

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：32665

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670708

研究課題名(和文) 妊娠時インフルエンザウイルス感染による胎児および母体に対する影響

研究課題名(英文) Effects on fetal and maternal by influenza virus infection during pregnancy

研究代表者

春日 晃子 (KASUGA, Akiko)

日本大学・医学部・助手

研究者番号：30625421

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：季節性のインフルエンザウイルスと比べて、2009年にパンデミックを起こしたインフルエンザウイルス(K4)は、妊娠マウスにおいて重症化を引き起こしている可能性が示唆された。K4を感染させ、血液中でインフルエンザウイルスを検出したインフルエンザ感染重症化妊娠マウスでは、母体重の減少と胎児体重の減少が認められたが胎児数に違いは無かった。重症化した非妊娠感染マウスと比べて、重症化した妊娠感染マウスでは、妊娠を維持するために炎症を抑える制御系細胞と抗炎症性サイトカインの産生が誘導されている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the infection of Influenza virus (K4) that caused the pandemic in 2009 compared with seasonal influenza virus, we speculated that the pathophysiological findings could be severe in pregnant mice. In inoculated pregnant mice, we detected the K4 virus with body weight loss (severe group). In severe group, fetal body weight was decreased significantly. However, the difference in the number of fetuses was not observed. We suggested that in severe group, the stronger inflammatory response to the virus may occur during pregnancy, in addition the reactive suppressive regulatory response may increase much more.

研究分野：産婦人科学

キーワード：インフルエンザウイルス感染重症化 妊娠

1. 研究開始当初の背景

乳幼児・高齢者・基礎疾患を有する者や妊婦らがインフルエンザウイルスに感染した場合、重症化することが報告されている。2009年に発生したパンデミックを引き起こしたインフルエンザウイルスは、海外で妊婦の死亡や合併症の報告がされているが、重症化メカニズムの詳細は解明されていない。高齢出産・少子化傾向にある本邦において、妊娠時のインフルエンザウイルス感染重症化メカニズムの解明は急務であると考えた。

2. 研究の目的

インフルエンザウイルス感染妊娠モデルを確立し、インフルエンザウイルス感染時の胎児および母体に対する影響を検討し、妊娠中のインフルエンザウイルス感染重症化メカニズムの解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 非妊娠マウスと妊娠マウスに季節性インフルエンザウイルス (A/Udorn/307/72 (H3N2)) と 2009年にパンデミックを引き起こしたインフルエンザウイルス (K4; A/Kyoto/2011 (H1N1)) を感染させ、生存率、母体重を測定し、インフルエンザウイルスの種類による違いを検討し、免疫応答変化を検討するのに最適な K4 ウイルス量を決定する。

(2) (1) で決定した K4 ウイルス量で非妊娠マウスを感染させ、体重変化を検討する。感染 5 日後に血液、肺組織を採取し、qRT-PCR でインフルエンザウイルスの有無、制御性細胞やサイトカインの変化について検討をする。

(3) (1) で決定した K4 ウイルス量で胎生 13 日目の妊娠マウスに感染させ、母体重、胎児体重、胎児数を検討する。感染 5 日後である胎生 18 日目に血液、肺組織を採取し、qRT-PCR でインフルエンザウイルスの有無、制御性細胞やサイトカインの変化について検討をする。

(4) K4 感染による非妊娠マウスと妊娠マウスでの制御性細胞やサイトカインの違いについて比較する。

4. 研究成果

(1) 季節性インフルエンザウイルス (A/Udorn/307/72 (H3N2)) を 10^6 PFU/body で非妊娠マウスおよび妊娠マウスに感染させても、死亡する個体は無かった。非妊娠マウスでは感染により、非感染マウスと比べて約 5% の体重減少が認められたが、感染 10 日目には体重は回復していた。これに対して、妊娠マウスでは非感染マウスと比べて約 30% の体重抑制を認めた。同様に 2009 年にパンデミックを引き起こしたインフルエンザウイルス (K4; A/Kyoto/2011 (H1N1)) を感染させたところ、非妊娠マウスは感染 10 日後、妊娠マ

ウスは感染 7 日後に全個体が死亡した。この結果から、免疫応答変化を検討するためのウイルス量を今回用いた量の 1/20 と決定した。

(2) 非妊娠マウスに K4 を (1) で決定したウイルス量で感染させると、全個体で感染 2 日目より体重減少が認められ、感染 5 日目の血液および肺組織でインフルエンザウイルスの存在を認めた。感染 5 日目の肺組織では、非感染マウスと比較して、Foxp3、T-bet、GATA-3 の遺伝子発現減少、IL-1 β 、IL-6、MIP2 の遺伝子発現増加を認めた。季節性のインフルエンザウイルス感染では、体重減少は一過性であり、感染 10 日目には体重が回復し、血液中でインフルエンザウイルスを検出することは稀であることから、K4 がより毒性の強いことが示唆された。

(3) (2) と同様に妊娠マウスに K4 を感染させ、検討を行った。感染 5 日目に体重抑制を認める群と認めない群に分かれた。体重抑制を認めた群では、全個体で血液および肺組織でインフルエンザウイルスを検出し、胎児体重は著しく減少していたが、胎児数に違いは認められなかった。感染 5 日目の肺組織では、非感染妊娠マウスと比較して、Foxp3、IL-6、IL-10、MIP2、GATA-3 の遺伝子発現増加、TGF- β 、TNF、T-bet の遺伝子発現減少を認めた。血液中でインフルエンザウイルスを検出できず、肺組織でのみインフルエンザウイルスを検出した群、すなわち体重減少を認めなかった群では、胎児体重の減少は認められなかった。

