

5) 高橋英吾, 権田浩也, 西條広起, 島田淳一, 藤原佑樹, 高橋一彰, 田村久美, 平井健一郎, 野田健太郎, 浮地太郎, 古谷和裕, 柳町麻衣美, 吉田 健, 金月 勇, 黒坂大太郎, 山田昭夫, 羽野 寛, 中山順今. 難治性気胸を合併した皮膚筋炎の1例. 慈恵医大誌 2009; 124(4): 159-67.

ウイルス学講座

教授: 近藤 一博 ウイルス学, 分子生物学

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、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。本年度からは、「感染免疫テュートリアル」も担当し、テュートリアル形式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

講座の研究テーマは、ヘルペスウイルスの研究を通して疾患や生命機能への理解を深めることにある。特にヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6) が関係すると思われる、気分障害などの精神疾患の研究、HHV-6やHHV-7を利用したウイルスベクターの開発、ヘルペスウイルスの再活性化研究を通しての疲労の測定法やメカニズムの研究など、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. HHV-6 潜伏感染研究を通じた、疲労のメカニズムの研究

疲労の蓄積は様々な疾患の引き金になるだけでなく、過労死を引き起こすこともまれではない。「疲労感」は、痛み、発熱、眠気と同様に生体を守る大切なシグナルである。ところが、「疲労感」は比較的曖昧な感覚で、報酬や達成感といった要素によって減殺されてしまう他、人によって疲労を感じる度合いには大きな差がある。この様な問題を解決するためには、疲労のメカニズムを解明して、疲労を客観的に定量、評価することが必要である。しかし、これまで、「疲労」が生じる機序や、人が「疲労」

を感じる機序など、疲労のメカニズムに関しては、ほとんど判っていなかった。また、疲労の原因物質として有名であった乳酸が、実は疲労を和らげるために増加する物質であることが明らかになり、「疲労」のメカニズムに関する研究は、ますます混沌としていた。

我々は、このような状況を解決するために、HHV-6 潜伏感染研究を通じた、疲労のメカニズムの研究を行っている。「疲れるとヘルペスが出る」など、疲労とヘルペスウイルスを結びつける現象は日常良く見られ。この現象は、疲労時に単純ヘルペスウイルス 1 型 (herpes simplex virus type 1: HSV-1) の再活性化が生じることを示している。複雑な現象を、ウイルスの動態を探ることによって解析するという手法は、昔から用いられ、遺伝子発現や癌研究など多くの分野で利用されてきた。「疲れるとヘルペスが再活性化する」という現象は、「疲労」そのものを研究するのに重要なヒントを与えてくれると考えられる。HHV-6 は、i) すべての人の体内で潜伏感染している、ii) 再活性化し易く、通常の仕事の疲労の刺激で再活性化を生じる、iii) 再活性化が唾液腺で生じるので、再活性化の程度をウイルス量で定量的に測定できる、iv) 唾液腺で再活性化するウイルスには宿主の免疫機構が作用しにくいので宿主の免疫機構に関係なく、再活性化の度合いを測定できる、などの特徴を持つ。

我々は、唾液中に再活性化する HHV-6 を利用して、疲労を客観的に測定する方法を開発した。さらに、疲労が HHV-6 の再活性化を誘導する際の分子機構を検討することで、疲労因子 (FF) を発見することができた。FF は、疲労負荷によって体内で増加し、FF をマウスに *in vivo* でトランスフェクションすることによって疲労を誘導できた。このことから、FF は疲労という現象を司る分子であることが判明した。

2. 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

慢性疲労症候群 (CFS) は、ウイルス感染症とよく似た症状を呈し、緩解と増悪を繰り返す慢性疾患である。原因ウイルスとしては、この様な疾患の経過がヘルペスウイルスの潜伏感染と再活性化と良く似ているため、ヘルペスウイルスとの関連が強く疑われている。なかでも、ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) は、歴史的に CFS との関連が最も疑われるウイルスであり、その潜伏感染そのものが CFS の病態と深く関わっている可能性がある。

HHV-6 と CFS との関係は、通常のウイルス検査

では、その証拠を得ることが出来ない。しかし、EBV の様に潜伏感染・再活性化に関する研究が進み、様々なタイプの潜伏感染・持続感染の形式に対応する EBV 核抗原 (Epstein-Barr virus nuclear antigen: EBNA) などの潜伏感染特異的な遺伝子産物が同定されれば、疾患と潜伏感染との関係を明らかにすることも可能となる。

