

H5N1 およびパンデミックウイルスのウイルス学的解析

研究分担者 河岡義裕 東京大学医科学研究所・教授

研究要旨

平成 25 年春、中国で H7N9 鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染した。H7N9 ウイルス感染例の疫学的な特徴は、高齢者男性の発症が多く、喫煙歴や慢性呼吸器疾患の合併が見られることである。そこで、喫煙マウスモデルを用いて喫煙と H7N9 ウイルス感染との関連を検討した。その結果、タバコ煙暴露群は、コントロールの空気暴露群と比較して H7N9 ウイルス感染に対して抵抗性を示した。タバコ煙暴露により、H7N9 ウイルスによる気管支の炎症の抑制効果が認められたことから、H7N9 ウイルス感染によるケモカインの発現誘導をタバコ煙暴露が阻害する可能性が示唆された。

A . 研究目的

鳥インフルエンザウイルス A(H7N9)は、平成 25 年 3 月末に中国で初めてヒト感染例が報告されて以来、確定診断された数だけでも 622 人も感染例が報告されている（平成 27 年 3 月 1 日現在）。このうち、147 人が平成 27 年に入ってからわずか 2 カ月の間に感染・発症しており、パンデミックに発展する危険性が危惧されている。致死率は季節性インフルエンザと比較して非常に高く、警戒が必要である。昨年度、当研究グループはヒトから分離された H7N9 インフルエンザウイルスの病原性を明らかにした (Watanabe et al. Nature, 26: 551-555, 2013)。ヒト分離株はサルの肺でも良く増えたことから、ヒトでの病原性が高いことを反映していると考えられる。さらに、フェ

レットを用いた実験によって、H7N9 ウイルスは限定的ながら呼吸器飛沫を介して感染することが分かった。H7N9 ウイルス感染例の疫学的な特徴は、高齢者男性での発症が多く、喫煙歴や慢性呼吸器疾患の合併が見られる。そこで本年度は、喫煙マウスモデルを用いて喫煙と H7N9 ウイルス感染との関連を検討した。

B . 研究方法

喫煙曝露システム（INH06-CIG01A，M・I・P・S 社製）を用いて 180 日間のタバコ煙暴露を C57BL/6 マウスにおこない、喫煙マウスモデルを作製した。タバコ煙暴露群のコントロールとして空気暴露群も同時に作製した。ヒトから分離した A/Anhui/1/2013

(H7N9)株(10^3 PFU)を経鼻感染し、14日間の体重モニタリングと、感染2日目と5日目に肺を採取しウイルス力価の測定、病理解析、マイクロアレイ解析をおこなった。

(倫理面への配慮)

動物実験は、東京大学医科学研究所実験動物委員会の承認のもと、東京大学動物実験規則に従って実施した。

C . 研究結果

感染前のタバコ煙暴露群の肺には炎症細胞の浸潤がみられたが、慢性閉塞性肺疾患(COPD)に特徴的な肺胞壁の破壊は顕著ではなかった。喫煙マウスモデルの作成中のタバコ煙暴露群は、空気暴露群と比較してやや体重増加も抑制されていた。しかし、H7N9 ウイルス感染後は、タバコ煙暴露群に比較して空気暴露群の方が体重減少は大きく、生残率も低かった。一方で、肺のウイルス力価はこの2群間に明らかな差は認められなかった。国立感染症研究所感染病理部による組織学的な解析の結果、2群ともに気管支上皮と肺胞にウイルス感染細胞が分布していた。しかし、ヘマトキシリン・エオシン染色で、炎症細胞の分布を比較すると、空気暴露群のほうが、気管支周囲の炎症細胞の浸潤が強かった。この組織学的な相違についてさらに検討するために、肺の遺伝子発現解析をおこなった。感染2日目と5日目の肺から抽出したRNAのマイクロアレイ解析の結果、空気暴露群では、ウイルス感染によって多くの遺伝子発現の変動がみられた。タバコ煙暴露群では、少数の遺伝子だけが発現変動していた。さらに、細胞浸潤に関連するケモカイン CCL24 と CXCL3 は、空気暴露群では発現上昇してい

たが、タバコ煙暴露群では、ほとんど変化していなかった。

D . 考察

喫煙マウスは、我々の予想に反して、H7N9 ウイルスの攻撃に対して抵抗性を示した。H7N9 ウイルス感染による気管支の炎症に対して、タバコ煙暴露による抑制効果が示唆された。タバコ煙暴露は、H7N9 ウイルス感染によるケモカインの発現誘導を阻害する可能性が示唆された。今後は、これらのケモカインの H7N9 感染による肺の炎症における役割を解析し、喫煙によるインフルエンザ病原性の抑制効果のメカニズムを解明する予定である。

E . 結論

タバコ煙暴露群は、コントロールの空気暴露群と比較して H7N9 ウイルス感染に対して抵抗性を示した。タバコ煙暴露が H7N9 ウイルス感染によるケモカインの発現誘導を阻害している可能性がある。

F . 研究発表

1 . 論文発表

Yamayoshi S, Yamada S, Fukuyama S, Murakami S, Zhao D, Uraki R, Watanabe T, Tomita Y, Macken C, Neumann G, Kawaoka Y. Virulence-affecting amino acid changes in the PA protein of H7N9 influenza A viruses. **J Virol** 88:3127-3134, 2014.

Neumann G, Macken CA, Kawaoka Y. Identification of amino acid changes that may have been critical for the genesis of

A(H7N9) influenza viruses. **J Virol**
88:4877-4896, 2014.

Sakai-Tagawa Y, Ozawa M, Yamada S,
Uchida Y, Saito T, Takahashi K, Sugaya N,
Tashiro M, Kawaoka Y. Detection
sensitivity of influenza rapid diagnostic
tests. **Microbiol Immunol** 58:600-606,
2014.

2 . 学会発表
該当なし

G . 知的所有権の取得状況
該当なし

