◆トピックス◆

インフルエンザウイルスの感染感受性と感染臓器特異性を決める個体のプロテアーゼ群

木戸 博*, CHEN Ye*, 山田 博司*, 奥村 裕司*

Host cellular proteases which determine the susceptibility and organ tropism of human influenza virus infection

Hiroshi KIDO*, Ye CHEN*, Hiroshi YAMADA* and Yuushi OKUMURA*

Key words: influenza virus, organ tropism, serine protease, mini-plasmin, influenza encephalopathy

木戸 博

徳島大学分子酵素学研究センター 教授
1977 年：徳島大学大学院医学研究科卒業
1979 年：米国ロッシュ分子生物学研究所 研究員
1981 年：徳島大学医学部酵素研究施設 助手
1989 年：徳島大学酵素科学研究センター 助教授
1993 年より現職
専門領域：生化学、分子生物学

1. はじめに

ヒトに感染するインフルエンザウイルスは強い感染能を示すが、意外な事に細胞から出芽したばかりのウイルスは、レセプターである細胞膜のシアール酸への結合性はあるものの細胞への侵入はできない¹⁾。ウイルスが感染性を獲得するためには、ウイルス外膜タンパク質のヘマグルチニン (HA) が、気道のトリプシン型プロテアーゼによって限定分解を受けて二つのサブユニットに成熟し、膜融合活性を発現する必要がある。最近の我々の研究から、ウイルスのサブタイプによってこれらトリプシン型プロテアーゼ群への親和性が大きく異なる事が明確となり、ウイルスの感染力の違いと症状の違い、感染臓器特異性がプロテアーゼの分布とその親和性から理解されるようになった²⁾。さらに気道の部位によって異なるインヒビターが分布し、感染部位と感染の広がりを決めていた事が明らかになった。本稿では、インフルエンザウイルス感染トリガープロテアーゼとその生体内

阻害物質、さらにインフルエンザ感染によって特定の患者で見られる脳浮腫の発症機序について最近の知見を紹介する。

2. ヒトのインフルエンザウイルスは気道内のトリプシン型プロテアーゼによって感染性を獲得する

細胞から出芽したヒトのインフルエンザウイルスは、細胞膜融合活性が無く感染性を示さない。ウイルスの HA3 量体は、気道の分泌するトリプシン型プロテアーゼや膜結合型トリプシン型プロテアーゼによって限定分解を受け、膜融合活性と感染性を発現する。そのためヒトのインフルエンザウイルスは、ウイルス外膜プロセッシングプロテアーゼの存在する気道でしか感染増殖しないと考えられている。これまでにインフルエンザウイルスの感染トリガープロテアーゼの検索から、図 1 に示すようにラットやマウスの場合、気道分布を異にする 3 種の HA プロセッシングプロテアーゼが見出され

* 徳島大学分子酵素学研究センター 酵素分子化学部門〔〒 770-8503 徳島市蔵本町 3-18-15〕

Division of Molecular Enzyme Chemistry Institute for Enzyme Research, The University of Tokushima [3-18-15 Kuramotocho, Tokushima-shi, 770-8503, Japan]

Tel: 058-293-2951 Fax: 058-293-2964 e-mail: kido@ier.tokushima-u.ac.jp

図1 気道のインフルエンザHA プロセシングプロテアーゼ群 (Mini-plasmin, Trypsin Clara, 異所性トリプシン) とその阻害因子。

図2 インフルエンザウイルス亜型に対する Plasmin, Mini-plasmin, Microplasmin, 異所性トリプシンの感染活性化能の違い。WSN(H1N1) (A), influenza A/seal/Massachusetts/1/81 (H7N7) (B), and influenza A/Aichi/2/68 (H3N2) (C). 種々の濃度の異所性トリプシン (●), Plasmin (○), Mini-plasmin (▲), Microplasmin (■) で30分間ウイルスを処理した時の細胞への感染価。

図3 Mini-plasminの脳血管内皮細胞での蓄積は、血液脳関門の破壊と局所でのウイルス増殖を誘導して、インフルエンザ脳症に類似した病態を示す。

た。細気管支粘膜の分泌細胞に分布する Mini-plasmin²⁾、終末気管支や呼吸気管支に分布する Trypsin Clara³⁾、肺胞上皮下層に分布する肺の異所性トリプシンである⁴⁾。これらのプロテアーゼは図2に示す如くウイルス亜系ごとに異なる親和性（ウイルス活性化能）を示した²⁾。上記のプロテアーゼは、報告されている全てのインフルエンザウイルス（トリのインフルエンザウイルスを除く）のHAに共通して見られる切断部位認識構造（-Q/E-X-R-）を選択的に認識して開裂した。生体はなぜこのように多くの感染トリガープロテアーゼを用意しているのだろうか。実際には、ウイルスが気道のプロテアーゼ群に対応するように、変異と進化を繰り返してきたことが考えられる。このようにプロテアーゼとウイルス亜系との親和性の違いは、感染部位と感染の広がり大きな影響を与えている。

