

微生物学講座第1

教授：近藤 一博 ウイルス学，分子生物学
 助教授：中村真理子
 講師：大橋 隆明 生化学
 助教：鎌田美乃里 ウイルス学，血液学
 助教：嶋田 和也 ウイルス学，分子生物学

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，ウイルス学とウイルスによって生じる疾患の基礎に関する講義を行なった。実習は，5コマの実習を行なった。講義・実習ともに，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とともに，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。

2. 看護学科講義

ウイルス学の講義を6コマ担当した。

3. 大学院教育

大学院教育としては，分子生物学的研究に必要な技術のトレーニングの他，ウイルスと精神疾患との関係の研究，新規ウイルスベクターを用いたAIDSおよび癌の治療法の開発など，専門的な研究分野への発展に結びつく研究指導と論文指導を行なっている。

II. 研究概要

講座の研究テーマは，ヘルペスウイルスが関係すると思われる慢性難治性疾患の研究や，ヘルペスウイルスベクターの開発など，臨床応用を見据えた基礎研究を中心に行なっている。具体的な研究テーマは以下のとおりである。

1. ヒトヘルペスウイルス6(HHV-6)感染と精神疾患との関係に関する研究

ヒトのヘルペスウイルスは，8種類同定されており，我々が研究対象としているヒトサイトメガロウイルス(human cytomegalovirus: HCMV)，ヒトヘルペスウイルス6(human herpesvirus 6: HHV-6)，HHV-7は，互いに近縁で， β -ヘルペスウイルス亜科に分類される。

全てのヘルペスウイルスに共通する性質として，潜伏感染と再活性化が挙げられる。我々は，HHV-6が脳内で潜伏感染を生じ，小児では再活性化に

よって熱性ケイレンを生じることを発見した。HHV-6の脳内での潜伏感染状態は一生継続するため，この潜伏感染は，成人の慢性疾患にも関係している可能性がある。さらに，脳内で潜伏感染を生じるウイルスは極少数に限られており，ヘルペスウイルスではHHV-6だけであるため，成人における中枢神経疾患で，その原因がウイルスによるものがあると考えれば，HHV-6は非常に有力な候補となると考えられる。

我々は，HHV-6が潜伏感染時に特異的に発現する潜伏感染遺伝子を数種類同定し，その内の1種類にコードされるタンパク質に対する抗体を，慢性疲労症候群やうつ病などでうつ症状を呈する患者が特異的に保有することを見出した。

2. ヘルペスウイルスの潜伏感染・再活性化の研究

ヘルペスウイルスの再活性化の誘因は，何れのヘルペスウイルスに関してもほとんど解明されていないが，強いストレスや疲労が再活性化と関係することは，経験的に良く知られている。

我々は，唾液中に再活性化ウイルスが高頻度に放出されるヒトヘルペスウイルス6(HHV-6)，HHV-7に関して，再活性化と疲労との関係を検討し，HHV-6の唾液中への再活性化が，健康人の仕事による疲労によって誘導される事を見出した。また，この再活性化を定量することによって，疲労の測定ができる可能性を示した。

疲労は，作業効果の低下をもたらし，様々な疾患の原因となるばかりでなく，過労死や疲労による事故の誘発は直接人命に関わる。ところが，疲労のメカニズムなどの科学的な解析はほとんどなされておらず，疲労による健康障害を防止することは難しい。このような研究の遅れの原因は，疲労を客観的に測定する方法が確立していないためと考えられる。我々の研究している疲労とヘルペスウイルス再活性化との関係は，このような疲労の客観的測定法の基盤研究として大きな意味をもつものであり，疲労のメカニズムを，科学的に捉えるための良い手段となるものと考えられる。

β -ヘルペスウイルスは，宿主特異性の高いヘルペスウイルスの中でも特にヒトに特異性が高く，マウスなどの小動物を用いた実験モデル動物を作成することは容易ではない。我々はこれまでに，HCMVやHHV-6の潜伏感染・再活性化がmyeloid系細胞で生じることを示して来たが，新たに β -ヘルペスウイルスが潜伏感染・再活性化を生じるヒトのmyeloid系細胞を生着させたNOD-SCID-huマウスを用い

