

インフルエンザウイルス感染症に対する新たな治療戦略

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 免疫病理学

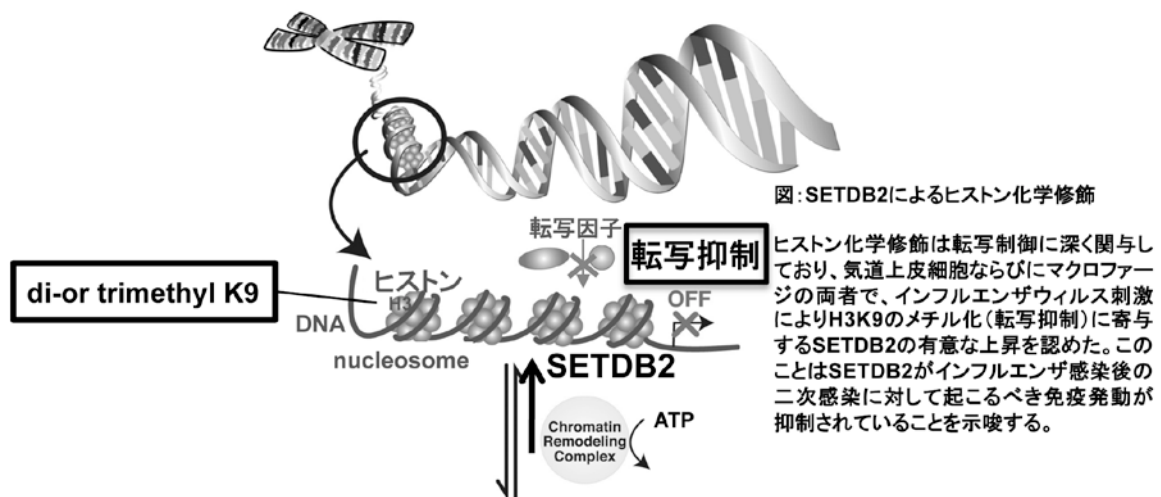
伊藤 利洋

1. 目的 背景

インフルエンザウイルス感染症は、毎年継続して感染流行を起こし、社会活動にも大きな影響を与えている。インフルエンザウイルス感染単独による死亡率は低いが、インフルエンザウイルス感染症は細菌性肺炎などの二次感染の危険性を高め、二次感染を併発すると死亡率は飛躍的に上昇する。インフルエンザウイルス感染症による死亡原因に関する疫学調査では1918年のスペイン風邪では死者の80%以上、2009年の新型インフルエンザでも死者の50%以上が二次性細菌性肺炎で死亡していることが報告されている。

ウイルスおよび細菌感染時に初期生体防御に重要な役割を果たすのは、気道上皮細胞ならびに自然免疫を担うマクロファージである。そこで申請者は気道上皮細胞ならびにマクロファージをインフルエンザウイルスならびに Type-I interferon (IFN-I) で刺激し、Superarray system を用いてエピジェネティックマーカーの発現解析を網羅的に行ったところ、気道上皮細胞ならびにマクロファージの両方で、H3K9 のメチル化 (H3K9me; 転写抑制) を誘導する酵素 SET domain, bifurcated 2 (SETDB2) の有意な上昇を認めた。この事実は気道上皮細胞ならびにマクロファージがヒストン化学修飾を受け SETDB2 が転写制御の抑制に関与することを示唆する。

以上から、インフルエンザウイルス感染時に必須な気道上皮細胞やマクロファージ ヒストン化学修飾を受け、細菌感染時に生体防御に必要なサイトカインの産生やクリアランスに関わる因子の転写制御が抑制されるのではないか、という着想するに至った。



2. 方法

- (1) インフルエンザウイルス感染に伴う気道上皮細胞・マクロファージにおける SETDB2 の発現機構を明らかにする。

気道上皮細胞株 (MLE-12) やマクロファージ細胞株 (RAW264.7) を用いて、SETDB2 の発現メカニズムを解明する。

- (2) インフルエンザウイルス肺炎死亡例の剖検肺組織でのヒストン化学修飾解析を行う

インフルエンザウイルス肺炎死亡例の剖検肺組織を用いて、免疫組織化学染色を行う。またパラフィン包埋組織から RNA を抽出し、SETDB2 の発現を健常肺と比較する。

- (3) インフルエンザウイルス感染モデルにおけるヒストン化学修飾解析を行う
 マウスにインフルエンザウイルス肺炎を誘導し、肺におけるヒストン化学修飾を誘導する酵素 (SETDB2 を含む) の同定ならびに局在を明らかにする。
- (4) インフルエンザウイルス感染に併発する二次感染モデルの病態を明らかにし、予防ならびに治療の可能性を検討する。
 インフルエンザウイルスと肺炎球菌による二次性細菌性肺炎モデルを作成し、二次性細菌性肺炎モデルにおける SETDB2 の関与を明らかにする。

