

ヒト気管上皮細胞における鳥インフルエンザウイルスの感染機構の解明

大道寺智

京都府立医科大学医学研究科

【研究の背景】

鳥インフルエンザウイルス(以下インフルエンザウイルスを Flu と略す)は人獣共通の感染症であり、公衆衛生学上、世界規模の問題である。ヒトの国内感染例は現在までに報告されていないが、世界中で多くの感染患者が報告されており、致死率も高く、その病態解明が求められる。

鳥 Flu は表面蛋白のヘマグルチニンにより鳥の呼吸器並びに腸管に発現しているガラクトースに α 2,3 結合したシアル酸 (SA α 2,3Gal) を認識する。一方でヒトの下気道末端においてもその存在が確認され¹⁾、実際にウイルスが深部呼吸器組織に結合する様子も報告されている²⁾。申請者も以前の研究において、ヒト細気管支部位より樹立した細胞株を用いて、ヒト深部呼吸器の上皮細胞が鳥 Flu に対し感受性を示すことを報告した^{3,4)}。特に現在ヒトへの感染で問題となっている H5 亜型を含む鳥 Flu の感染動態について、上記樹立細胞の系でその詳細を評価してきた。その一方で細気管支よりも上位のヒト気道上皮において、鳥 Flu がどの程度感染するのかについてはよくわかっておらず、その解明が求められる。

【目 的】

現在までに鳥 Flu に対する感受性のよくわかっていないヒト気管部位由来の上皮細胞株を樹立し、鳥 Flu に対する感染動態を評価することを目的とした。またその中で、ヒト季節 Flu の結果と比較検討を行うこととした。

【方 法】

ヒト初代気管上皮細胞より複数の細胞株を樹立し、鳥 Flu に対する感受性を評価した。ここでは、従来より鳥間でのみ流行しているウイルス株と現在ヒトで問題となっている亜型の株を複数用いて解析を行い、さらに季節性 Flu の結果と比較検討を行った。ここでは鳥 Flu のうち、分離された年代・地域ともに、様々なウイルス株を用いて解析を行った。またウイルス感受性を規定する機構について細胞側の観点から検討を行い、一方で、ウイルス株間においてウイルス感染性の違いを生む機構をウイルス側の観点から検討を行った。

【結 果】

本研究では、初代ヒト気管上皮細胞由来の継代可能な細胞株を複数株樹立することに成功した。またこれらに対し鳥 Flu の感染試験を行いその感受性を評価したところ、ウイルスの種類により程度は異なるものの、用いた全てのヒト気管上皮細胞株は鳥 Flu に対し、感受性を示すことがわかった。またウイルス感染を規定する要因について評価するために、ウイルスレセプターの解析を行ったところ、鳥ウイルスに対するシアル酸レセプター (SA α 2,3Gal) についても、細胞株によって程度の差はあるものの発現を確認した。一方で、ウイルスの感染性の違いについて、用いたウイルス株ごとに比較をしたところ、鳥 Flu 株の中には季節性 Flu と同程度の高い感染性を示すものもあった。さらにウイルス粒子の細胞表面への結合を評価したところ、ヒトの季節性 Flu と同様にその結合を認めることができた。またその結合量は必ずしもウイルス感染性と相関していなかった。

【考 察】

本研究で樹立した細胞株は鳥 Flu に対し感受性を示し、鳥 Flu 感染評価系のためのモデルとなり得ることが示唆された。用いた鳥 Flu は、ウイルス株の種類によりその感染性が異なっており、感染性と細胞表面へのウイルス結合量との間には必ずしも関連が見られなかったことから、気管上皮細胞株においては細胞内へのウイルス侵入後の過程で、ウイルス-細胞間の相互作用により感染が規定されているものと考えられる。現在その詳細について解析を進めている。また樹立した複数の細胞株の間で観察されたウイルス感受性の差は、由来している初代気管上皮細胞に含まれる細胞集団が、呼吸器上皮を形成する組織学的に異なる細胞に起因することによると考えられ、今後細胞種とウイルス感受性との関係について評価することは意義深い。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

ヒトにおいて鼻粘膜や気管上皮は呼吸器ウイルスが高率に暴露される部位であり、これらの部位でのウイルス増殖は深部呼吸器(細気管支、肺)における感染を促し、病態を悪化させることが容易に想像できる。そのため細気管支よりも上位の気道部位での鳥 Flu の感染動態を評価することは、今までに主な鳥 Flu の感染部位とされてきた細気管支部位や肺における感染動態の評価と同様に重要なことと考える。本研究において、ヒト気管部位においても、ウイルス株の種類により程度の差はあれ、鳥 Flu への感受性が示されたことは、ウイルス学、医学、公衆衛生学の各分野において意義深く、今後の予防策、治療法を考える上での基盤となることが期待される。

【参考・引用文献】

1. Shinya K, Ebina M, Yamada S, Ono M, Kasai N, Kawaoka Y. Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature*. 2006, 440:435-6.
2. van Riel D, Munster VJ, de Wit E, Rimmelzwaan GF, Fouchier RA, Osterhaus AD, Kuiken T. H5N1 Virus Attachment to Lower Respiratory Tract. *Science*. 2006, 312:399.
3. Tomo Daidoji, Yohei Watanabe, Madiha S. Ibrahim, Mayo Yasugi, Hisataka Maruyama, Taisuke Masuda, Fumihito Arai, Tomoyuki Ohba, Ayae Honda, Kazuyoshi Ikuta, Takaaki Nakaya. Avian Influenza Virus Infection of Immortalized Human Respiratory Epithelial Cells Depends upon a Delicate Balance between Hemagglutinin Acid Stability and Endosomal pH. *J Biol Chem*. 2015, 290:10627-10642.
4. Tomo Daidoji, Yohei Watanabe, Yasuha Arai, Junichi Kajikawa, Ryohei Hirose, Takaaki Nakaya. Unique Infectious Strategy of H5N1 Avian Influenza Virus Is Governed by the Acid-Destabilized Property of Hemagglutinin. *Viral Immunol*. 2017, 30:398-407.

【謝辞】

本研究遂行にあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人 先進医薬研究振興財団に深謝いたします。