

411 way interaction between mAbs 98.6 and 50.69 (O. Usami,  
412 unpublished observation, April 04). More careful analysis on  
413 the interactions of these antibodies would give us more infor-  
414 mation on fusion core structures of gp41.

#### 415 Acknowledgements

416 This work was supported in part by Scientific Research  
417 Expenses for Health and Welfare Programs from the Minis-  
418 try of Health and Welfare, Japan and by Grants AI 27742 for  
419 CFAR immunology Core as the source of mAbs. The authors  
420 are grateful to Dr. R.C. Gallo for providing H9, H9/IIIB and  
421 H9/MN cells. The authors are also indebted to Dr. Zolla-  
422 Pazner for mAbs 50.69, 98.6 and 246D. The authors are also  
423 grateful to Dr. Earl for providing mAb T26. And Dr. Sato at  
424 Sendai Medical Center and Dr. Shin Nishihata at Kagoshima  
425 Seikyo Hospitaland for providing patients sera.

#### 426 References

- 427 [1] M. Lu, S.C. Blacklow, P.S. Kim, A trimeric structural domain of the  
428 HIV-1 transmembrane glycoprotein, *Nat. Struct. Biol.* 2 (1995) 1075-  
429 1082.
- 430 [2] D.C. Chan, D. Fass, J.M. Berger, P.S. Kim, Core structure of  
431 gp41 from the HIV envelope glycoprotein, *Cell* 89 (1997) 263-273.
- 432 [3] W. Weissenhorn, A. Dessen, S.C. Harrison, J.J. Skehel, D.C. Wiley,  
433 Atomic structure of the ectodomain from HIV-1 gp41, *Nature* 387  
434 (1997) 426-430.
- 435 [4] J.Y. Xu, M.K. Gorny, T. Palker, S. Karwowska, S. Zolla-Pazner,  
436 Epitope mapping of two immunodominant domains of gp41, the  
437 transmembrane protein of human immunodeficiency virus type 1,  
438 using 10 human monoclonal antibodies, *J. Virol.* 65 (1991) 4832-  
439 4838.
- 440 [5] T. Hattori, H. Komoda, S. Pahwa, M. Tateyama, X. Zhang, Y. Xu,  
441 et al., Decline of anti-DP107 antibody associated with clinical pro-  
442 gression, *AIDS* 12 (1998) 1557-1559.
- 443 [6] R.A. Furuta, C.T. Wild, Y. Weng, C.D. Weiss, Capture of an early  
444 fusion-active conformation of HIV-1 gp41, *Nat. Struct. Biol.* 5 (1998)  
445 276-279.
- 446 [7] Y. Taniguchi, S. Zolla-Pazner, Y. Xu, X. Zhang, S. Takeda, T. Hattori,  
447 Human monoclonal antibody 98.6 reacts with the fusogenic form of  
448 gp41, *Virology* 273 (2000) 333-340.
- 449 [8] M.K. Gorny, T.C. VanCott, C. Williams, K. Revesz, S. Zolla-Pazner,  
450 Effects of oligomerization on the epitopes of the human immunodefi-  
451 ciency virus type 1 envelope glycoproteins, *Virology* 267 (2000)  
452 220-228.
- 453 [9] P.L. Earl, C.C. Broder, R.W. Doms, B. Moss, Epitope map of human  
454 immunodeficiency virus type 1 gp41 derived from 47 monoclonal  
455 antibodies produced by immunization with oligomeric envelope pro-  
456 tein, *J. Virol.* 71 (1997) 2674-2684.
- 457 [10] P.L. Earl, C.C. Broder, D. Long, S.A. Lee, J. Peterson, S. Chakrabarti,  
458 et al., Native oligomeric human immunodeficiency virus type 1 enve-  
459 lope glycoprotein elicits diverse monoclonal antibody reactivities, *J.*  
460 *Virol.* 68 (1994) 3015-3026.
- 461 [11] N.R. Kilgore, K. Salzwedel, M. Reddick, G.P. Allaway, C.T. Wild,  
462 Direct evidence that C-peptide inhibitors of human immunodeficiency  
463 virus type 1 entry bind to the gp41 N-helical domain in receptor-  
464 activated viral envelope, *J. Virol.* 77 (2003) 7669-7672.
- [12] E. de Rosny, R. Vassell, P.T. Wingfield, C.T. Wild, C.D. Weiss, Pep-  
465 tides corresponding to the heptad repeat motifs in the transmembrane  
466 protein (gp41) of human immunodeficiency virus type 1 elicit anti-  
467 bodies to receptor-activated conformations of the envelope glycopro-  
468 tein, *J. Virol.* 75 (2001) 8859-8863. 469
- [13] Q.J. Sattentau, J.P. Moore, Conformational changes induced in the  
