

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：大橋 隆明 生化学

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。

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，分子生物学的技術と主として用い，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すれば，HHV-6は非常に有力な候補となるものと考えられる。

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，健常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ため，細胞分化が関係するとき

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 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。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な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良くこなし、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。このため、来年度からは、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。

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、発症機構の解明を目的に研究を行なっている。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、研究に意欲を持つ大学院生達が研究を熱心に推進し、社会的にも注目を集めつつある。このような研究は、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、新たな研究領域となるものと考えている。

研究業績

II. 総説

- 1) 近藤一博.【ウイルス研究の現在と展望】ウイルスベクターの開発と利用 ヘルペスウイルスの特性とウイルスベクターへの応用. 蛋・核・酵 2007; 52(10): 1294-300.
- 2) 近藤一博. HHV-6 と慢性疲労症候群. 最新医 2007; (別冊 新しい診断と治療の ABC 46: 血液 5): 190-7.
- 3) 近藤一博.【疲労の診かた】慢性疲労とウイルス感染症. 治療 2008; 90(3): 458-63.

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 mRNA の選択的スプライシング調節. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌, 10 月.
- 2) 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 潜伏感染特異的タンパクによるうつ症状の発症機序. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌, 10 月.
- 3) 近藤一博, 清水昭宏, 小林伸行. β -ヘルペスウイルスのストレス応答による再活性化機構の解明. 第 55 回

日本ウイルス学会学術集会. 札幌, 10月.

- 4) 清水昭宏, 小林伸行, 近藤一博. ヒトヘルペスウイルス6(HHV-6)の細胞指向性に関するウイルス遺伝子の同定と解析. 第55回日本ウイルス学会学術集会. 札幌, 10月.
- 5) 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IE2とスプライシング関連因子SART3の相互作用によるウイルス遺伝子の転写調節. 第22回ヘルペスウイルス研究会. 福岡, 6月.
- 6) 鎌田美乃里, 近藤一博. HHV-6感染SCID-huマウスを用いたHHV-6潜伏感染細胞の同定. 第55回日本ウイルス学会学術集会. 札幌, 10月.
- 7) 清水昭宏, 小林伸行, 鎌田美乃里, 近藤一博. AIDS治療を目的とした, ヒトヘルペスウイルス6ベクターによる末梢血T細胞へのshort hairpin RNA(shRNA)の導入. 第55回日本ウイルス学会学術集会. 札幌, 10月.

IV. 著 書

- 1) Kondo K, Yamanishi K. HHV-6A, 6B, and 7: molecular basis of latency and reactivation. Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, Yamanishi K eds. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. p. 843-9.

細菌学講座

教授: 水之江義充 細菌学, 分子生物学
 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

教育・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 (*S. 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。そこで今回、この *S. aureus* の定着を阻害する *S. epidermidis* (阻害性 *S. epidermidis*) の阻害作用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27kDaの外分泌タンパク質Espによってもたらされることが明らかになった。Espはメチシリン感受性黄色ブドウ球菌だけではなく、メチシリン耐性・バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌の定着も阻害した。この定着阻害作用は、殺菌作用ではなく、バイオフィルム破壊作用によっていることを明らかにした。この阻害メカニズムの発見は、*in vivo* における *S. aureus* を制御する新たな薬剤開発に繋がる可能性がある。

II. 黄色ブドウ球菌が産生する 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。IL-8は、好中球のケモアトラクタントであり好中球を活性化する働きを持つ。

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 -