

## 学位論文の関連論文の研究背景及び要旨

### 研究の背景

2009年にH1N1パンデミック[A(H1N1)pdm09]は世界的流行となり、小児において明らかに高い罹患率を示し、A(H1N1)pdm09により死亡したケースのおよそ80%は65歳以下であった。A(H1N1)pdm09も季節性インフルエンザも臨床的な症状は類似していたものの、A(H1N1)pdm09の多くの重症例や死亡例は、基礎疾患のある患者のみならず、健康な小児や若年者にも見られた。A(H1N1)pdm09感染で入院した患者において気管支喘息はもともと一般的な基礎疾患であるとの報告が散見された。さらに、喘息のある小児はA(H1N1)pdm09ウイルスへの感染の感受性が高く、A(H1N1)pdm09感染の頻度は喘息のない小児に比べて有意に高かった。

A(H1N1)pdm09の小児患者は季節性H1N1の患者に比して穏やかな症状を呈した。しかしながら、肺炎や急性呼吸窮迫症候群を含む重症な呼吸器疾患はA(H1N1)pdm09感染の小児や若年者に見られた。小児においては、気管支喘息は入院や集中治療のリスクを高めると報告された。我々は以前に、季節性インフルエンザとは異なり、A(H1N1)pdm09は喘息モデルマウスへの感染後7日日において重篤な肺の炎症を引き起こすことを報告した。しかしながら、A(H1N1)pdm09感染では潜伏期間は7日よりも短いため、患者の肺の症状と全身状態の悪化は感染後早期に起こると考えた。ウイルス感染後に気管支喘息が悪化することはよく見られるため、我々は炎症性サイトカインであるインターロイキン-6(IL-6)、腫瘍壊死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )や抗炎症サイトカインであるインターロイキン-10(IL-10)や抗ウイルスサイトカインであるインターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )やヘルパーT2サイトカインであるインターロイキン-4(IL-4)やインターロイキン-13(IL-13)などのサイトカインストームが、A(H1N1)pdm09感染後の肺で起こっているのではないかと考えた。しかしながら、気管支喘息患者の、A(H1N1)pdm09感染に対する宿主としての早期の反応についてはほとんど知られていない。

したがって、この実験ではA(H1N1)pdm09または季節性インフルエンザを感染させた喘息モデルマウスの気管内のサイトカイン産生やウイルス力価、肺の炎症について感染後1初めの7日間の一連の変化を研究した。

### 要旨

この研究では我々は、A(H1N1)罹患後の喘息患者における早期の病態生理学的な特徴を明らかにすることを目的とした。喘息と非喘息のモデルマウスをA(H1N1)pdm09または季節性インフルエンザに感染させ、感染後2日目、3日目、7日目に気管支肺胞洗浄液(BAL)または肺組織を採取し、BAL中の種々のサイトカイン濃度とウイルス力価、CD4陽性細胞、CD8陽性細胞、好酸球数および好中球数を測定した。また、肺の病理組織学的検討としてヘマトキシリン・エオジン染色およびインフルエンザA核蛋白抗原(InfA NP)に対する免疫

組織化学的実験を行い、肺の炎症の程度や A(H1N1)pdm09 感染細胞の分布について検討した。

喘息/A(H1N1)pdm09 マウス群において、IL-6 と TNF- $\alpha$  が感染後 3 日にピークを形成し、他のどの群よりも高値であった。IFN- $\gamma$  は、喘息/A(H1N1)pdm09 マウス群において、感染後 3 日においては、他のどの群よりも高値であったが、感染後 7 日目においては、他のどの群よりも低値となっていた。すべての感染群で総細胞数、リンパ球数、CD4 陽性細胞数および CD8 陽性細胞数は感染後 3 日目に上昇し、その後 7 日目に減少した。

ウイルス力価は喘息/A(H1N1)pdm09 マウスにおいて、感染後 3 日目で最も高値であり、7 日目にかけて減少したが、7 日目においても他のどの群よりも高値であった。

喘息/A(H1N1)pdm09 マウスにおいては、組織病理学的所見からも炎症細胞の浸潤や肺組織の破壊が、他のどの群よりも高度であった。免疫染色では多くの InfA-NP 陽性細胞が喘息/A(H1N1)pdm09 マウス及び非喘息/A(H1N1)pdm09 マウスの肺に、感染後早期から多くの InfA-NP 陽性細胞が見られた。しかし季節性 H1N1 感染群での肺では陽性細胞が見られなかった。

これらのサイトカインプロファイルや病理組織所見および免疫組織化学的所見より、A(H1N1)pdm09 に感染した気管支喘息マウスは、感染後早期において、高いウイルス力価を伴い炎症性サイトカインの産生が過剰となり、逆に抗ウイルスサイトカインの産生は低下する特徴的なサイトカイン動態を示し、肺において過度な炎症とウイルスの増殖が起こっていることが示された。したがって、A(H1N1)pdm09 感染時において気管支喘息は、季節性インフルエンザ感染時よりも病状を悪化させる因子になりうることを示唆された。