

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

H1N1 感染モデルにおける Spred-2 による免疫制御機構

研究分担者 松川昭博 岡山大学医歯薬学総合研究科病理学（免疫）・教授

研究要旨

インフルエンザ H1N1 感染における ERK/MAPK 経路の内因性抑制因子
Spred-2 による免疫制御機構の解明

A．研究目的

インフルエンザウイルス感染症をはじめとした炎症反応における代表的な細胞内シグナル伝達経路の1つに Ras-Raf-ERK/MAPK 経路が挙げられる。本研究では、ERK/MAPK の内因性抑制因子 Spred-2 によるウイルス感染時の免疫制御機構を明らかにする事を目的とした。

B．研究方法

野生型および Spred-2 欠損マウスに A/PR8/34(H1N1) を経鼻的に感染させ、H1N1 感染後の生体反応を比較検討した。

（倫理面への配慮）

動物実験は、岡山大学動物実験指針に基づき、3R の原則に従って実施した。

C．研究結果

H1N1 マウス感染モデルで Spred-2 が有意に上昇する事を見出した。H1N1 感染マウスモデルでの Ras-Raf-ERK/MAPK 経路は活性化していた。Spred2-KO マウスでは ERK/MAPK 活性は上昇し、WT マウスと比較し

て生存率は有意に低下し、肺炎病態の悪化、炎症性サイトカインの亢進ならびに肺内ウイルス量の増加を認めた。Spred2-KO マウスに ERK inhibitor (U0126) を投与する事により、生存率ならびに肺炎病態の有意な改善が見られた。また siRNA を用いて Spred-2 をノックダウンさせた気道上皮細胞株 (MLE-12) を用いたマイクロアレイ解析では、コントロールと比較して PI3 kinase の亢進 (p-AKT 亢進) を認め、共焦点レーザー顕微鏡下では、endocytosis の亢進に伴うウイルス価の亢進を認めた。

D．考察

H1N1 感染での ERK/MAPK の活性化上昇は肺炎の増強と体内ウイルス増殖に関わる。

E．結論

Spred2 を介した ERK 経路の制御はインフルエンザウイルス感染症のターゲットと考えられた。

F．研究発表

1．論文発表

- 1) Shiozaki Y, Kitajima T, Mazaki T, Yoshida A, Tanaka M, Umezawa A, Nakamura M, Yoshida Y, Ito Y, Ozaki T, Matsukawa A. Enhanced in vivo osteogenesis by nanocarrier-fused bone morphogenetic protein-4. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:1349-60. Apr
 - 2) Uchino K, Fujisawa M, Watanabe T, Endo Y, Nobuhisa T, Matsumoto Y, Kai K, Sato S, Notohara K, Matsukawa A. Oxaliplatin-induced Liver Injury Mimicking Metastatic Tumor on Images: A Case Report. *Jpn J Clin Oncol*. *Jpn J Clin Oncol*. 2013 Oct;43(10):1034-8
 - 3) Nishida K, Hashizume H, Matsukawa A, Hashizume K, Shimamura Y, Torigoe Y, Ozaki T. Occult Compression Fracture of Metacarpal Head without Evidence of Avascular Necrosis. *Acta Med Okayama*. 2013 Oct;67(5):311-7.
 - 4) Kadowaki T, Morishita A, Niki T, Hara, Sato M, Tani J, Miyoshi H, Yoneyama H, Masaki T, Hattori T, Matsukawa A and Hirashima H. Galectin-9 prolongs the survival of septic mice by expanding Tim-3-expressing NKT cells and PDCA-1+ CD11c+ macrophages. *Crit Care Med*. *Crit Care*. 2013 Dec 9;17(6):R284
 - 5) Ogino T, Kobushi H, Fujita H, Matsukawa A, Utsumi K. Erythroid and megakaryocytic differentiation of K562 erythroleukemic cells by monochloramine. *Free Radic Res*. 2014 Mar;48(3):292-302
 - 6) Mazaki T, Kitajima T, Shiozaki Y, Sato M, Mino M, Yoshida A, Nakamura M, Yoshida Y, Tanaka M, Ozaki T, Matsuka A and Ito Y. In Vitro and in vivo enhanced osteogenesis by kaempferol found by a high-throughput assay using human mesenchymal stromal cells. *Journal of Functional Foods*, Jan;6:241-247, 2014
2. 学会発表
- 1) Mazaki T, Ito Y, Matsukawa A, Ozaki T. Articular Cartilage Repair Using A Photo-crosslinkable Gelatin With BMP4 Fusion Protein With Collagen Binding Domain (CBD-BMP4) In Rabbits. ORS 60th annual meeting, March 15-18, 2014, New Orleans, USA.
 - 2) 馬崎 哲朗, 塩崎泰之, 吉田晶, 松川 昭博, 中村真理子, 吉田靖弘, 北嶋 隆, 伊藤嘉浩, 尾崎敏敏文: 家兎骨軟骨欠損モデルにおける可視光硬化ゼラチンの組織修復の効果 第120回中部日本整形外科災害外科学会 2013年4月5-6日 和歌山
 - 3) 板倉淳哉, 伏見聡一郎, 伊藤利洋, 松川昭博, 塩見達志: 皮膚腫瘍 第52回山陰病理集談会 2013年4月13日 鳥取
 - 4) 松川昭博、伊藤利洋: A型インフルエンザウイルス(H1N1)感染とMAPK経路 第102回日本病理学会総会 シンポジウム 2013年6月6-8日 ロイトン札幌(北海道)
 - 5) 伊藤利洋, 板倉淳哉, 佐藤美和, 美野愛, 伏見聡一郎, 松川昭博: T細胞Suppressor of Cytokine Signaling 5 (SOCS5)の過剰発現はLPSトレランス効果を増強する 第102回日本病理学会総会 2013年6月6-8日 ロイトン札幌(北海道)
 - 6) 板倉淳哉, 伊藤利洋, 佐藤美和, 美野愛, 伏見聡一郎, 松川昭博: Spred2