EBV においては、4 種類の潜伏感染状態が知られ、それぞれの潜伏感染状態に特徴的な疾患が知られている。また、それぞれの状態を特徴づける潜伏感染遺伝子産物も同定されている。我々は、HHV-6 においても、EBNA の様な潜伏感染遺伝子産物を同定できれば、CFS などの慢性疾患とウイルスとの関係を確定できるのではないかと考え、HHV-6 の潜伏感染遺伝子を同定した。また、これらの潜伏感染遺伝子を用いて、HHV-6 の潜伏感染状態を詳細に検討し、HHV-6 が EBV と同様に、複数の潜伏感染状態を持つことを見出した。HHV-6 の新たな潜伏感染状態は、潜伏感染状態の HHV-6 が再活性化の誘導を受けた時に出現し、数日から 2 週間程度安定して存在できる。この状態では、ウイルス産生は見られず、増殖感染に関係するウイルス遺伝子の発現も見られないが、潜伏感染遺伝子の発現亢進と、潜伏感染遺伝子にコードされる潜伏感染遺伝子蛋白の翻訳の開始が見られる。我々は、この新しい潜伏感染状態を中間状態 (intermediate phase) と名付けた。

中間状態では、HHV-6 の潜伏感染蛋白の発現亢進が見られるため、潜伏感染蛋白の発現している細胞を抗原として、血中に潜伏感染蛋白に対する抗体を保有する者がいるかどうかを検討した。その結果、CFS の診断基準を満たす患者の約 4 割が、HHV-6 潜伏感染蛋白に対する抗体を保有し、健常人はこの蛋白に対する抗体を保有しないことが判明した。これに対し、通常の HHV-6 の抗体検査で使用されている、HHV-6 の増殖感染で発現する構造蛋白に対する抗体価は、健常人では健常人と CFS 患者で有意な差が見られなかった。

これらの結果は、HHV-6 の潜伏感染状態の一つである中間状態を呈する細胞が、CFS 患者において異常に増加し、これに対する免疫反応が抗体として観察されたものであると考えられる。HHV-6 は、マクロファージや脳内に潜伏感染を生じるため、活性の高い潜伏感染状態を呈する細胞がサイトカインの異常産生や中枢神経系に対する影響を与えることが示唆される。

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。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っている。

HHV-6 及び 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。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、HIV 遺伝子や宿主のターゲット分子 CD4 などに対する治療遺伝子 (干渉 RNA など) 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」

1. 教育

ウイルス実習に関しては、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が、実習を要領良くこなしくなしくなしく、内容も良く理解することができた。ウイルス学実習では、血清検査に対する目的となるため、採血も行なっているが、この際、貧血で倒れる者がいるなど、100人体制の実習の短所も明らかとなったため、今年度からは、健康診断時に実習用の採血も行なってもらう体制とすることとした。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。本年度から多くの部門からチューターの応援を得て行う方式に改変された、感染免疫テュートリアルは、学生から、学習に身が入るなどの肯定的な評価を得ている。

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、ヘルペスウイルスのベクターへの応用を目的に研究を行なっている。上記の様に、本研究室の研究は、実際に治療に貢献することを第一の目標にしており、そのための「ものづくり」も視野に入れて研究を行っている。最近、知的財産の獲得も含めて具体的な成果を得ており、今後の発展が期待される。

研究業績

II. 総説

- 1) 近藤一博. 【最新・疲労の科学 日本発 抗疲労・抗過労への提言】疲労の計測 疲労のバイオマーカー 唾液中ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6). 医のあゆみ 2009; 228(6): 664-8.

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) 前初期遺伝子産物 IE2 とスプライシング関連因子 SART3 の相互作用による *ie1/ie2* の選択的スプライシング調節. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会. 東京, 10 月.
- 2) 清水昭宏, 小林伸行, 近藤一博. 組み換えヒトヘルペスウイルス 6 への bacterial artificial chromosome (BAC) システムの導入と、産生条件の検討. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会. 東京, 10 月.
- 3) 鎌田美乃里, 近藤一博. HHV-6 感染 SCID-hu マウス末梢血中の HHV-6 genome 出現の検討. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会. 東京, 10 月.
- 4) 小林伸行, 嶋田和也, 清水昭宏, 近藤一博. ヒトヘルペスウイルス (HHV)-6 関連疾患における、多彩な精神症状の出現機構に関する検討. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会. 東京, 10 月.
- 5) Shimada K, Kondo K. Alternative splicing regulation of human herpesvirus 6 (HHV-6) *ie1/ie2* genes by immediate-early 2 and splicing factor SART3. 14th International Conference on Immunology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. Kobe, Oct.
- 6) Kobayashi N, Kondo K. Identification of novel HHV-6 latent protein associated with CFS and mood disorders. 14th International Conference on Immunology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. Kobe, Oct.
- 7) Kamada M, Kondo K. Establishment of SCID-hu mouse model for human herpesvirus 6 (HHV-6) la-