て、HHV-6の潜伏感染・再活性化モデル動物を作成した。この系は myeloid 系細胞の全ての分化段階の細胞を保持しているので、細胞分化が関係するとされる潜伏感染・再活性化機構をより詳細に検討することができる。この系を用いた検討では、HHV-6 潜伏感染細胞がヒトの場合の 100 倍以上の高頻度で保持され、細胞分化に伴うウイルス再活性化が観察された。また、この系で HHV-6 の組み換えウイルスを用いた潜伏感染・再活性化も成立することも示し、組み換えウイルスを利用して潜伏感染・再活性化に関係する遺伝子の同定や機能解析に利用できることも示した。

3. HHV-6 と HHV-7 の組み換えウイルスを用いた遺伝子機能解析と新規遺伝子治療ベクターの開発

我々は、HHV-6 および HHV-7 の組み換えウイルス作成法を世界に先駆けて開発し、この技術を用いて、HHV-6 や HHV-7 の遺伝子機能解析や新しい遺伝子治療用ベクターへの応用のための研究を行っている。遺伝子機能の解析に関しては、上記の NOD-SCID-hu マウスを用いた潜伏感染・再活性化モデル動物に、特定の遺伝子を knock out した組み換えウイルスを感染させ、潜伏感染や再活性化に対する影響をみることにより、in vivo におけるウイルス遺伝子の機能解析を行なっている。

難治性疾患の治療法として、患者の血液細胞を ex vivo で操作して再び患者に戻す細胞治療が有力視されている。HHV-6 と HHV-7 は、元来リンパ向性のウイルスであり、一般的に病原性も低いので、上記の様な問題を解決できる良いベクターとなると期待される。我々は、さらに HHV-6 や HHV-7 の特定の遺伝子領域を破壊することにより通常の細胞で増殖不能な非増殖性ウイルスを作成し、安全性をさらに向上させる研究を行なっている。

HHV-6 および HHV-7 は、CD4 陽性 T 細胞、ナチュラルキラー(NK) 細胞、マクロファージに効率良く遺伝子導入ができ、細胞毒性も低い。また HHV-6 は、ナチュラルキラー(NK) 細胞に高率で遺伝子導入が可能である。HHV-7 は、マクロファージに高率で遺伝子導入できる。今年度は、これらのウイルスベクターを具体的な遺伝子治療法につなげるために、サイトカイン遺伝子などの治療遺伝子を組み込んだ遺伝子作成し、具体的な治療効果を検討している。

「点検・評価」

I. 教育

ウイルス実習に関しては、昨年度より 1 学年 100 名の実習を 1 度に行なうこととなった。一昨年よりウイルス学実習は学生が自主的に考えて行なうことを重視する形に変更しており、100 名 1 度の実習も特別な場合を除き特に混乱なく、2 グループに分けて行なっていた実習と同じカリキュラムを良く理解することができた。また、学生の講義に関しては、ウイルスによって生じる疾患の発症病理、臨床ウイルス学的な検査法、ウイルスの利用法などの重要な部分が理解できることを目的とし、多くの学生に十分は知識と考え方を身につけてもらえたものと考えている。

II. 研究など

当教室ではこれまで、ウイルス学や分子生物学の研究が行なわれていなかったため、本格的な実験を行なうためには設備や研究者の教育など多くの問題があったが、研究に意欲を持つ教員や大学院生に関しては、少しずつではあるがヘルペスウイルスを中心とした研究において独自の研究分野を開拓し、社会的にも注目を集めつつある。この様な研究を進めることにより、疲労の研究など本学が歴史的に得意とする分野と、ウイルス研究を結びつけた、新たな研究領域が生まれつつあると考えている。

研 究 業 績

I. 原著論文

- 1) Shinji H, Kamada M, Seki K, Tajima A, Iwase T, Masuda S. Expression and distribution of very late antigen-5 in mouse peritoneal macrophages upon ingestion of fibronectin-bound staphylococcus aureus. *Microbiol Immunol* 2007; 51(1): 63-71.

