Naoki, Hirata Yuichiro, Miyamoto Sho, Kanno Takayuki, Katano Harutaka, Suzuki Tadaki, Kasahara Kei	4. 巻 30
2. 論文標題 Acute acalculous cholecystitis following extended administration of nirmatrelvir/ritonavir for persistent SARS-CoV-2 infection	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 659 ~ 663
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2023.12.014	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 -

1. 著者名 Ogawa Taku, Hirai Nobuyasu, Fujikura Hiroyuki, Imakita Natsuko, Kasahara Kei	4. 巻 16
2. 論文標題 Financial Burden as a Potential Barrier to Vaccine Completion in Post-hematopoietic Stem Cell Transplant Patients in Japan	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cureus	6. 最初と最後の頁 e56842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7759/cureus.56842	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 -

1. 著者名 Kitabatake Masahiro, Ouji-Sageshima Noriko, Sonobe Shota, Furukawa Ryutarō, Konda Makiko, Hara Atsushi, Aoki Hiroyasu, Suzuki Yuki, Imakita Natsuko, Nakano Akiyo, Fujita Yukio, Shichino Shigeyuki, Nakano Ryuichi, Ueha Satoshi, Kasahara Kei, Muro Shigeo, Yano Hisakazu, Matsushima Kouji, Ito Toshihiro	4. 巻 76
2. 論文標題 Transition of Antibody Titers after SARS-CoV-2 mRNA Vaccination in Japanese Healthcare Workers	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 72 ~ 76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2022.041	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 -

1. 著者名 Ogawa Taku, Hirai Nobuyasu, Imakita Natsuko, Fujikura Hiroyuki, Kajita Akihiro, Imai Yuichiro, Onishi Tomoko, Takeyama Masahiro, Kasahara Kei	4. 巻 16
2. 論文標題 Travelers' vaccines and their adverse events in Nara, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Open Medicine	6. 最初と最後の頁 978 ~ 985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/med-2021-0303	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 -

1. 著者名 Nishioka Hitomi, Onishi Tomoko, Kitano Taito, Takeyama Masahiro, Imakita Natsuko, Kasahara Kei, Kawaguchi Ryuji, Masaki Jennifer Akiko, Nogami Keiji	4. 巻 11
2. 論文標題 A survey of healthcare workers' recommendations about human papillomavirus vaccination	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Vaccine Research	6. 最初と最後の頁 149 ~ 149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7774/cevr.2022.11.2.149	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2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 今北菜津子
2. 発表標題 「感染症専門医」の在り方とこれから
3. 学会等名 第65回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第92回日本感染症学会西日本地方会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今北菜津子
2. 発表標題 A case of Acquired Immunodeficiency Syndrome with abdominal mass
3. 学会等名 第37回日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2023年

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------