470 human immunodeficiency virus envelope glycoprotein by soluble  
471 CD4 binding, *J. Exp. Med.* 174 (1991) 407-415. 472
- [14] Q.J. Sattentau, S. Zolla-Pazner, P. Poignard, Epitope exposure on  
473 functional, oligomeric HIV-1 gp41 molecules, *Virology* 206 (1995)  
474 713-717. 475
- [15] S. Laal, S. Burda, M.K. Gorny, S. Karwowska, A. Buchbinder,  
476 S. Zolla-Pazner, Synergistic neutralization of human immunodefi-  
477 ciency virus type 1 by combinations of human monoclonal antibodies,  
478 *J. Virol.* 68 (1994) 4001-4008. 479
- [16] J.S. McDougal, M.S. Kennedy, S.L. Orloff, J.K. Nicholson, T.J. Spira,  
480 Mechanisms of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)  
481 neutralization: irreversible inactivation of infectivity by anti-HIV-  
482 1 antibody, *J. Virol.* 70 (1996) 5236-5245. 483
- [17] C.M. Finnegan, W. Berg, G.K. Lewis, A.L. DeVico, Antigenic prop-  
484 erties of the human immunodeficiency virus transmembrane glyco-  
485 protein during cell-cell fusion, *J. Virol.* 76 (2002) 12123-12134. 486
- [18] L.D. Loomis-Price, J.H. Cox, J.R. Mascola, T.C. VanCott,  
487 N.L. Michael, T.R. Fouts, et al., Correlation between humoral  
488 responses to human immunodeficiency virus type 1 envelope and  
489 disease progression in early-stage infection, *J. Infect. Dis.* 178 (1998)  
490 1306-1316. 491
- [19] M. Muhlbacher, M. Spruth, F. Siegel, R. Zangerle, M.P. Dierich,  
492 Longitudinal study of antibody reactivity against HIV-1 envelope and  
493 a peptide representing a conserved site on Gp41 in HIV-1-infected  
494 patients, *Immunobiology* 200 (1999) 295-305. 495
- [20] T. Yamada, A. Iwamoto, Expression of a novel Nef epitope on the  
496 surface of HIV type 1-infected cells, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 15  
497 (1999) 1001-1009. 498
- [21] A. Propato, E. Schiaffella, E. Vicenzi, V. Francavilla, L. Baloni,  
499 M. Paroli, et al., Spreading of HIV-specific CD8+ T-cell repertoire in  
500 long-term nonprogressors and its role in the control of viral load and  
501 disease activity, *Hum. Immunol.* 62 (2001) 561-576. 502
- [22] E. Keoshkerian, L.J. Ashton, D.G. Smith, J.B. Ziegler, J.M. Kaldor,  
503 D.A. Cooper, et al., Effector HIV-specific cytotoxic T-lymphocyte  
504 activity in long-term nonprogressors: associations with viral replica-  
505 tion and progression, *J. Med. Virol.* 71 (2003) 483-491. 506
- [23] M.M. Kitahata, T.D. Koepsell, R.A. Deyo, C.L. Maxwell,  
507 W.T. Dodge, E.H. Wagner, Physicians' experience with the acquired  
508 immunodeficiency syndrome as a factor in patients' survival, *New*  
509 *Engl. J. Med.* 334 (1996) 701-706. 510
- [24] M.K. Gorny, S. Zolla-Pazner, Recognition by human monoclonal  
511 antibodies of free and complexed peptides representing the prefuso-  
512 genic and fusogenic forms of human immunodeficiency virus type  
513 1 gp41, *J. Virol.* 74 (2000) 6186-6192. 514
- [25] A. Pinter, W.J. Honnen, S.A. Tilley, C. Bona, H. Zaghouni,  
515 M.K. Gorny, et al., Oligomeric structure of gp41, the transmembrane  
516 protein of human immunodeficiency virus type 1, *J. Virol.* 63 (1989)  
517 2674-2679. 518
- [26] B. Chesebro, K. Wehrly, Development of a sensitive quantitative focal  
519 assay for human immunodeficiency virus infectivity, *J. Virol.* 62  
520 (1988) 3779-3788. 521
- [27] Y. Maeda, S. Matsushita, T. Hattori, T. Murakami, K. Takatsuki,  
522 Changes in the reactivity and neutralizing activity of a type-specific  
523 neutralizing monoclonal antibody induced by interaction of soluble  
524 CD4 with gp120, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 8 (1992) 2049-2054. 525