II. 総 説

- 1) Kondo K. Post-infectious fatigue. *JMAJ* 2006; 49(1): 27-33.
- 2) 近藤一博. ウイルスと疲労. *環境と健康* 2006; 19(2): 149-59.
- 3) 近藤一博. HHV-6 と HHV-7 を利用した遺伝子治療ウイルスベクター. *日臨* 2006; 64(増刊 3): 518-22.
- 4) 近藤一博. 慢性疲労症候群. *日臨* 2006; 64(増刊 3): 490-5.
- 5) 近藤一博. HHV-6 の潜伏感染・再活性化のバイオマーカーとしての有用性. *日補完代替医療会誌* 2006; 3(2): 61-7.
- 6) 近藤一博. ヘルペスウイルスを利用した疲労の診断

法. 総合臨 2006; 55(1): 52-6.

III. 学会発表

- 1) 嶋田和也, 近藤一博. ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) 初期遺伝子 U79/80 のエンハンサー・プロモーター解析. 第 21 回ヘルペスウイルス研究会. 岐阜県大野郡, 6 月.
- 2) 嶋田和也, 近藤一博. ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) 初期遺伝子制御機構の解析. 第 123 回成医学会総会. 東京, 10 月.
- 3) 嶋田和也, 近藤一博. ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) 遺伝子 U79/80 のエンハンサー・プロモーター解析. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会. 名古屋, 11 月.
- 4) 鎌田美乃里, 近藤一博. HHV-6 感染 SCID-hu マウスにおける HHV-6 感染様式の解析. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会. 名古屋, 11 月.
- 5) 近藤一博, 鎌田美乃里, 小林伸行. ヒトヘルペスウイルス (HHV)-6 と HHV-7 の再活性化の誘導因子としての疲労. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会. 名古屋, 11 月.
- 6) 清水昭宏, 近藤一博. ヒトヘルペスウイルス 7 (HHV-7) の細胞指向性関連遺伝子領域の同定と機能解析. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会. 名古屋, 11 月.
- 7) 船水尚武, 清水昭宏, 近藤一博. 単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子によるヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) 遺伝子治療ベクターの制御. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会. 名古屋, 11 月.

微生物学講座第 2

教授: 益田 昭吾 細菌学
 助教授: 関 啓子 細菌学, 細胞生物学
 講師: 進士ひとみ 細菌学, 感染免疫学

研究概要

I. 黄色ブドウ球菌の定着を阻害する因子を分泌する *Staphylococcus epidermidis* の解析

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は, 皮膚膿瘍や重篤な感染症である肺炎や敗血症を起こす医学的に重要な細菌である。*S. aureus* は健康人の鼻腔から約 30% の割合で検出される。検出されない残りの約 70% はその定着を免れていると考えられるが, そのメカニズムは明らかではない。我々はこれまで, 鼻腔由来の常在性ブドウ球菌 *S. epidermidis* の約 50% が, *S. aureus* の定着を *in vitro* において有意に阻害することを見出している。そこで, この *S. aureus* の定着を阻害する *S. epidermidis* (阻害性 *S. epidermidis*) についてさらに検討を行った。阻害性 *S. epidermidis* による *S. aureus* の定着阻害作用は, 阻害性 *S. epidermidis* の培養上清に存在することが明らかになった。また, *S. aureus* の定着は, 阻害性 *S. epidermidis* と *S. aureus* との共培養によっても阻害された。さらに, 阻害性 *S. epidermidis* を *S. aureus* の定着しているボランティアの鼻腔に投与したところ, *S. aureus* の定着が大きく阻害された。これらの結果から, *S. aureus* が検出されない健康人では, 阻害性 *S. epidermidis* が大きく関与していることが示唆された。

II. 黄色ブドウ球菌 β -hemolysin による血管内皮細胞 IL-8 産生の抑制と好中球浸潤阻害

黄色ブドウ球菌は, 表在性の感染症から心内膜炎のような深在性感染まで幅広い感染を引き起こし, また近年, 薬剤耐性菌の出現により治療に難渋する症例が増加し問題となっている。黄色ブドウ球菌の感染に対して, 白血球を中心とした生体防御反応が重要な役割を果たしており, 血管内皮細胞は, IL-8 などのサイトカインや様々な接着因子の発現を介して感染部位への白血球浸潤を調節している。我々は, これまでに, 黄色ブドウ球菌の培養上清中に血管内皮細胞の IL-8 産生を抑制する活性があることを報告している。培養上清からその抑制因子を精製し, 黄色ブドウ球菌の β -hemolysin (β -toxin, sphingomyelinase C) であることを同定した。 β -