

ウイルス学講座

教授：近藤 一博 ウイルス学, 分子生物学
講師：小林 伸行 ウイルス学, 精神医学

教育・研究概要

I. 教育概要

1. 医学科講義・実習

3年時学生の「ウイルスと感染」の講義を16コマ担当し、ウイルス学の基礎とウイルスと関係する疾患の基礎的な理解のための講義を行なった。実習は、5コマの実習を行なった。講義・実習ともに、ウイルス感染症の病態、診断、治療、予防など、将来、医師としてウイルス感染症に対処できるための基礎を学習することを重視した。さらに、最近の本学入学者の研究者指向に合わせるべく、医学者として、原因不明の疾患の研究、新しい感染症の出現、ウイルスを利用した医療に対応できる基礎力をつけられる様に配慮した。また、研究不正に関する内容も講義に盛り込んだ。「研究室配属」、「感染免疫テュートリアル」、「Early research exposure」も担当し、研究やテュートリアルを通して学生の感染症学への理解を深めることに努めた。

2. 看護学科講義

ウイルス学の講義を6コマ担当した。

3. 看護学校講義

慈恵看護専門学校においてウイルス学の講義を16コマ担当した。

II. 研究概要

疲労や疲労によってもたらされるうつ病などの疾患は社会的に大きな問題となっている。本研究部では、これらの問題に対し、ヘルペスウイルスの研究を通して解決することを目的としている。ウイルスは、寄生する宿主に完全に依存しているため、他の微生物よりも宿主との相互作用が強く、これまでにガン研究や遺伝子研究に多くの知見をもたらした。我々も、この様なウイルスの性質を利用して、メカニズムが殆ど解明されていない疲労や疲労による疾患にアプローチを図っている。

特に我々が研究対象としているのは、ほとんどのヒトに潜伏感染するヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6) である。特に、我々が見出したHHV-6潜伏感染タンパク SITH-1は、うつ病の大きな危険因子となっていることに加え、脳のストレス応答に強い影響を及ぼすことが判って来た。このため、その解析

によってうつ病などのストレス関連疾患の発症機構や予防法が見いだされることが期待される。

また、疲労によるHHV-6とHHV-6の近縁のウイルスであるHHV-7の再活性化は、疲労に関する多くの情報をもたらす。これらを利用した研究により、疲労の発生する機構の多くを明らかにするとともに、客観的な疲労の測定法を開発することができた。さらに、これらの成果を利用して、各種の疲労を生理的な疲労現象（生理的疲労）と病的な疲労感の亢進（病的疲労）とに区別することが可能であることを示し、疲労の予防法・治療法に新たな局面を開くことに成功した。個々の研究の具体的内容を以下に示す。

1. 唾液中に分泌されたHHV-6がうつ病を発症させるメカニズムの解明

近年、疲労やストレスによるうつ病が大きな社会問題となっている。しかし、疲労やストレスがうつ病の発症に寄与するメカニズムは明らかになっていない。私たちはHHV-6が疲労やストレス依存的に再活性化し、唾液中に分泌されることを発見した。さらに、HHV-6がアストロサイト特異的に発現するタンパク質SITH-1を同定し、うつ病患者は血清中の抗SITH-1抗体価が高いことを発見した。このことから、SITH-1タンパク質はうつ病に関連すると考えられるが、その作用機序は未だ明らかではない。そこで私たちは、唾液中に分泌されたHHV-6がうつ病を発症させるメカニズムを解明することを目的とした。

アストロサイト特異的発現プロモーターであるGFAPプロモーターの下流にSITH-1コード領域を組み込んだアデノウイルスベクター (SITH-1/Adv) を構築し、マウスの鼻腔に投与した。対照は組み換えていないアデノウイルスベクター (control/Adv) を用いた。投与から1週間後に、尾懸垂試験 (TST) を行い、TSTの24時間後に嗅球、脳を採取した。嗅球・脳のRNAを精製し、うつ病およびアポトーシスに関連する因子のmRNA量をreal-time RT-PCRで定量した。

SITH-1/Adv投与マウスはうつ病様行動を示し、この行動は抗うつ薬SSRIの投与によって抑制された。SITH-1/Adv投与マウスの遺伝子発現を調べたところ、脳内においてCRHの発現が優位に増加していた。また、嗅球におけるBcl-2の発現が低下しており、TUNEL染色で上顎部切片を染色した結果、嗅球での染色が確認された。以上の結果から、唾液中に分泌されたHHV-6は嗅上皮細胞に感染し、嗅球のアポトーシスを誘導することで、うつ病様行