- 526 [28] S. Zolla-Pazner, M.K. Gorny, W.J. Honnen, A. Pinter, Reinterpreta- 537  
527 tion of human immunodeficiency virus western blot patterns, *New* 538  
528 *Engl. J. Med.* 320 (1989) 1280–1281. 539
- 529 [29] Y.H. Abacioglu, T.R. Fouts, J.D. Laman, E. Claassen, S.H. Pincus, 540  
530 J.P. Moore, et al., Epitope mapping and topology of baculovirus- 541  
531 expressed HIV-1 gp160 determined with a panel of murine mono- 542  
532 clonal antibodies, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10 (1994) 371–381.
- 533 [30] Y.G. Kuznetsov, J.G. Victoria, W.E. Robinson Jr., A. McPherson, 543  
534 Atomic force microscopy investigation of human immunodeficiency 544  
535 virus (HIV) and HIV-infected lymphocytes, *J. Virol.* 77 (2003) 545  
536 11896–11909.
- [31] T.L. Benfield, Clinical and experimental studies on inflammatory 537  
mediators during AIDS-associated *Pneumocystis carinii* pneumonia, 538  
*Dan. Med. Bull.* 50 (2003) 161–176. 539
- [32] A.L. Laursen, B.N. Jensen, P.L. Andersen, Local antibodies against 540  
*Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage fluid, *Eur. Respir. J.* 7 541  
(1994) 679–685. 542
- [33] D. Israel-Biet, J. Cadranet, P. Even, Human immunodeficiency virus 543  
production by alveolar lymphocytes is increased during *Pneumocystis* 544  
*carinii* pneumonia, *Am. Rev. Respir. Dis.* 148 (1993) 1308–1312. 545

UNCORRECTED PROOF

**Low antibody response against tuberculous glycolipid (TBGL) in elderly  
gastrectomized tuberculosis patients**

J. Ashino, Y. Ashino, H. Guio, H. Saitoh, M. Mizusawa and T. Hattori

Division of Infectious and Respiratory Diseases, Graduate School of Medicine,  
Tohoku University.

Address for correspondence and reprint request:

Dr. Toshio Hattori

Division of Infectious and Respiratory Diseases, Graduate School of Medicine,  
Tohoku University. 1-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan.

Phone: +81(22)717-8220

Fax: +81(22)717-8221

E-mail: [thattori@int1.med.tohoku.ac.jp](mailto:thattori@int1.med.tohoku.ac.jp)

**Abstract**

The aim of this study was to evaluate differences in anti-Tuberculous glycolipid (TBGL) antibody titers in patients who developed tuberculosis with and without gastrectomy. Eleven gastrectomized patients who developed tuberculosis after surgery (GS-TB), nineteen tuberculosis patients without any other complications (TB), twelve gastrectomized patients who did not develop tuberculosis after surgery (GS) and twenty seven healthy subjects (H) who had normal findings on chest X-ray were evaluated, although there were no differences in the clinical findings at admission between the TB and GS-TB groups. The assay used here allowed us to find low anti-TBGL antibody titers in GS-TB.

## Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar la diferencia de títulos de anti-anticuerpos para un glicolípido de pared del M. Tuberculosis (TBGL), en pacientes infectados con tuberculosis con y sin antecedente de gastrectomía. Once pacientes gastrectomizados (GS-TB), diecinueve pacientes infectados con tuberculosis sin otra complicación (TB), doce pacientes gastrectomizados que no desarrollaron tuberculosis (GS) y veintisiete sanos (H) con exámenes clínicos y radiológicos normales. No hubo diferencias significativas entre TB y GS-TB. Los resultados mostraron bajos títulos de anticuerpos para el glicolípido del M. Tuberculosis, en pacientes gastrectomizados que desarrollaron tuberculosis.

## Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer les différences de titres d'anticorps glycolipides anti-tuberculeux (TBGL) chez des patients ayant développé une tuberculose avec ou sans gastrectomie. Onze patients gastrectomisés ayant développé une tuberculose après chirurgie (GS-TB), dix neuf patients tuberculeux sans aucune complication (TB), douze patients gastrectomisés n'ayant pas développé de tuberculose après chirurgie (GS), et vingt sept sujets sains (H) présentant des radios thoraciques normales ont été étudiés, bien qu'il n'y eu aucune différence de résultats des investigations cliniques à l'admission entre les groupes TB et GS-TB. L'analyse a employé nous a ici permise de trouver de bas titres d'anticorps d'anti-TBGL dans GS-TB.

Gastrectomy is known as an associated cofactor in the development of tuberculosis (Tb). Though the reasons for the association have not been clarified (1, 2) previous studies with a significant number of gastrectomized patients have reported that the prevalence was 1.7 to 2.5 percent. Additionally, Immunodeficiency and/or malnutrition contribute to the development of Tb (3). Therefore, we evaluated the clinical and laboratory findings including PPD reaction of Tb and/or gastrectomized and healthy controls patients. In the gastrectomized patients, group 2 lymph nodes were dissected, which could have affected the host immune responses. Recently, the glycolipid antigen trehalose 6, 6'-dimycolate (TDM) purified from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv has been reported as a useful diagnostic antigen (4, 5, 6). Thus, we investigated specific immune responses against TDM by measuring anti-TBGL antibody titers.

