

学位授与番号：甲 1055 号

氏 名：玉井 将人

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 30 年 1 月 24 日

学位論文名：

Increased interleukin-1 β and basic fibroblast growth factor levels in the cerebrospinal fluid during human herpesvirus-6B (HHV-6B) encephalitis.

(ヒトヘルペスウイルス 6B (HHV-6B) 脳炎時における髄液中のインターロイキン-1 β と塩基性線維芽細胞成長因子の上昇)

学位論文審査委員長：教授 馬目佳信

学位論文審査委員：教授 加藤総夫 教授 堀誠治

論文要旨

氏名	玉井 将人	指導教授名	井田 博幸
----	-------	-------	-------

主論文

Increased interleukin-18 and basic fibroblast growth factor levels in the cerebrospinal fluid during human herpesvirus-6B (HHV-6B) encephalitis.

(ヒトヘルペスウイルス 6B (HHV-6B) 脳炎時における髄液中のインターロイキン-18 と塩基性線維芽細胞成長因子の上昇)

Masato Tamai, Nobuyuki Kobayashi, Kazuya Shimada, Naomi Oka, Mayumi Takahashi, Akiko Tanuma, Tomohiro Tanemoto, Hiroyuki Namba, Yoshihiro Saito, Yasuyuki Wada, Aikou Okamoto, Hiroyuki Ida, Kazuhiro Kondo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017; 486(3): 706-711.

要旨

HHV-6B は乳幼児期における突発性発疹の原因であり、病原性は低いことが知られる。しかし、高率に熱性痙攣を誘発し、まれに重篤な脳炎を引き起こすことが临床上問題となる。HHV-6B が脳炎を引き起こす要因として、造血幹細胞移植等に伴う免疫不全があるが、免疫不全のない初感染時の HHV-6B 脳炎については、何が要因で発症するかは明らかではない。そこで、HHV-6B 脳炎発症の機序を解明するため、炎症性サイトカインである IL-18 および神経栄養因子である bFGF に注目した。HHV-6B 脳炎患者群 (n=11)、非 HHV-6B 脳炎患者群 (n=4)、HHV-6B 熱性痙攣患者群 (n=11)、および非 HHV-6B 熱性痙攣患者群 (n=5) の髄液中 IL-18 および bFGF 濃度を測定した結果、HHV-6B 脳炎患者群では、非 HHV-6B 熱性痙攣患者群と比較し、髄液中の IL-18 および bFGF 濃度が上昇していることを明らかにした。さらに、髄液中 IL-18 と bFGF は両者ともに髄液中 HHV-6B DNA 量と相関し、HHV-6B の増殖に影響を与えることが示唆された。そこで、髄液中の IL-18 および bFGF が HHV-6B 増殖に与える影響を検討するために、*in vitro* での検討を行った。HHV-6B 脳炎患者において、脳内のアストロサイトでは HHV-6B が増殖することが報告されている。HHV-6B をアストロサイト細胞株 U373MG に感染させ、感染直後および感染の維持期に IL-18 と bFGF を加えることによって、ウイルス遺伝子発現にどのような影響を与えるか検討した。その結果、HHV-6B を感染させた U373MG では、IL-18 は感染初期に HHV-6B の immediate early 遺伝子 (U90)、early 遺伝子 (U41)、late 遺伝子 (U39、U48) の発現を増強し、それぞれに対応するウイルスタンパクの発現も増強することを明らかにした。すなわち、IL-18 は感染初期に全ての phase において、ウイルス遺伝子およびタンパクの発現を増強し、HHV-6B の増殖に関与することが考えられた。また、感染の維持期においては、bFGF を加えることによって、early 遺伝子 (U41)、late 遺伝子 (U39、U48) の発現を増強した。さらに、bFGF を加えた U373MG 細胞では、CBMC を加えることによって、有意に多くの感染性を有するウイルスが分離されることを明らかにした。すなわち、感染維持期においては、bFGF は HHV-6B 遺伝子発現を維持する働きがあることを明らかにした。以上のことから、HHV-6B 脳炎患者の脳内では、髄液中の IL-18 および bFGF の上昇が HHV-6B の増殖および感染の維持に寄与し、脳炎を引き起こしている可能性が示唆された。

学位論文審査結果の要旨

玉井将人氏の学位審査論文は主論文 1 編よりなり、「Increased interleukin-18 and basic fibroblast growth factor levels in the cerebrospinal fluid during human herpesvirus-6B (HHV-6B) encephalitis.」と題するもので *Biochemical and Biophysical Research Communications* 誌に掲載され、小児科学講座分野に於いて井田博幸教授の指導によるものである。

学位公開審査会は平成 29 年 12 月 26 日、加藤総夫教授 堀誠治教授のご臨席の下、開催された。主論文の概要を中心とした玉井氏の発表に続いて口頭試問を行った。席上、審査委員から内容に関する以下のような数多くの質疑があった。

- ・ サイトカインの発現量と臨床症状の間に関連はあったのか。
- ・ MRI ではどのような異常が出たのか、また MRI などの画像所見とサイトカインの発現の間の相関はどうだったか。
- ・ IL-6 の髄液中での発現と今回測定したサイトカインの発現量の比較はどうだったか。
- ・ 何故この 2 つのサイトカインのみに着目したのか。
- ・ ウイルス感染とサイトカイン発現の間の因果関係はどうか。
- ・ IL-18 のレセプターやその下流のシグナルへの影響はどのようなものだったのか。
- ・ 感染によって受けた細胞側の変化はどのようなものであったか。
- ・ HHV-6B 感染直後に IL-18 が HHV-6B 産生を引き起こすポジティブフィードバックループは本当に存在するのか。外から IL-18 を加えているがループではなく一方向性の反応ではないのか。
- ・ 感染細胞が IL-18 や bFGF を出す機序は何か。
- ・ アストロサイトでは何故ウイルスタンパクの発現が弱かったのか。
- ・ ウイルス感染実験での MOI はどのように決定したのか。
- ・ 患者の区分について HHV-6B 関連とそうでないものをどのように選んでいるのか。
- ・ 脳内では IL-18 や bFGF はどこから由来するのか。
- ・ 今後どのようにこの研究を発展させていくのか、等々。

玉井氏はこれらの質問に的確に回答した。その後、加藤教授および堀教授と慎重に審議した結果、本研究では HHV-6B 脳炎患者の脳内で IL-18 と bFGF が上昇することにより HHV-6B の増殖への環境に重要な役割を持つことが示され、髄液中の IL-18 と bFGF の評価は脳炎発症リスク評価に有用となる可能性が示唆されその意義は大きいと判定し、学位を授与するに十分値すると認定した次第である。