動を引き起こすことが示唆された。

2. CMV 潜伏感染タンパク質 ORF152 による先天性 CMV 感染症発症機序の解明

妊婦がヒトサイトメガロウイルス (HCMV) に初感染すると、胎盤を経由して胎児にウイルスが移行し、胎児は子宮内発育遅延、小頭症、脳内石灰化、難聴などの神経学的異常を呈する重篤な先天性 CMV 感染症を発症する。先天性 CMV 感染症は、HCMV の体内感染が原因であることが明らかであるにも関わらず、その発症機序は不明な点が多い。最近、デンマークにおけるゲノムワイド関連解析 (GWAS) の結果から、HCMV の胎内感染が統合失調症発症と関連することが報告された。我々は、HCMV の潜伏感染タンパク質 ORF152 が宿主因子である calcium modulating cyclophilin ligand (CAML) と相互作用し、HCMV が潜伏感染するミエロイド系前駆細胞において、細胞内カルシウム濃度を上昇させることを見出した。カルシウムは神経機能に多大な影響を及ぼすため、HCMV の胎内感染と先天性 CMV 感染症の発症機序を解明する手がかりとなることが期待される。

HCMV 感染神経細胞において、ORF152 が発現するか、抗 ORF152 抗体と抗 IE1/IE2 抗体を用いて検討した。細胞は、アストロサイトームである U373 細胞、グリオブラストームである A172 細胞、及びアストロサイトグリアである SVGp12 細胞を用いた。また、レトロウイルスベクターと上記の神経細胞株を用いて、ORF152 安定発現神経細胞株を樹立した。これらの細胞株を用いて、細胞内カルシウム濃度の経時的変化について検討した。

さらに、ORF152 が相互作用する CAML は EGF 受容体のリサイクリングに関与していることが報告されていることから、ORF152 による EGF 受容体の発現に影響があるか、Western blot 法を用いて検討した。

HCMV 感染神経細胞において、ORF152 の発現が確認できた。また、ORF152 安定発現神経細胞株において、有意に細胞内カルシウム濃度の上昇が認められた。さらに、神経細胞内において、ORF152 により EGF 受容体の発現量が減少傾向を示すことが観察された。ORF152 安定発現神経細胞株において、細胞内カルシウム濃度の上昇が観察されたことから、ORF152 は神経機能を修飾することが示唆された。EGF 受容体のノックアウトマウスでは大脳皮質の神経新生が低下することが知られている。今回、神経細胞内において、ORF152 により EGF 受容体の発現低下が観察された。胎児脳においても、

同様のことが起こっていると予想され、先天性 CMV 感染症における神経学的異常は、ORF152 が多大な影響を及ぼしている可能性が示唆された。

「点検・評価」

1. 教育

学年によってばらつきがあるため、一概に言うことはできないが、3年生の教育の質の向上に、多くの先生方が協力して取り組んでいる成果が出ているのではないかと感じている。また、Early research exposure の影響もあって、研究に興味をもって講義を聴く学生が増えてきたことも良い影響を与えていると考えられる。

ウイルス学実習に関しては、学生が自主的に考えて行うことを重視する形をとっている。しかし、例年よりは数は減っているものの、出席さえすれば良いという習慣がついてしまっている学生も多く、自ら学ぶ力は明らかに低下している。個々の学生が内容をさらに良く理解することができる様にさらなる工夫の必要性が感じられた。

感染免疫テュートリアルは、学生が予習をした後に、講義によって考えをより深めるという、講義重視の方法をとることで、学生の学習意欲が向上したと考えられる。科目の特性を考慮したテュートリアルの工夫は、継続的にこなす必要があると考えられた。

2. 研究など

当教室では、ヘルペスウイルスの潜伏感染・再活性化機構と、潜伏感染によって生じる疾患の同定、発症機構の解明、ヘルペスウイルス研究を通じた疲労のメカニズムの解明を目的に研究を行なっている。上記の様に、研究は具体的な臨床効用も十分可能である水準まで進みつつある。特に、脳科学分野の研究では、独自の研究の方向を得ることに成功しつつある。また、知的財産の獲得も進みつつある。うつ病の発症機構や、疲労のメカニズムに関する研究も進み、予防法や治療法の開発研究が可能な段階に入りつつあると考えている。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Osaki T, Morikawa T, Kajita H, Kobayashi N, Kondo K, Maeda K. Caregiver burden and fatigue in caregivers of people with dementia: measuring human herpesvirus (HHV)-6 and -7 DNA levels in saliva. Arch Gerontol Geriatr 2016; 66: 42-8.
- 2) Shinagawa S, Kobayashi N, Nagata T, Kusaka A,