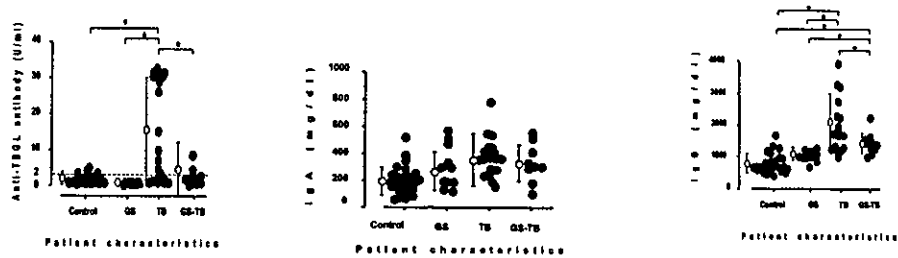
A total of 60 patients between 1999 and 2001, from Tohoku University Hospital who entered this study were divided into four groups: (i) gastrectomized patients who developed tuberculosis after surgery (GS-TB, n=11), (ii) tuberculosis patients without any other complications (TB, n=19), (iii) gastrectomized patients who did not develop tuberculosis after surgery (GS, n=12) and (iv) healthy subjects (n=27) who had normal findings on chest X-ray. For both TB and GS-TB blood samples were taken before receiving anti Tb drugs.

The study was approved by the ethics committee of Tohoku University, School of Medicine, and the patients and volunteers gave informed consent to participate in the study. For the diagnosis of Tb, in addition to the clinical

features, acid-fast smear, culture, and PCR test (Roche Amplicor Mycobacterium Kit) were performed using sputum or gastric juice. Gastrectomized patients with recurring cancer, those treated with anticancer drugs and those with other diseases were excluded. IgG antibodies against TBGL antigen was measured using an ELISA kit (Kyowa Medex Co., Tokyo Japan). A cut-off value greater than or equal to 2 U/ml was considered to be positive (4, 5). Statistical analyses were performed by conventional methods.

The mean age and the postoperative duration were  $74.5 \pm 9.2$  years and  $24.3 \pm 6.3$  months in the GS-TB group and  $74.8 \pm 3.0$  years and  $20.6 \pm 9.2$  months in the GS group respectively, and there were no significant differences between them ( $p > 0.05$ ). The mean ages in TB and healthy subjects were  $73.0 \pm 9.4$  and  $73.2 \pm 8.2$ , respectively. There were no significant differences between the GS-TB and TB groups in positive tuberculin test (6/11 vs. 10/19), lung infiltration shadow ( $\geq 2$  lobes) (5/11 vs. 14/19) or acid-fast smear ( $\geq 1$ /field) (6/11 vs. 10/19).

In this study, 55% of the GS-TB patients were positive to the anti-TBGL antibody titers by ELISA, and this result was comparable to that obtained for the TB patients (68%). Maekura et al. found a significant number (17%) of TBGL positive sera in healthy individuals (5). In our healthy subjects, 22% of the sera showed positive responses, but curiously none of the GS group was positive. Furthermore, the anti-TBGL antibody titers in the GS-TB patients were significantly lower than those of the TB patients ( $p < 0.05$ ) (Fig 1). The serum IgG in both TB and GS-TB patients was significantly increased compared to those in the healthy subjects and GS patient (Fig 2), confirming that the decrease of anti-



TBGL antibody in GS-TB patient could not be explained by the low IgG in their sera. It should also be noted that both anti-TBGL antibody and total IgG values were lower in the GS-TB than in the TB group.

The reason for the lack of anti-TBGL antibody in GS patients and the low anti-TBGL antibody titers in GS-TB patients is not clear, but both facts suggest the stomach may play a role in the production of anti-TBGL antibody.

This work was supported by Grant-in-Aid for Scientific Research B and Exploratory Research from JSPS (Japan Society for the Promotion of Science), a Health Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan. We are grateful to Drs. Sasaki and Shiiba at Division of Biological Regulation and Oncology in Department of Surgery for supplying the sera from gastrectomized patients. We are also grateful to Dr. Yano at Japan BCG Laboratory for critical reading of the manuscript.

