

Muhareva Raekiansyah 論文内容の要旨

主 論 文

Dengue virus neither directly mediates hyperpermeability nor enhances TNF- α -induced permeability *in vitro*

デングウイルスの感染はそれのみで血管の透過性を亢進する作用はなく
TNF- α の透過性亢進作用を増強することもない

Muhareva Raekiansyah, Lyre Anni Espada-Murao, Kenta Okamoto, Toru Kubo,
Kouichi Morita

Japanese Journal of Infectious Diseases
(2013 年 9 月受理済)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：森田 公一 教授)

【緒 言】

デングウイルス (DENV)による感染症は、重篤で致死性の出血熱を起こすことから熱帯地域では重要な公衆衛生上の問題である。デングウイルス感染の重症型にはデング出血熱 (DHF)とさらに重症のデングショック症候群(DSS)とがあり、その発症機序については十分に解明されていないが末梢血管からの急速な血漿漏出が最も重要な病態学的な特徴である。デングウイルスのヒト体内で樹状細胞や単核球系細胞、血管内皮細胞に感染することが知られている。本研究ではヒト血管内皮細胞へのデングウイルス感染が血管透過性に及ぼす影響を詳細に解明することを目的とした。

【対象と方法】

ヒト臍帯血管内皮細胞(HUVEC: human umbilical vein endothelial cell)に複数のデング 2 型ウイルス株を感染させその感染性、増殖性を特異的蛍光染色法、フォーカスアッセイ、およびフローサイトメーターにより検証した。透過性試験は内皮細胞を 24 穴トランスウェルのファイブロネクチン処理をした膜上に培養し、内筒に添加した蛍光標識デキストランの外筒への漏出を定量評価した。またインターフェロンや各種反応性タンパク質の発現はリアルタイム RT-PCR 法により測定した。細胞の生残率は MTT 法による比色定量により評価した。

【結 果】

- (1) 使用した複数のデング 2 型株はすべて、HUVEC に感染、増殖し培養液中に感染性ウイルス粒子が放出されることを確認した。
- (2) デングウイルスに感染した内皮細胞では透過性の亢進は認められず、逆に接種したウイルス量に比例して透過性は低下していた。
- (3) 上記の透過性減少と相関して、ウイルス感染の初期に内皮細胞接着結合タンパク質群が上方制御されていた。
- (4) また感染初期に細胞から産生される I 型インターフェロンが接着結合タンパクの上方制御に関与することが示唆され、感染細胞のほうが非感染細胞より高い細胞生存率をみせた。
- (5) TNF- α が誘導する透過性亢進作用はデングウイルス感染 HUVEC では減弱または抑制されていた。
- (6) デングウイルスが感染した HUVEC 細胞では感染価に比例して iCAM の発現が上昇していた。

【結論と考察】

本実験では臨床分離株、実験室固定株を含む複数のデング 2 型ウイルスにおいて HUVEC での増殖性が確認でき、ヒト体内での血管内皮細胞へのウイルス感染はウイルス株に特異的な現象ではなくヒト感染においても同様であることが示唆された。既報には *in vitro* の系でデングウイルスの内皮細胞での感染は TNF- α が誘導する血管透過性の亢進をさらに促進するとの報告があるが、今回の我々の研究では全く逆の結果となった。今回の研究ではウイルス感染細胞で細胞接着結合分子の上方制御と生存率の上昇がその原因と考えられた。このことから、デングウイルスの血管内皮細胞への感染は血管の透過性を亢進させる直接的な因子ではないと考えられる。むしろ細胞間結合を増強することにより、複数の炎症性サイトカインが示す血管透過性の亢進作用をも減弱させる方向に働くことが予想される。以上の結果から、デングウイルスの血管内皮細胞への感染が直接的に血管の透過性を亢進させる可能性は低いと考えられ今後、透過性亢進を誘導する他の因子の探索が望まれる。