- Yamada H, Kondo K, Nakayama K. DNA methylation in the NCAPH2/LMF2 promoter region is associated with hippocampal atrophy in Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment patients. *Neurosci Lett* 2016; 629: 33-7.
- 3) Aoki R, Kobayashi N, Suzuki G, Kuratsune H, Shimada K, Oka N, Takahashi M, Yamadera W, Iwashita M, Tokuno S, Nibuya M, Tanichi M, Mukai Y, Mitani K, Kondo K, Ito H, Nakayama K. Human herpesvirus 6 and 7 are biomarkers for fatigue, which distinguish between physiological fatigue and pathological fatigue. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 478(1): 424-30.
- 4) Takeshita Y, Shibata N, Kasanuki K, Nagata T, Shinagawa S, Kobayashi N, Ohnuma T, Suzuki A, Kawai E, Takayama T, Nishioka K, Motoi Y, Hattori N, Nakayama K, Yamada H, Arai H. Genetic association between RAGE polymorphisms and Alzheimer's disease and Lewy body dementias in a Japanese cohort: a case-control study. *Int J Geriatr Psychiatry* 2016 Oct 4. [Epub ahead of print]
- 5) Kobayashi N, Shinagawa S, Nagata T, Shimada K, Shibata N, Ohnuma T, Kasanuki K, Arai H, Yamada H, Nakayama K, Kondo K. Usefulness of DNA methylation levels in COASY and SPINT1 gene promoter regions as biomarkers in diagnosis of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *PLoS One* 2016; 11(12): e0168816.
- 5) 嶋田和也, 小林伸行, 岡直美, 玉井将人, 高橋麻弓, 近藤一博. CMV 潜伏タンパク質 ORF152 による先天性 CMV 感染症発症機序の解明. 第 30 回ヘルペスウイルス研究会. 府中, 6 月.
- 6) Kobayashi N, Aoki R, Kuratsune H, Oka N, Takahashi M, Shimada K, Yamadera W, Iwashita M, Ito H, Nakayama K, Kondo K. Human herpesvirus 6 (HHV-6) and HHV-7 reactivation in fatigue, which distinguishes between physiological fatigue and pathological fatigue. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌, 10 月.
- 7) Shimada K, Kobayashi N, Oka N, Tamai M, Takahashi M, Kondo K. Human cytomegalovirus (HCMV) latency-associated protein ORF152 induces pathogenesis of congenital CMV infection. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌, 10 月.

Ⅲ. 学会発表

- 1) 岡 直美, 小林伸行, 嶋田和也, 高橋麻弓, 近藤一博. 唾液中に分泌された HHV-6 がうつ病を発症させるメカニズムの解明. 第 12 回日本疲労学会総会・学術集会. 横浜, 5 月.
- 2) 岡 直美, 小林伸行, 嶋田和也, 高橋麻弓, 近藤一博. 疲労によって誘導されるウイルス因子が関与するうつ病発症メカニズムの解明. 第 38 回生物学的精神医学会. 福岡, 9 月.
- 3) 小林伸行, 青木 亮, 岡 直美, 高橋麻弓, 嶋田和也, 玉井将人, 山寺 亘, 岩下正幸, 倉恒弘彦, 伊藤洋, 中山和彦, 近藤一博. 唾液中ヒトヘルペスウイルス (HHV-6) 及び HHV-7 量による病的疲労と生理的疲労との鑑別に関する検討. 第 12 回日本疲労学会総会・学術集会. 横浜, 5 月.
- 4) 小林伸行, 品川俊一郎, 永田智行, 嶋田和也, 柴田展人, 大沼 徹, 笠貫浩史, 新井平伊, 山田 尚, 中山和彦, 近藤一博. 血液中 DNA メチル化変化を利用したアルツハイマー病と軽度認知機能障害の新規診断法に関する検討. 第 31 回日本老年精神医学会. 金沢, 6 月.