## REFERENCES

- [1] Snider D E Tuberculosis and gastrectomy (Editorial). Chest 1985; 87: 414-415
- [2] Steiger , Nickel G J, Nedwicki E G and Higgins R F Pulmonary tuberculosis

- after gastric resection. *Am. J. Surg.* 1976; 131: 668-671
- [3] Dai G, Phalen S and McMurray D 1998 Nutritional modulation of host responses to Mycobacteria. *Front Biosci.* 1998 July 20, p. 110-122
- [4] Maekura R., Nakagawa M., Nakamura Y et al Clinical evaluation of rapid serodiagnosis of pulmonary tuberculosis by ELISA with cord factor (Trehalose - 6, 6'-dimycolate) as antigen purified from mycobacterium tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990; 148: 997-1001
- [5] Maekura R, Okuda Y, Nakagawa M. et al. Clinical evaluation of Anti-Tuberculous Glycolipid immunoglobulin G antibody assay for rapid serodiagnosis of pulmonary tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39: 3603-3608.
- [6] Koen A L De Smet, Anthony Weston, Ivor N Brown, Douglas B Young and Brian D Robertson. Three pathways for trehalose biosynthesis in Mycobacteria. *Microbiology* 2000; 146: 199-208.

#### Figure legends

Fig 1: Circles represent anti-TBGL individual values in healthy, GS, TB and GS-TB subjects and bars represent standard deviation. The dotted line represents the cut off. \* $p < 0.05$

Fig 2: Circles represent IgG individual values in healthy, GS, TB and GS-TB subjects and bars represent standard deviation. \* $p < 0.05$



## SARSを含む新興感染症

東北大学大学院医学系研究科 感染症・呼吸器病態学分野 服部俊夫

### SARSの出現とウイルスの同定

近代医学は病原体の発見によりもたらされたものであるとって過言ではない、人類がいかに感染症により被害を受けてきたかは、黒死病、天然痘、結核などの歴史をひもとけば枚挙に暇がない。20世紀に入りそのような感染症死者数は確かに減少傾向を示しているが、一方で先進国においても新たな病原体が次々と出現している。その多様な病原性・感染ルート等が明らかにされるにつれ、病原体が環境をまた宿主となる人間と動物を見事に、増殖の場として広がるがよくわかり、生活様式の変化が感染症を誘導しているという点では、近代の効率を求める生活様式が感染症に乗っ取られた時に未曾有の被害が生ずる可能性が迫っているともいえる。そのような可能性を垣間みせてくれたのがSevere acute respiratory syndrome (SARS)であった。多数のヒトが宿泊するホテルや集合住宅で感染が拡大し、飛行機を使用して、世界中に拡散し、感染者の21%が医療関係者であり、院内感染の形態をとったことは特筆にあたいする。2002年11月に中国の広東省で発生した新たな感染症で、8ヶ月間に感染者は8000人、死者は800人を数えたが、2003年7月以降自然な感染ルートによる患者の発生報告はない。

香港のQueen Mary HospitalのPeirisらはWHOと共同で香港の広東のSARS患者と10時間接触した香港で発生したSARS患者の生検肺組織と広東地方の旅行から帰ってきた43歳の女性の鼻咽頭液からコロナウイルスを分離した。コロナウイルスの語源は典型的な電顕像から由来する。1,2。もともとコロナウイルスはヒトや動物の感染細胞の細胞質で増殖する一本鎖RNAウイルスであり、そのうち229EとOC43はヒトの風邪ウイルスとして有名である。(図1)またヒトのほとんどが229EとOC43に対する抗体を有しているので、初期の抗体検査では混乱があった可能性がある。三種類の大きなグループが存在するがSARSウイルスはそのどのタイプにも属さず新種のウイルスであった。3

しかしながらコロナウイルスにはほぼ同時期にも別の新たなウイルスでグループIに属するNL63も発見されていて常に新たなウイルスが検出されている。。

### SARSの症状4

SARSの潜伏期は10日前後であり、その後発熱、咳き、筋肉痛などの風邪症状が2-3日経過し、そして一部に下痢が生ずる。さらに経過すると感染が遷延し、血小板、リンパ球数が減少し、肝機能異常などが生じる。下気道症状が強いと、息切れ、空咳が生ずる。90%は自然治癒するが、10%が重篤なARDSを併発し、死亡する。SARS患者の20-30%がICUでの治療が必要となり、10%以上の死亡率となる。(図2)

胸部X線上では初期に肺炎像を呈するが、その後肺炎像は消退し、新たな間質性肺炎の所見が生じる。その診断にはCTが極めて有用である。ニューモシテイス肺炎にみられるような縦隔気腫も出現する。消化管症状に関しては詳細な情報がありませんでした。最近剖検例においてウイルスの存在が消化管上皮に観察されました。小腸の上皮細胞あるいはリ

ンパ球がSARSウイルスに感染していることが示された。電顕でも小腸上皮にウイルス粒子が検出されます。これらのことよりARSウイルスは消化管への直接的な感染により消化器症状が生ずることが疑われている。5