3. 気道内のトリプシン型プロテアーゼ阻害物質

インフルエンザ感染は、通常感染後4-5日で気道分泌液中にウイルス中和抗体（IgAとIgG）が出現しウイルス量は急速に減少する⁵⁾

が、ウイルスによって惹起された気道の炎症はその後も進展して病状を悪化させる。生体は感染トリガープロテアーゼに対する阻害物質をあらかじめ気道の分泌液中に備え、ウイルス増殖を抑制している。図1に示した上気道に広く分布する粘液プロテアーゼ阻害物質（MPI）⁶⁾と、下気道の肺と終末気管支に分布する肺サーファクタント⁷⁾である。MPIは主に上気道や涙液に分泌される生体防御物質で、トリプターゼクララや顆粒球エラスターゼの他、種々のセリン性プロテアーゼに対して幅広い阻害活性を示す。一方肺サーファクタントは、肺胞のII型細胞と下気道の粘液分泌細胞から多量に分泌される界面活性化作用物質で、Trypsin Claraやインフルエンザウイルスそのものを吸着してウイルスの侵入を防ぐ作用が報告されている⁷⁾。

4. 脳血管内皮での Mini-plasmin 増加は、ウイルス増殖能を新たに局所に与えると共に組織破壊を誘発する

5-6歳以下を好発年齢として、aspirin, diclofenac sodium 服用時に発症するとされるライ症候群⁸⁾や、インフルエンザ脳症⁹⁾の発症機序はこれまで不明であった。我々は2000年

から3年間に渡るインフルエンザ脳症患者検体の解析から、重傷に推移する患者では全身のミトコンドリア脂肪酸代謝障害が高率に伴う事を見出した。そこで脂肪酸代謝に不可欠な carnitine の antagonist 投与マウスや、carnitine transporter OCTN2 欠損マウス¹¹⁾などの脂肪酸代謝障害の誘発マウスにインフルエンザウイルスを感染させたところ、インフルエンザ脳症様症状を示した。これらのマウスでは、ウイルス感染に伴う血液脳関門障害と脳浮腫、脳血管内皮細胞でのウイルス抗原の増加、ウイルス増加部位に一致した Mini-plasmin の増加を見出した¹⁰⁾。なおウイルス感染前では、脳血管内皮細胞に Mini-plasmin は全く検出されない。Mini-plasmin は、肺の炎症局所に浸潤した単球の cat D、顆粒球の cat G、elastase によって plasminogen や活性化された plasmin から形成され、血流を介して脳血管内皮細胞に運ばれて蓄積したと推定される。即ち、増殖トリガープロテアーゼの無かった脳血管内皮細胞に Mini-plasmin が蓄積される事で、局所での新たなウイルス増殖能の発現と血液脳関門の破壊を引き起こしたと推定された。さらに Mini-plasmin はマトリックスプロテアーゼ MMP-9 前駆体を MMP-9 に効率良く変換する。以上の結果は、脂肪酸代謝障害を持った小児がインフルエンザ脳症を好発する病態に類似していると推定された。

5. おわりに

インフルエンザウイルス感染は、宿主の感染促進因子のプロテアーゼ群と感染抑制因子（プロテアーゼインヒビター、IgG、IgA）によって感染感受性が左右されている事から、これら

の因子がテラーメイド医療やインフルエンザの予防と治療の標的物質になると推定された。ミトコンドリアの脂肪酸代謝障害を持つ重傷なインフルエンザ脳症患者では、脳血管内皮細胞に増加した Mini-plasmin によって局所のウイルス増殖と血液脳関門破壊が導かれている可能性が示された。

文 献

- 1) Klenk H-D, Rott R: The molecular biology of influenza virus pathogenicity. *Adv Virus Res* **34**: 247-281, 1988.
- 2) Murakami M, Towatari T, Ohuchi M, Shiota M, Akao M, Okumura Y, Parry MA, Kido H: Mini-plasmin found in the epithelial cells of bronchioles triggers infection by broad-spectrum influenza A viruses and Sendai virus. *Eur J Biochem* **268**: 2847-2855, 2001.
- 3) Kido H, Yokogoshi Y, Sakai K, Tashiro M, Kishino Y, Fukutomi A, Katunuma N: Isolation and characterization of a novel trypsin-like protease found in rat bronchiolar epithelial Clara cells: a possible activator of the viral fusion glycoprotein. *J Biol Chem* **267**: 13573-13579, 1992.
- 4) Towatari T, Ide M, Ohoba K, Chiba Y, Murakami M, Yano M, Kido H: Anionic trypsin I in rat lungs triggers infection by pneumotropic Sendai and human influenza A viruses. *Eur J Biochem* **269**: 2613-2621, 2001.
- 5) Tamura SI, Asanuma H, Ito V, Hirabayashi Y, Suzuki Y, Nagamine T, Aizawa C, Kurat T, Oya A: Superior cross-protective effect of nasal vaccination to subcutaneous inoculation with influenza haemagglutinin vaccine. *Eur J Immunol* **22**: 477-481, 1992.
- 6) Beppu Y, Imamura Y, Tashiro M, Towatari T, Ariga H, Kido H: Human mucus protease inhibitor in airway fluids is a potential defensive compound against infection with influenza A and Sendai viruses. *J Biochem* **121**: 309-316, 1997.
- 7) Kido H, Sakai K, Kishino Y, Tashiro M: Pulmonary surfactant is a potential endogenous inhibitor of proteolytic activation of Sendai virus and influenza virus. *FEBS Lett* **322**: 115-119, 1993.
- 8) Reye RDK, Morgan G, Baral J: Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera: a disease entity in childhood. *Lancet* **2**: 749-752, 1963.
- 9) Dolorme L, Middleton PJ: Influenza A virus associated with acute encephalopathy. *Am J Dis Child* **133**: 822-824, 1979.
- 10) Yao D, Chen Y, Kuwajima M, Shiota M, Kido H: Accumulation of mini-plasmin in the cerebral capillaries causes vascular invasion of the murine brain by a pneumotropic influenza A virus: implications for influenza-associated encephalopathy. *Biol. Chem.* In press, 2004.