tent infection and identification of HHV-6 latent cells. 14th International Conference on Immunology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. Kobe, Oct.

- 8) Shimizu A, Kondo K. Application of human herpesvirus 6 (HHV-6) for the gene therapy vector. 14th International Conference on Immunology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. Kobe, Oct.
- 9) Kondo K. (Late-breaking Symposium) Identification of a novel molecular mechanism and a major cause of fatigue. 36th International Congress of Physiological Sciences. Kyoto, Aug.
- 10) 小林伸行, 中山和彦, 近藤一博. ヒトヘルペスウイルス (HHV)-6 潜伏感染特異的タンパク (SITH-1) と気分障害発症との関連. 第105回日本精神神経学会学術総会. 神戸, 8月.
- 11) 鎌田美乃里, 近藤一博. SCID-hu マウスを用いたヒトヘルペスウイルス6感染モデル動物の作成と潜伏感染・再活性化細胞の検討. 第27回日本ヒト細胞学会. 東京, 8月.
- 12) 嶋田和也, 近藤一博. ヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6) 前初期遺伝子産物 IE2 とスプライシング関連因子 SART3 の相互作用による ie1/ie2 領域の選択的スプライシング調節. 第24回ヘルペスウイルス研究会. 裾野, 7月.

細菌学講座

教授：水之江義充 細菌学, 分子生物学
講師：進士ひとみ 細菌学, 細菌感染学

教育・研究概要

I. *fnb* 欠損株を用いた黄色ブドウ球菌接着因子 FnBP の機能の解析

黄色ブドウ球菌は複数の細胞壁結合型の接着因子を保有している。その一つである Fibronectin-Binding Protein (FnBP) には *fnbA*, *fnbB* にコードされた2つのホモログが存在し、菌はこの因子を介して細胞外マトリクスに結合し組織に接着する他、上皮細胞・繊維芽細胞・血管内皮細胞など種々の細胞に侵入することが報告されている。我々は、野生型株 SH1000 を親株として *fnbA*, *fnbB*, *fnbA/fnbB* 変異株を作成し、*in vivo* および *in vitro* 感染におけるそれぞれの病原性、細胞侵入性の相違等について検討した。

5×10^7 CFU の菌をマウス (n=10) の尾静脈内に投与した場合、親株投与群では著しい体重減少が認められ6日以内に全頭が死亡した。一方変異株投与群では、いずれも体重減少は緩慢であり、*fnbB* 変異株で感染12日目に1頭が死亡した以外、死亡例は認められなかった。また、腎臓への菌の接着と接着後の増殖について検討したところ、親株で顕著な接着と増殖が認められたのに対して、変異株ではいずれも著しく減少した。更に感染後の血中 IL-6 濃度も親株感染群で有意に高値を示した。この事から、*in vivo* 血中感染における病原性の発現には FnBPA と FnBPB の両因子が必要であると考えられる。

次に、*in vitro* 培養系で各種細胞への菌の侵入を検討した。上皮細胞、血管内皮細胞、繊維芽細胞への侵入性、炎症性マクロファージによる食菌性はいずれも親株 \geq *fnbB* 変異株 \gg *fnbA* 変異株 \geq *fnbA/fnbB* 変異株の順に高く、細胞との相互作用においては *fnbA* が不可欠であることが示された。

以上より *in vivo*, *in vitro* いずれにおいても、感染には FnBP が重要であることが明らかになった。*fnbB* 機能における *in vivo* と *in vitro* の相違は、2つの実験系における剪断力(血流の有無)の差に由来する可能性が考えられる。

II. 常在細菌による病原細菌の定着阻害メカニズムの解明

黄色ブドウ球菌は健常人の鼻腔から約30%の割