検査所見ではリンパ球数と血小板数の低下とLDH、CPK、ALT、ASTの増加がみられる。ウイルス学的診断では、痰や便などの体液を用いたPCR法と抗体検査である。PCRは体液を用いれば迅速な診断が可能である。しかしその結果が陰性でも完全には感染を否定できない。特異的な抗体の上昇は週単位であるので、実際の診断には遅すぎる傾向がある。協和病院のLi教授はリンパ球の減少特にCD4細胞の減少が発熱直後ですでにみられるとして、CD4数をメルクマールにすべきであると提唱されている。その協和病院の患者の一年後の経過では69名の経過観察中の患者であるが、年齢は平均37歳、抗体保有率は96%、軽度呼吸困難者が21%でその他は咳きと痛みを訴える患者が少数いる。

#### 感染防御

SARSの大きな特徴はHCWへの高率な感染である。感染様式は飛沫・接触によるものが主であるが、香港のアパートの感染者発生様式が風向きにより影響を受けていることから空気感染も完全には否定されていない。香港での院内感染の原因の一つの呼吸不全の患者へのNIPPVの使用による飛沫の発生が挙げられた。しかしながら広東地方ではこの方法により多数の患者が救命されたという。NIPPVを使用する際には飛沫の発生はさけられない、このような状況の場合は基本的には隔離個室で行うべきと思われる。隔離個室がない場合はHEPAフィルターを装着し、機械とベット全体を覆うような安全ベッドの使用が必要かと思われる。また医療従事者は、標準予防策（手袋）と飛沫感染予防策（<sup>1</sup>）ガウン、ゴーグルなど）に加えて空気感染予防策（N95など）をとる必要があると思われる。

#### 治療と経過

治療は様々なトライアルがされ、リバビリン、インターフェロン、ロピナビルやリトナビルなどのプロテアーゼインヒビターなどが投与された。少数例ではあるが、プロテアーゼインヒビターや抗ウイルス剤とステロイドが使用された例では死亡率が少なかったという報告がある。表 肺繊維症の遷延により呼吸不全が進行した場合にはパルス療法を含む大量のステロイド療法がおこなわれ、現在様々な薬剤の抗SARS効果が確認されているし、またそれらの試験管内での効果が確認されているグリチルリチンの併用も考慮に値すると思われる。

#### ウイルスの受容体と受容体インヒビター

SARSウイルスの表面にはSpike蛋白とEnvelope protein, Membrane proteinがそれぞれ存在し、遺伝子は一本鎖RNAで、周囲をヌクレオカプシドが取り巻いている。

SARSウイルスの表面にはSpike蛋白とEnvelope protein, Membrane proteinがそれぞれ存在し、遺伝子は一本鎖RNAで、周囲をヌクレオカプシドが取り巻いている。S蛋白は感染に果たす役割が主で、細胞側受容体ACE2に結合する。SARSウイルスの感染抑制物質を発見する上では感染実験が大事である。しかしエオロゾール感染をする場合は、真のウイルスに似たもの偽ウイルスを使用するほうがより安全である。HIVベクターを用い、リポーターとしてLuciferaseを用いてSARSウイルスのS蛋白の細胞内侵入機能を見る偽ウイルスを作成することができる。このような偽ウイルスを様々な細胞株に感染させ、

Luciferase活性を測定することにより、感受性を検討することができる。

その結果とACE2Rの発現の程度を示す(図3)。殆どの細胞株がACE2を発現しているが、その遺伝子を発現している293T細胞にさらにACE2受容体を発現させると高感受性株を得ることができる。さらに肝臓癌由来のHuh7やHepG2がやはり高感受性であった。私たちのデータは他のグループと違い最も高感受性がHepG2でしたので、HLAで細胞の由来を確認した。

ACE2はACEのnegative regulatorで、両方ともメタロペプチダーゼだが、ACEがアンギオテンシン系のみ作用するのに比べ、ACE2はapelin13やbradykininにも作用する。ヒトではACE2は心臓の内皮細胞は腎臓の尿細管上皮、消化器に発現しているが、マウスでは肺に発現している。一方でタイプIIの膜貫通糖蛋白で、CタイプレクチンであるCD209LもACE2と相俟って、リンパ節、パイエル板及び肺で感染に際しての受容体として作用することが報告された。それ以外にも感染度とACE2の発現の差より別の受容体が存在することも考えられている。

#### 患者の病態とウイルスの特性

SARS患者の遺伝子発現が10人のSARS患者の末梢血を用いて報告された。免疫炎症系の遺伝子で、発現昂進を示す物がと、発現低下を示す物があるが、前者は殆どが細菌感染において検出されるもので、後者がウイルス感染により発現が昂進する遺伝子が殆ど欠落していた。これらの発現様式をリアルタイムPCRで測定すると、SARS患者とインフルエンザの患者では炎症分子の発現様式がかなり異なっていることが明らかです。IFN、IL-12、TNFなどのウイルス感染特異的な遺伝子がインフルエンザと異なりSARS患者では発現されない。一方でSARSウイルスをVer o E 6に感染させてIFNの遺伝子発現をコントロールウイルスと比較しますと明らかにIFNの発現が低下していて、そのプロモーター活性も検出できない。さらにそのプロモーター活性に重要なIRF-3の感染細胞の動きをみるとコントロールウイルスでは細胞核に移動してるが、SARSでは8時間後には移動しするが、16時間後には既に細胞質に戻ってしまう。このIFN産生阻害がはSARSウイルスのユニークな点である。

