

分担課題：感染症による不育症に関する研究

研究分担者 早川 智 日本大学医学部病態病理学系微生物学分野教授

#### 研究要旨

感染症は流産・早産の原因の一つである。臨床的にはクラミジアやウレアプラズマなどの関与が注目されているが、他の細菌やウイルスの関与も否定できない。我々は従来肺胞上皮と消化管上皮でしか複製しないと考えられていた低毒性の通常型インフルエンザウイルス（H3N2）がヒト絨毛癌細胞で効率よく複製し、細胞をアポトーシスに陥らせること、細胞の分化の程度によりインフルエンザウイルス感受性が異なることを明らかにした。

#### A. 研究目的

現在、新型インフルエンザによるパンデミックが危惧されている。インフルエンザパンデミックの直後は流産や早産が著しく増加することが知られ、その機序は炎症性サイトカインの誘導と考えられてきた。また妊娠中期に母体がインフルエンザウイルスに感染した場合、軽症であっても出生した児が思春期以降に統合失調症を発症するリスクが高まることが報告されているが、詳細な機序は不明である。我々はインフルエンザウイルスが胎盤を直接傷害する可能性を検討するため、絨毛癌細胞株を用いて感染実験を行った。

#### B. 研究方法

ヒト絨毛癌細胞株 BeWo を Ham' s F-12 medium に 10% fetal bovine serum (FBS) と  $100 \text{ Uml}^{-1}$  penicillin,  $100 \text{ Uml}^{-1}$  streptomycin を加えた培地で、培養した。50  $\mu\text{M}$  forskolin を添加し BeWo の分化誘導を行った。BeWo に A/Udorn/72 インフルエンザウイルス (H3N2) あるいは、不活化したインフルエンザウイルスを MOI=5 または 10 で感染させ、感染 8 時間、24 時間後に抗インフルエンザウイルス蛍光抗体で免疫染色し、感染細胞を検出した。また、HA 法とプラーク法を用いて培養上清中のインフルエンザウイルス量を測定した。細胞のアポトーシスを DNA ladder の検出により検討した。

#### (倫理面への配慮)

日本大学医学部バイオリスク管理委員会の承諾を得ている

#### C. 研究結果

感染 8 時間後から細胞質内にウイルスタンパクが検出された。また、核の断片化と DNA ladder 形成よりアポトーシスの出現を認めた。培養上清中に HA 活性を認めたが、forskolin を用いて分化誘導した BeWo では HA 活性がみられなかった。ただし、HA 活性とプラーク法の乖離をみることであり、defective なウイルス複製が生じている可能性が示唆された。

#### D. 考察

従来型 (H3N2, H1N1 など) の、インフルエンザウイルスは肺胞上皮と消化管上皮のみで複製し、高毒性株 (H5N1 など) は全身で複製するために予後が悪いと考えられている。我々の研究結果より、通常型のインフルエンザウイルスが胎盤の主要構成細胞である trophoblast で効率よく複製し、細胞をアポトーシスに陥らせることが明らかになった。面白いことに胎児面にあつて、母体由来の influenza virus に接触する syncytial trophoblast は感受性が低く、直接接触する機会のない cytotrophoblast に感受性が高かった。通常型のインフルエンザではウイルス血症を来すことは稀であり、これが

生じるような重症例や全く免疫を持たない新型コロナウイルスの感染、さらに何等かの機序による胎盤関門の破綻がある場合に胎盤に強い傷害を与える可能性がある。

#### E. 結論

絨毛癌細胞はインフルエンザウイルスに感受性がある。妊娠中にインフルエンザウイルスに感染すると、胎盤が直接傷害され、低酸素状態や代謝障害によって胎児の神経学的発育に影響を及ぼす可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Komine-Aizawa S., et al. 投稿中
- 2) Quang T et al. 投稿中
- 3) Shibata K., Tanaka T., Shimizu K., Hayakawa S., Kuroda K. :Immuno-fluorescence imaging of the influenza virus M1 protein is dependent on the fixation method. J. Virol. Method. in press.

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shibata K., Tanaka T., Shimizu K., <u>Hayakawa S.</u> , Kuroda K.	Immunofluorescence imaging of the in- fluenza virus M1 protein is depende- nt on the fixation method.	J. Virol. Method.		in press	