

論 文 内 容 要 旨

題目 IL-1 β is a key cytokine which induces trypsin upregulation in influenza virus—cytokine—trypsin cycle

(IL-1 β はインフルエンザウイルス—サイトカイン—トリプシンサイクルにおけるトリプシンの発現増加を誘導する鍵となるサイトカインである)

著者 I. L. Indalao, T. Sawabuchi, E. Takahashi, H. Kido
平成 28 年発行 Arch Virol に掲載予定 (採択、2016 年 8 月 5 日)

内容要旨

インフルエンザ感染の重症化は、代謝の未熟な乳幼児や代謝障害を持つ慢性疾患患者や高齢者に多く、その対策が強く望まれている。インフルエンザウイルスの増殖と、サイトカインストームが導く血管内皮細胞の機能障害と多臓器不全に、インフルエンザウイルス—サイトカイン—トリプシンサイクルが深く関与している。このサイクルの回転に、感染宿主細胞のトリプシンの発現増加が必須であることを、我々はこれまでに報告してきた。本研究では、インフルエンザ感染と共に誘導される各種サイトカインの中で、トリプシンの発現誘導の鍵となるサイトカインの存在を想定して解析を試みた。

5週齢のSPF雌マウスと、培養ヒト肺胞II型上皮癌細胞 (A549細胞) に、influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) (PR8) を感染させて、各種サイトカインとトリプシンの発現増加をモニターすると共に、マウスの肺における炎症性細胞の浸潤をモニターした。PR8をマウスに経鼻感染させると、感染ウイルス量に依存して、感染後3日目のIL-1 β 、IL-6、TNF- α 発現量は増加してピークを示し、その後徐々に減少したが、トリプシンは3日目に発現ピークを示し、その後8日目まで持続的に高値を維持した。PR8の経鼻感染の代わりに、IL-1 β 、IL-6、TNF- α のそれぞれ、あるいは種々の組み合わせを腹腔内注射してトリプシンの発現増加をモニターしたところ、これらのサイトカイン単独投与ではトリプシンの発現増加は見られなかったが、IL-1 β を含む少なくとも複数のサイトカイン共存下でのみトリプシンの発現増加とマウスの体重低下が見られた。このことから、インフルエンザ感染に伴うトリプシン誘導のシグナル伝達カスケードの中で、IL-1 β はその上位に位置して不可欠な役割を担っていると推定された。A549細胞の培地中にIL-1 β を添加した場合、添加後2~4時間目に培地中の

様式 (8)

IL-1 β の急速な増加が認められ、続いて4~6時間目にはIL-6、TNF- α の急速な増加が観察された。細胞内トリプシンIの発現増加は、これら全てのサイトカインが増加した添加後8時間目に有意な増加を認めた。IL-1 β の刺激は、トリプシンI以外にトリプシンII、IIIの発現増加についても、添加後8時間をピークに誘導が観察された。一方、IL-1 β 特異抗体によるIL-1 β の中和は、A549細胞でのこれらサイトカインとトリプシンIの誘導を、全て有意に減少させた。さらにIL-1 β 特異抗体を、PR8ウイルス経鼻感染の1時間前にマウスの腹腔内に注射したところ、インフルエンザ感染による肺の炎症性細胞の浸潤を、コントロールとして投与したマウスのIgGや生理食塩水と比較して、有意に抑制した。

以上の結果から、インフルエンザウイルス-サイトカイン-トリプシンサイクルにおいて、IL-1 β はサイトカインの中で中心的な役割を担い、肺のトリプシンの発現増強と、その後の肺の炎症に関与していることが明らかになった。このことから、感染重症化の早期治療に、IL-1 β の作用抑制が有効であることが推定された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第1300号	氏名	Irene Lorinda Indalao
審査委員	主査 福井 清 副査 坂口 末廣 副査 齊藤 達哉		

題目 IL-1 β is a key cytokine which induces trypsin upregulation in influenza virus-cytokine-trypsin cycle

(IL-1 β はインフルエンザウイルス-サイトカイン-トリプシンサイクルにおけるトリプシンの発現増加を誘導する鍵となるサイトカインである)

著者 I. L. Indalao, T. Sawabuchi, E. Takahashi, H. Kido
 平成28年発行 Arch Virol に掲載予定
 (主任教授 木戸 博)

要旨 申請者の研究室では、これまでインフルエンザ重症化の機序を解析して、インフルエンザウイルス-サイトカイン-トリプシンサイクルがウイルスの増殖と、サイトカインストームが導く血管内皮細胞機能障害と多臓器不全に深く関与していることを明らかにしてきた。本研究は、インフルエンザウイルス感染によって誘導される各種サイトカインの中で、トリプシンの発現誘導の鍵となるサイトカインの存在を想定して、その同定を試みた。

5週齢のSPF雌マウスと、培養ヒト肺胞II型上皮癌細胞(A549細胞)に、influenza A/Puerto Rico/8/34(H1N1)(PR8ウイルス株)を感染させて、各種サイトカインとトリプシンの発現誘導、マウス肺の炎症性細胞の浸潤をモニターした。PR8株をマウスに経鼻感染させると、感染ウイルス量に依存して、肺のIL-1 β 、IL-6、TNF- α とトリプシンの発現量は増加した。ウイルス感染の代わりに、IL-1 β 、IL-6、TNF- α のそれぞれ、あるいは種々

の組み合わせを腹腔内注射してトリプシン発現増加をモニターすると、これらのサイトカイン単独投与ではトリプシン発現の増加は見られなかったが、IL-1 β を含む少なくとも複数のサイトカイン共存下でトリプシン発現の増加とマウスの体重低下が認められた。一方、A549細胞にIL-1 β を添加した場合、添加2～4時間後に培地中のIL-1 β の増加を、続いて4～6時間後にIL-6、TNF- α の増加を認め、細胞内トリプシンIの発現増加は、これらのサイトカインが増加した添加8時間後に有意な増加を認めた。IL-1 β のこの発現増強効果は、トリプシンI以外にトリプシンII、IIIについても観察された。一方、IL-1 β 特異抗体でIL-1 β を中和すると、A549細胞でのこれらのサイトカインとトリプシンIの誘導を有意に抑制した。さらにPR8株の経鼻感染1時間前に、IL-1 β 特異抗体をマウス腹腔内に注射したところ、インフルエンザ感染による炎症性細胞の肺浸潤を、コントロール群に比較して有意に抑制した。

以上の結果から、インフルエンザウイルス-サイトカイン-トリプシンサイクルにおいて、IL-1 β はサイトカインの中で中心的な役割を担い、肺のトリプシン発現増強と、肺の炎症に関与していることが明らかになった。

以上の成果は、インフルエンザ重症化の治療に、IL-1 β の抑制が有効であることを示唆しており、今後この方面の研究の発展に資する意義は大きく学位授与に値すると判定した。