#### 最後に

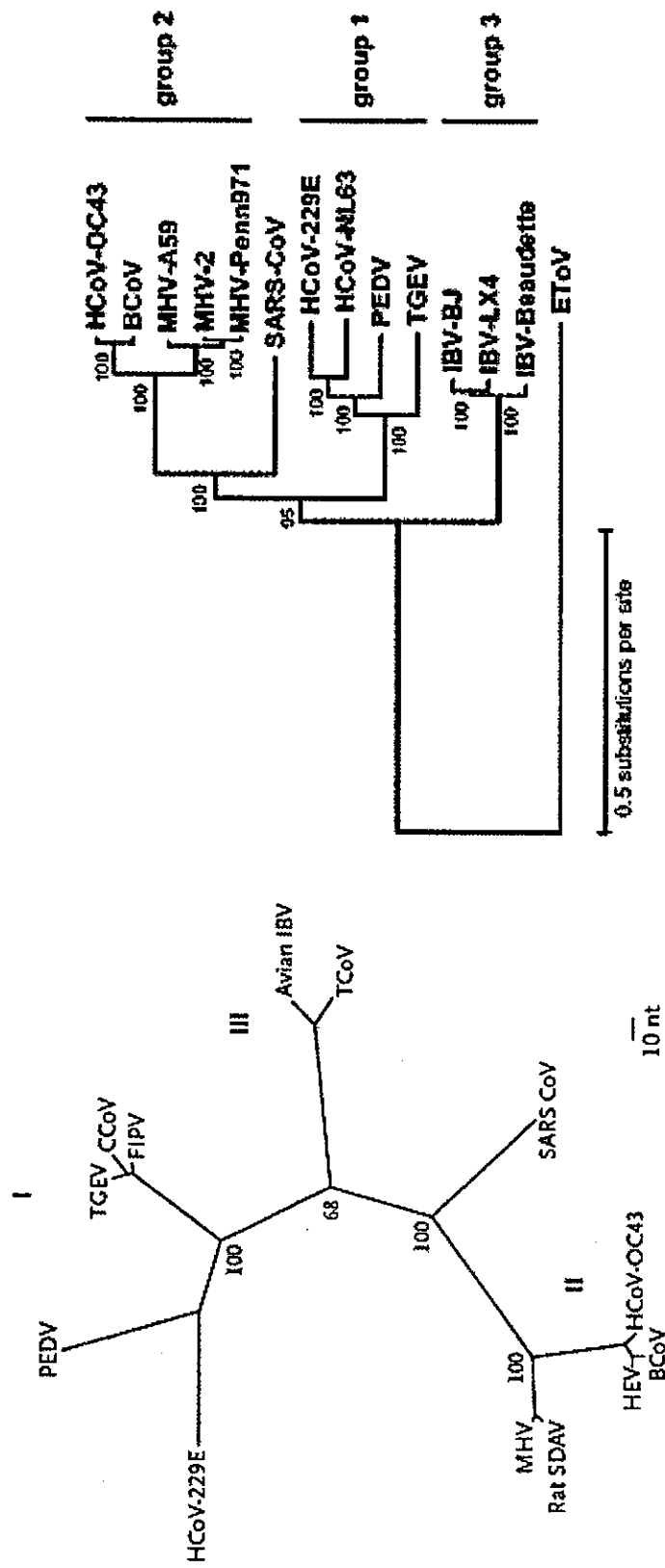
SARSが2002年11月に登場してから半年以内にウイルスが同定され、2003年11月にはACE2という受容体が同定され、その時には既にACE2の立体構造が判明していた。このように近年の新興感染症のもう一つの特徴は対策をたてるまでの時間が極めて短いことであります。不幸中の幸いであったことに、SARSは無症候性感染症が極めて少なく、天然痘のように発症者を同定することが用意で隔離する対象が限られていたことが今回の終焉になり、再発に対しても速やかな対策ができると思われる。その意味では現在不気味な拡がりを見せているH5N1インフルエンザウイルスへの対策はより困難であることが推測される。

#### 参考文献

1. Peirs JSM, Lai ST, Poon LLM, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 361: 1319-1325, 2003
2. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 348; 1947-1958, 2003