- 欠損マウスは敗血症抵抗性を示す
第 102 回日本病理学会総会 2013 年 6 月 6-8 日 ロイトン札幌（北海道）
- 7) 大森昌子，豊田博，柳井広之，高田尚良，松川昭博，吉野正：多彩な組織像を示す乳腺腺様嚢胞癌の 3 例 第 102 回日本病理学会総会 2013 年 6 月 6-8 日 ロイトン札幌（北海道）
- 8) 内野かおり，能登原憲司，藤澤真義，和仁洋治，松川昭博：1 型自己免疫性膵炎におけるマクロファージの分布の検討 第 102 回日本病理学会総会 2013 年 6 月 6-8 日 ロイトン札幌（北海道）
- 9) 篠倉美理，木村亮二郎，伊藤利洋，松川昭博：Spred2 発現ベクターの作製とその応用 第 102 回日本病理学会総会 2013 年 6 月 6-8 日 ロイトン札幌（北海道）
- 10) 板倉淳哉，内野かおり，藤澤真義，井上道雄，柄川剛，能登原憲司，松川昭博：皮膚腫瘍 第 111 回中四国スライドカンファレンス 2013 年 6 月 22 日 松江テルサ（島根）
- 11) 伏見聡一郎，井上博文，小田晋輔，河原明奈，板倉淳哉，平麻美，伊藤利洋，松川昭博，加藤博也，市村浩一，柳井広之：十二指腸乳頭部に発生した gangliocytic paraganglioma の細胞像と組織像の検討 第 33 回日本臨床細胞学会岡山県支部会 2013 年 7 月 6 日 倉敷中央病院
- 12) 高橋索真，平岡佐規子，伏見聡一郎，伊藤利洋，板倉淳哉，木村亮治郎，楊旭，篠倉美理，中川裕貴，住居優一，竹井大介，井口俊博，半井明日香，森藤油記，秋田光洋，原田馨太，岡田裕之，松川昭博，山本和秀：Ras/ERK 系と大腸粘膜治癒-Ras/ERK 系の阻害因子 Spred-2 の解析を通じてー 第 50 回日本消化器免疫学会総会 2013.8.1-2. ホテルグランドヒル市ヶ谷（所沢）
- 13) 松川昭博：Ras-Raf-ERK 経路からみた A 型インフルエンザ(H1N1)感染 第 18 回日本神経感染症学会総会 2013.10.11-12 シーガイアコンベンションセンター（招待教育講演）

G . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得

該当なし

2 . 実用新案登録

該当なし

3 . その他

該当なし