

学 位 論 文 題 名

Studies on pathological changes of lung tissues in influenza

A virus-infected mice and inhibitory effects of anti-M2
monoclonal antibody on different strains of influenza virus

（インフルエンザウイルス感染におけるマウス肺の病理学的変化の観察と異なった
インフルエンザウイルス株における抗M2抗体による感染抑制効果に関する検討）

学位論文内容の要旨

Every year, influenza epidemics seriously affect all age group of people, but the highest risk of complications occurs among elderly individuals over the age of 65 years. The major subtypes of influenza A that are currently circulating among people worldwide include H1N1 and H3N2 viruses, resulting in a global burden of ~500,000 deaths every year. Following several epidemics and occasional pandemics of influenza A virus, counter-measures have been developed to minimize the damages caused by influenza virus infection. Recent studies with neutralizing antibodies provided an additional option for treatment in influenza pandemic emergency. The anti-M2 ectodomain (M2e) antibodies that have been generated, showed promising anti-influenza A activities both in prophylactic and therapeutic settings.

In the present thesis, firstly the histopathological and immunohistochemical examination of the lungs of young and aged mice intranasally inoculated with influenza virus was described. Histopathological examination revealed that higher viral antigen positivity in bronchiolar and alveolar epithelial cells were associated with diffuse and severe bronchiointerstitial pneumonia characterized by accumulation of inflammatory cells in young mice, and milder inflammation in aged mice at the early phase of influenza virus infection. This difference seems to be related to low level of infiltration of polymorphonuclear leukocytes, macrophages, and T lymphocytes, as well as the delayed viral clearance and longer lasting infections observed in the lungs of aged mice. This study provided detailed insights into the age-specific course at the early phase of influenza virus infection in aged mice by low levels of infiltration of inflammatory cells and reduced lung pathology.

Secondly, the inhibitory effects of anti-M2e specific monoclonal antibody

(rM2ss23) on different strains of influenza virus was described. The rM2ss23 which binds to both A/Aichi/2/68 (H3N2) and A/PR/8/34 (H1N1) M2 proteins expressed on the cell surface, inhibited plaque formation by the Aichi strain, but not in PR8 strain. A reverse genetics approach revealed that PR8 recombinant variants expressing Aichi-HA and/or M were sensitive to the inhibitory effect of rM2ss23 on plaque formation, while the inhibitory effects of rM2ss23 on the Aichi virus was abolished by replacing the genes encoding the HA and/or M proteins with those of the PR8 strain. It is suggested that inhibitory effect of rM2ss23 is related to HA protein as well as M2 protein of influenza virus. Further studies on the interaction between HA and M2 proteins will be necessary to fully elucidate the mechanism of viral growth inhibition by anti-M2e antibody.

It is clinically important to develop the therapeutic strategy for overcoming influenza virus infection. In this study, the immunohistopathological changes of lungs of influenza virus-infected aged mice, and the inhibitory effects of anti-M2e on different strains of influenza viruses were demonstrated. It is suggested that obtained results contribute to a better understanding of the early phase of influenza infection, and also the development of a new therapeutic approach for influenza.

学位論文審査の要旨

主査	教授	澤	洋	文
副査	教授	梅	村	孝司
副査	教授	高	田	礼人
副査	准教授	迫	田	義博

学位論文題名

Studies on pathological changes of lung tissues in influenza

A virus-infected mice and inhibitory effects of anti-M2 monoclonal antibody on different strains of influenza virus

(インフルエンザウイルス感染におけるマウス肺の病理学的変化の観察と異なった
インフルエンザウイルス株における抗M2抗体による感染抑制効果に関する検討)

高齢者層はインフルエンザの罹患により重症化するリスクが高い。インフルエンザに対して、中和抗体を用いる治療方法も開発されており、M2タンパク質の細胞外ドメイン (M2e) を認識する抗体は、様々な亜型のインフルエンザウイルスに対して抗ウイルス活性が期待されている。

第1章では、インフルエンザウイルス、A/PR/8/34 (H1N1)を経鼻接種した若齢および高齢マウスの肺を病理組織学的に検索した。インフルエンザウイルス感染初期において、若齢マウスでは高齢マウスに比し、気管支および肺胞上皮でのウイルス抗原陽性細胞が多く、また炎症細胞浸潤を伴ったびまん性の高度気管支間質肺炎を呈していた。一方、高齢マウスでは炎症性変化は軽度であり、ウイルス抗原陽性細胞が若齢マウスに比し、観察期間内でより長期にわたり観察された。

第2章では、異なる亜型のインフルエンザウイルス株に対する、抗M2eモノクローナル抗体 (rM2ss23)の感染抑制効果について検討した。A/Aichi/2/68 (H3N2)およびA/PR/8/34 (H1N1)のM2eに結合するrM2ss23は、Aichi株のプラーク形成を抑制したが、PR8株のプラーク形成を抑制しなかった。さらに、Aichi株のHAまたはHAとMを有するPR8株では、rM2ss23によってプラーク形成が抑制された。一方、PR8株のHAまたはHAとMを有するAichi株では、rM2ss23によるプラーク形成抑制効果は認められなかった。以上の結果から、rM2ss23の感染抑制効果には、M2タンパク質だけではなく、HAタンパク質も関与することが明らかになった。

本研究で得られた基礎的知見は、インフルエンザ感染の病態の理解、またインフルエンザに対する新しい治療法の開発に寄与すると考えられる。

よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者Nilton Muto Akio氏の博士論文は、北海道大学獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。