3. 結果

- (1) 気道上皮細胞株 (MLE-12) やマクロファージ細胞株 (RAW264. 7) にインフルエンザウイルス (H1N1) や type-I IFN で刺激すると、SETDB2 ならびに H3K9me が誘導された。
- (2) インフルエンザウイルス肺炎死亡例の剖検肺組織における遺伝子発現では、健常肺と比較し、SETDB2 の有意な上昇を認めた (表 1)。また免疫組織化学染色では、気道上皮細胞やマクロファージに SETDB2 ならびに H3K9me の発現が見られた一方、健常肺では染色が見られなかった。
- (3) マウスにおけるインフルエンザ感染モデルにおいても、気道上皮細胞やマクロファージに SETDB2 ならびに H3K9me の発現が見られた。また IFN-I のレセプター欠損マウス (IFN α R-KO マウス) では SETDB2 の誘導が見られず、SETDB2 の発現は IFN-I 依存性である事が証明された (表 2)。
- (4) インフルエンザウイルスと肺炎球菌による二次性細菌性肺炎モデルにおいて、SETDB2 が誘導されない IFN α R-KO マウスでは、Wild-type と比較して生存率の有意な改善が見られた。さらに IFN α R-KO マウスでは、Amphiregulin の有意な上昇が見られた。
- (5) MLE-12 細胞株に Amphiregulin を siRNA でノックダウンを行い、インフルエンザウイルス (H1N1) や type-I IFN で刺激すると、Amphiregulin の発現上昇が見られ、SETDB2 が Amphiregulin の発現を制御している事が示唆された。

表 1: 剖検肺における SETDB2 の発現

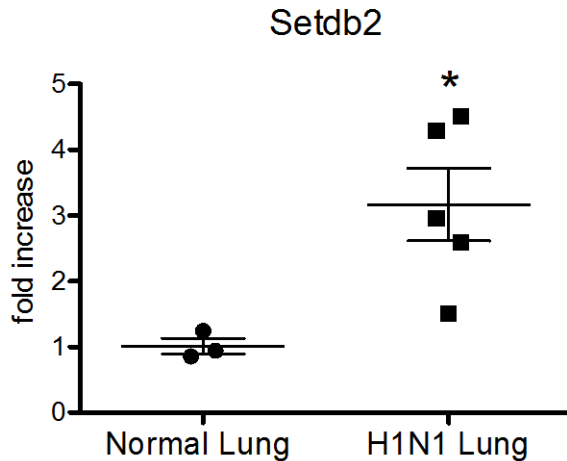
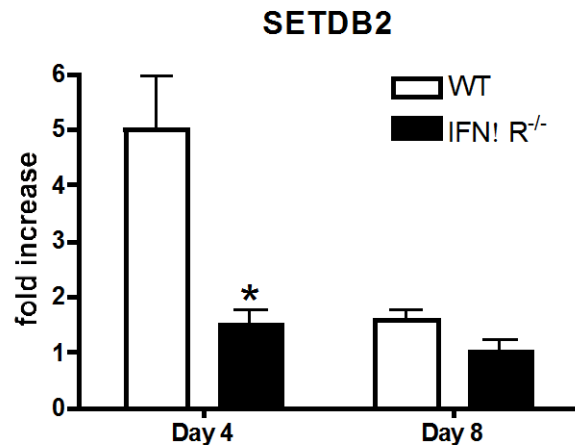


表 2: インフルエンザウイルス感染モデルにおける SETDB2 の発現



4. 考察 まとめ

インフルエンザウイルスによりヒストンメチル化酵素である SETDB2 が誘導され、転写抑制が誘導される。この SETDB2 は気道上皮細胞とマクロファージに特異的に発現が見られ、ヒトインフルエンザウイルス感染症の剖検肺においても証明された。SETDB2 の発現は抗ウイルス作用を持つ Type-I IFN 依存性であり、二次性細菌性肺炎においては Type-I IFN は増悪因子であることが証明され、SETDB2 によって二次性細菌性肺炎に対する防御機構に重要な因子が抑制されている可能性が示唆された。その抑制因子の一つとして Amphiregulin が示唆された。Amphiregulin はインフルエンザウイルス感染後の肺の恒常性や機能維持 (参考文献 1) ならびに、二次性細菌性肺炎における生存率の改善に寄与する (参考文献 2) ことが報告されている。ChIP-sequence にて Amphiregulin のプロモーター領域に SETDB2 によって誘導される H3K9 のメチル化が関与されているのか、更なる検討を継続して行っている。本研究の成果は、インフルエンザウイルス感染症ならびに併発する二次性細菌性肺炎に対する分子基盤解明に基づく新規予防・治療法開発への貢献が期待される。

5. 参考文献

【参考文献】

- 1) Monticelli LA, Sonnenberg GF, Abt MC, Alenghat T, Ziegler CG, Doering TA, Angelosanto JM, Laidlaw BJ, Yang CY, Sathaliyawala T, Kubota M, Turner D, Diamond JM, Goldrath AW, Farber DL, Collman RG, Wherry EJ, Artis D. Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. *Nat Immunol.* 12:1045-54,2011
- 2) Jamieson AM, Paskan L, Yu S, Gamradt P, Homer RJ, Decker T, Medzhitov R. Role of tissue protection in lethal respiratory viral-bacterial coinfection. *Science* 340:1230-4, 2013