

■受領No.1343

マイクロバイームによるインフルエンザウイルス特異的な免疫応答の制御

代表研究者

一戸 猛志

東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター 准教授



1. 研究目的

腸内細菌は、腸管でのリンパ節の形成、IgA 産生、制御性 T 細胞 (Treg)、Th17 細胞の分化・誘導、腸上皮細胞の再生などさまざまなことに影響を与えている (Hooper et al. Science 2012)。しかし、腸内細菌が、腸管以外の粘膜免疫、特にウイルスに対する粘膜免疫応答に影響を与えているかについては、全く理解されていなかった。申請者らは、4 種類の抗生物質を混ぜた飲み水を与えたマウス (図 1 A. 抗生物質マウス) では、腸内細菌数の低下とその割合に変化がみられること (図 1 C-D)、さらに抗生物質マウスに、非致死量のインフルエンザウイルスを感染させると、ウイルスに特異的な T 細胞応答 (図 1B) が減弱することを世界で初めて明らかにした (Ichinohe et al. PNAS 2011)。このことから、腸内細菌がインフルエンザ

ウイルス特異的な免疫応答の惹起に重要な役割を果たしていることが示唆された。これらの知見は、我々とは別の独立したグループも再現性を示しており確かなことである (Abt et al. Immunity, 2012)。また、季節性のインフルエンザワクチンを用いた場合にも、抗生物質マウスや無菌マウスではそのワクチン効果 (具体的にはワクチン特異的な血液中の IgG 応答など) が減弱することが報告されている (Oh et al. Immunity, 2014)。しかし 100 種類以上存在する腸内細菌のうちどの腸内細菌がこのようなウイルス特異的な免疫応答の惹起に役立っているのかはいまだに不明である。そこで本研究では、無菌マウスに単独の腸内細菌を生着させて、ウイルス特異的な免疫応答の回復に必要なマウスまたはヒト腸内細菌を同定することを目的とした。

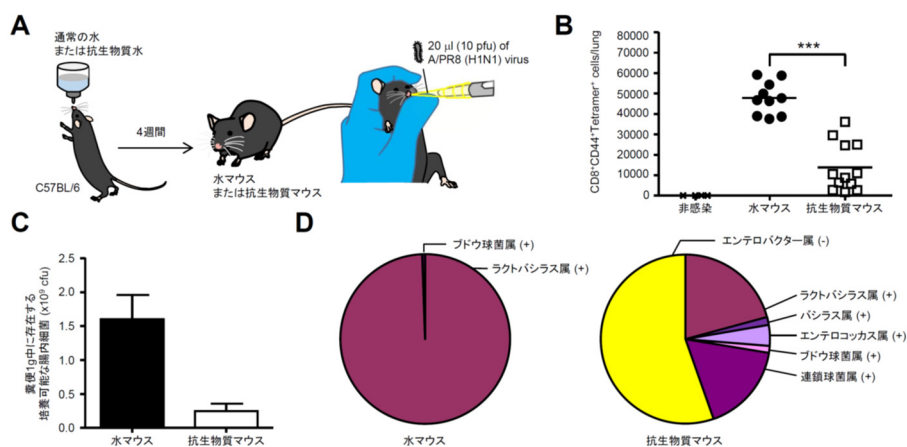


図1 抗生物質マウスにおけるインフルエンザウイルス特異的な免疫応答 (Ichinohe et al. PNAS 2011 より改変して引用)

2. 研究内容

申請者らはこれまでに、抗生物質を処理したマウス（抗生物質マウス）では、腸内細菌数の低下とその割合に変化がみられること、さらにインフルエンザウイルスに特異的な免疫応答が減弱することを報告した (Ichinohe et al. PNAS 2011)。本研究では、マウスのインフルエンザウイルス感染モデルを用いて、インフルエンザウイルス特異的な免疫応答の惹起に必要な腸内細菌を同定することを目的として研究をスタートさせた。まず生まれつき常在菌を持たない無菌マウスにおいても同様に、インフルエンザウイルス特異的な免疫応答が減弱しているかを確認するために、C57BL/6 無菌マウス（三協ラボサービス）と SPF マウスに非致死量（10 pfu）のインフルエンザウイルス（A/PR8）を経鼻的に感染させた (Ichinohe et al. J Exp Med. 2009)。感染 14 日後の血中のウイルス特異的 IgG 抗体価を ELISA 法で、肺のウイルス特異的 CTL を H-2Db Influenza NP Tetramer (MBL) による染色後のフローサイトメトリー解析したところ、無菌マウスにおけるインフルエンザウイルス特異的な IgG 抗体価、およびインフルエンザウイルス特異的な CTL 応答には大きなバラつきが認められ、無菌マウスを用いた実験では確実な結論を得ることが難しかった。この原因は、無菌マウスがビニールアイソレーター内で飼育されているため、通常の操作よりもハンドリングが難しく、インフルエンザウイルスを感染させる際にバラつきがみられたことが考えられる。また、インフルエンザウイルスの懸濁液を入れてチューブを外からビニールアイソレーター内へ入れる際、消毒液を十万させて 2 時間放置する必要があるが、この過程でインフルエンザウイルスが力価が低下してしまったことも考えられる。これらの実験データのばらつきをなくすためには、ビニールアイソレーター内における実験系に何らかの工夫（ビニールアイソレーター内でウイルスの希釈を行う等）が必要であると考えられた。無菌マウスにおけるインフルエンザウイルス特異的な免疫応答の解析は引き続き検討を行う。

次に、ネオマイシン単独を 4 週間飲ませた場合、インフルエンザウイルス特異的な CTL 応答にばらつきが認められたため、CTL 応答の高いマウスを high responders、CTL 応答の低いマウスを low responders として、両群のマウスに腸内細菌叢の違いを解析したが、両群における腸内細菌叢の割合に大きな変化は認められなかったことから、特定の腸内細菌がインフルエンザウイルス特異的な免疫応答の惹起に役立っている、もしくはインフ

ルエンザウイルス特異的な免疫応答を抑制しているのではなく、腸内細菌の数そのものがインフルエンザウイルス特異的な免疫応答の誘導に必要である可能性を示唆している。もう一つの可能性としては、インフルエンザウイルスを感染させる時点での腸内細菌叢の割合が重要で、腸内細菌叢の解析を行ったインフルエンザウイルスを感染させてから 10 日後の腸内細菌叢の解析では、インフルエンザウイルス特異的な免疫応答の誘導に必要な腸内細菌を見落としている可能性もある。これらの可能性を考慮して、今後はインフルエンザウイルス感染 10 日後の腸内細菌叢の解析ではなく、インフルエンザウイルス感染前後における経時的な腸内細菌叢の解析を行っていく必要があると考えられた。

3. 発表（研究成果の発表）

1. 一戸猛志「腸内細菌とインフルエンザ」日本薬学会第138年会、招待講演
2. 一戸猛志「腸内細菌とインフルエンザ」日本保険医学会研究講演会、招待講演
3. 一戸猛志「腸内細菌とインフルエンザ」第113回日本内科学会総会・講演会、招待講演
4. 森山美優、一戸猛志「腸内細菌とインフルエンザ」小児科臨床、Vol 7, No. 5, P.637-644. 2017
5. 森山美優、一戸猛志「ウイルス感染と腸内細菌」Current Therapy、Vol 34, No. 11, P55-59. 2016