(4) K4 感染による非妊娠マウスと妊娠マウスでは、Foxp3、IL-1 β 、IL-10、TGF- β 、TNF、GATA-3 の発現が異なっていることが明らかとなった。妊娠マウスでは、妊娠を維持するために制御性細胞や抗炎症性サイトカインが誘導されている可能性が示唆された。

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 8 件)

- ① Kobayashi Y, Yamamoto T, Chishima F, Takahashi H, Suzuki M. Autoantibodies Isolated from Patients with Preeclampsia Induce Soluble Endoglin Production from Trophoblast Cells Via Interactions with Angiotensin II Type 1 Receptor. 査読有、73(4)、2015、285-291
- ② Suzuki M, Nagaishi T, Yamazaki M, Onizawa M, Watabe T, Sakamaki Y, Ichinose S, Totsuka M, Oshima S, Okamoto R, Shimonaka M, Yagita H, Nakamura T, Watanabe M. Myosin light chain kinase expression induced via

- tumor necrosis factor receptor 2 signaling in the epithelial cells regulates the development of colitis-associated carcinogenesis. *PLoS One*. 査読有、10;9(2):e88369、2014、doi: 10.1371/journal.pone.0088369. eCollection 2014.
- ③ Maebayashi Asanuma AI, Yamamoto T, Azuma H, Kato E, Yamamoto N, Murase T, Chishima F, Suzuki M. **Expression of placenta growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase-1, metal-responsive transcription factor-1, heme oxygenase 1 and hypoxia inducible factor-1 α mRNAs in pre-eclampsia placenta and the effect of pre-eclampsia sera on their expression of choriocarcinoma cells.** *J Obstet Gynaecol Res*. 査読有、40(10)、2014、2095-2103
- ④ Son A, Oshio T, Kawamura YI, Hagiwara T, Yamazaki M, Inagaki-Ohara K, Okada T, Wu P, Iseki M, Takaki S, Burkly LC, Dohi T. **TWEAK/Fn14 pathway promotes a T helper 2-type chronic colitis with fibrosis in mice.** *Mucosal Immunol*. 査読有、6(6)、2013、1131-1142
- ⑤ Okada T, Fukuda S, Hase K, Nishiumi S, Izumi Y, Yoshida M, Hagiwara T, Kawashima R, Yamazaki M, Oshio T, Otsubo T, Inagaki-Ohara K, Kakimoto K, Higuchi K, Kawamura YI, Ohno H, Dohi T. **Microbiota-derived lactate accelerates colon epithelial cell turnover in starvation-refed mice.** *Nat Commun*. 査読有、4:1654、2013、doi:10.1038/ncomms2668
- ⑥ Sawai-Kuroda R, Kikuchi S, Shimizu YK, Sasaki Y, Kuroda K, Tanaka T, Yamamoto T, Sakurai K, Shimizu K. **A polyphenol-rich extract from *Chaenomeles sinensis* (Chinese quince) inhibits influenza A virus infection by preventing primary transcription in vitro.** *J Ethnopharmacol*. 査読有、146(3)、2013、866-872
- ⑦ Chishima F, Kato-Suzuki E, Ichikawa G, Hayashi C, Ohni S, Yamamoto T. Rare case of primary peritoneal pregnancy infiltrated into the Gerota's fascia of the right kidney. *J Obstet Gynaecol Res*. 査読有、39(5)、2013、1073-1076
- ⑧ Hayashi C, Chishima F, Sugitani M, Ichikawa G, Nakazawa-Watanabe T, Sugita K, Suzuki M, Nemoto N, Yamamoto T. Relationship between Toll-like receptor-4 and mPGES-1 gene expression in local lesions of endometriosis patients. *Am J Reprod Immunol*. 査読有、69(3)、2013、231-239
- [学会発表] (計 3件)
- ① 春日晃子、高橋英幹、村瀬隆之、山本樹生 インフルエンザ感染による妊娠マウスでの母獣および胎仔への影響 第 67 回日本産婦人科学会学術講演会 パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) 2015.04.10. 口演
- ② 春日晃子、高橋英幹、村瀬隆之、山崎元美、山本樹生 マウスモデルを用いた妊娠時インフルエンザ感染による母獣と胎仔への影響 第 29 回日本生殖免疫学会総会 伊藤国際学術研究センター (東京都文京区) 2014. 12. 13. 口演
- ③ 春日晃子、高橋英幹、村瀬隆之、山本樹生 マウスモデルを用いた妊娠時インフルエンザ感染による母体と胎児への影響 第 50 回日本周産期・新生児医学会学術集会 シェラトン・グランデ・トーキョーベイ・ホテル (千葉県浦安市) 2014. 07. 15. 口演
- [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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：
- [その他]
- ホームページ等
なし
6. 研究組織
(1) 研究代表者
春日 晃子 (KASUGA, Akiko)

日本大学・医学部・助手
研究者番号：30625421

(2)研究分担者

山本 樹生 (YAMAMOTO, Tatsuo)
日本大学・医学部・教授
研究者番号：40167721

山崎 元美 (YAMAZAKI, Motomi)
日本大学・医学部・研究員
研究者番号：40376794

(3)連携研究者

なし