3. Vrijen L, Keyaerts E, Mose E, et al. Complete genomic sequence of human coronavirus OC43:molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. *J Virol* 79; 1595-1604, 2005
4. Skowronski DM, Astell C, Brunham RC, et al.; Severe acute respiratory syndrome (SARS): A year in review. *Ann Rev. Med.* 56:357-81, 2005
5. Shi X, Gong E, Gao D, et al. Severe acute respiratory syndrome associated coronavirus is detected in intestinal tissues of fatal cases. *J. Gastroentero.* 100:169-176, 2005
5. Spiegel M, Pichlmair A, Martinez-Sobrido L, et al.: Inhibition of beta interferon induction by severe respiratory syndrome coronavirus suggests a two-step model for activation of interferon regulatory factor 3. *J Virol* 79:2079-2086, 2005

# 図1 コロナウイルス系統樹



# 図2 SARS患者の臨床経過

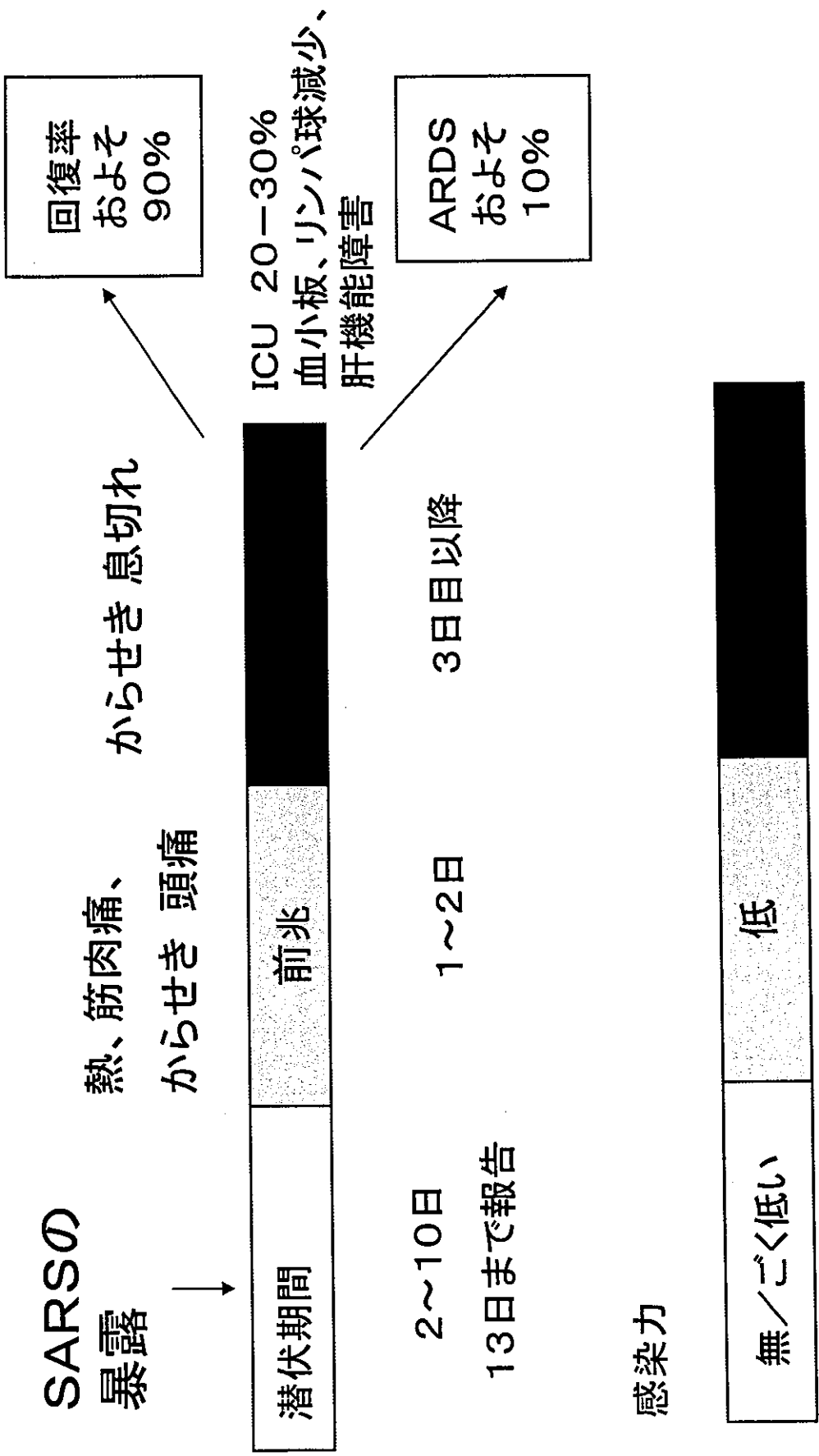


図3 各種細胞株への偽SARSウイルス感染

