

## 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、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。「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

ヘルペスウイルスの研究を通してウイルスの生体に与える影響を明らかにすることで、疾患の成立機構や生命機能を理解することを研究目的としている。また、ウイルスの治療用ツールとしての応用も研究課題としている。具体的には、ヒトヘルペスウイルス(HHV-6)が関係すると考えられる、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。また、来るべきメディカルイノベーションの時代に対応できることも視野に入れ、発明を作り出せる研究体制の構築や知的財産の獲得にも力を入れている。具体的な研究テーマは以下のとおりである。

##### 1. 唾液中におけるヒトヘルペスウイルス(HHV-)

6, 7の再活性化をバイオマーカーに使用した、労働に関連する長期的な疲労の測定と慢性疲労症候群との鑑別

疲労は重要な生体アラームの一つであり、身体の健康上の危険を表わしている。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。しかし、疲労を我々に知らせる「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。また、疲労が健康に悪影響を及ぼすことは経験的に知られているが、疲労が健康を障害するメカニズムや、どの程度の疲労が身体に悪影響を及ぼすのかなど不明な点が多々ある。

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。我々は、この様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。疲れるとヘルペスウイルスの再活性化が生じることが知られており、「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。

我々は、唾液中に再活性化するHHV-6とHHV-7を利用して、疲労を客観的に測定する方法を開発した。この方法を用いることで、運動疲労、精神疲労、急性疲労、慢性疲労など各種の疲労を完全に客観的に測定することができた。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. 非発癌性リンパ向性ヘルペスウイルスを利用

した新規遺伝子治療ウイルスベクターの開発  
T細胞などの免疫担当細胞に遺伝子を効率よく導入することは簡単ではなく、これまではレトロウイルスをもとにしたウイルスベクターが汎用されてきた。しかし、このベクターは、レトロウイルス本来の発癌性や、非増殖性ベクターの作成の際の不死化細胞からの遺伝子の持ち込みなど、ベクターの発癌性に関する不安があった。我々はこの問題を解決するために、非発癌性のリンパ向性ヘルペスウイルスであるヒトヘルペスウイルス(HHV-6)を利用した新たなウイルスベクターを作成した。HHV-6は、小児期のマイルドな感染症である突発性発疹の原因ウイルスで、CD4(+)T細胞、マクロファージ、樹状細胞に感染する。

本研究では、ウイルスの細胞特異性に関係すると考えられるU2-U8遺伝子を欠損させることで、ウ

イルスの細胞特異性を変化させ、特殊な条件で活性化された臍帯血細胞のみで増殖し、末梢血細胞では増殖しない組み換え HHV-6 を作成した。この方法では、臍帯血で組み換えウイルスを産生できるので、ベクターの製造過程で不死化細胞を使用する必要もない。

この HHV-6 ベクターは、CD4(+)T 細胞のみならず、CD8(+)T 細胞にも 90% 以上の高率で遺伝子導入が可能であった。また、このベクターは感染細胞内でのウイルス産生は生じないものの、ウイルス DNA 複製が低レベルで生じ、他の遺伝子導入法に比して大量の遺伝子発現を得ることができた。CD4 分子や HIV gag タンパクに対する shRNA を導入したベクターでは、これらの分子の発現や HIV 粒子の産生を著しく抑制することができた。

本研究は、免疫細胞の関係する疾患や免疫治療用の発癌の可能性の低いベクター開発の新たな手段を提供するものであると考えられる。

### 3. ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) 感染と、うつ病との関係に関する研究

HHV-6 は、慢性疲労症候群 (CFS) との関係が疑われているウイルスである。CFS は強い疲労を中心に、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り、うつ症状などの精神症状が高頻度に見られる疾患である。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、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てきた。我々は、HHV-6 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を疑い、研究を進めてきた。

潜伏感染と疾患との関係は、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。そこで我々は、HHV-6 の潜伏感染遺伝子を同定し、潜伏感染そのものと疾患との関係を検討した。我々が見出した潜伏感染遺伝子は複数種類あるが、潜伏感染遺伝子 SITH-1 は HHV-6 の脳内の潜伏感染において特異的に発現し、CFS のうつ症状や、うつ病などの精神疾患との関係が疑われた。

SITH-1 をマウスの脳内アストロサイトで発現させたところ、躁うつ病様の行動異常が観察された。また、SITH-1 に対する抗体を測定したところ、CFS 患者やうつ病患者などのうつ症状を呈する患者において有為に高い抗体価が観察された。これらのことから、脳内における潜伏感染が、潜伏感染遺伝子 SITH-1 を介して、うつ病や CFS の精神症状

の原因となることが示唆された。

## 「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。学年によって差はあるものの、最近の学生は、実習を要領良くこなすが、実習を熱心に行う学生とただそこにいるだけの学生との差が大きくなっていく印象を受ける。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が必要かもしれない。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る様に工夫している。最近では、研究者指向の強い学生も多いので、教科書的な知識がどの様な研究の過程を経て得られたのか、問題意識とともに伝える様に心がけた。

昨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。しかし、その実施方法に関しては効率よく学習が行えるための工夫が必要であると感じた。また、単なる症候に関する演習では、範囲が感染症に限られている分、深みがなくなるため、基礎的な内容も盛り込んだテュートリアルを行う工夫も必要であると考えられる。

### 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、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。また、知的財産の獲得も進みつつある。知的財産の獲得と研究発表には互いに矛盾する面も多く、その点は研究の障害となる可能性もあるが、多くの研究成果とノウハウの蓄積に成功している。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) 小林伸行, 中山和彦, 近藤一博. 精神科領域から見た疼痛 身体表現性障害と慢性疲労症候群. 女性心身医学 2012; 16(3): 251-5.

### III. 学会発表

- 1) 近藤一博. ヘルペスウイルス再活性化と疲労シグナ

ル伝達経路の研究による疲労病態の把握。第7回日本疲労学会総会・学術集会。名古屋。5月。

2) 小林伸行。身体表現性障害と慢性疲労症候群。第40回日本女性心身医学会学術集会。東京。7月。

3) 近藤一博。慢性疲労症候群。第40回日本女性心身医学会学術集会。東京。7月。

4) Shimizu A, Kobayashi N, Kondo K. Application of human herpesvirus-6 (HHV-6) for the gene therapy vector. 15th International Congress of Virology. Sapporo, Sept.

5) Kobayashi N, Shimada K, Shimizu A, Kondo K. Identification of SITH-1 as novel latent protein of human herpesvirus 6 (HHV-6) associated with chronic fatigue syndrome (CFS) and mood disorders. 15th International Congress of Virology. Sapporo, Sept.

6) 小林伸行。精神科領域から見た疼痛－身体表現性障害と慢性疲労症候群－。第40回日本女性心身医学会学術集会。東京。7月。

7) Shimada K, Kondo K. Roles of human herpesvirus 6 immediate-early 2 protein and splicing factor SART3 in cellular tropism. 15th International Congress of Virology. Sapporo, Sept.

8) 嶋田和也, 清水昭宏, 近藤一博。組み換えHHV-6Bを用いたU79/80エンハンサー/プロモーター解析。第26回ヘルペスウイルス研究会。大阪。6月。

## 細菌学講座

教授：水之江義充 細菌学, 分子生物学

講師：田嶋亜紀子 細菌学

講師：岩瀬 忠行 細菌学

### 教育・研究概要

#### I. 表皮ブドウ球菌によるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の定着阻害

我々はこれまでに、Espを分泌する表皮ブドウ球菌（阻害性表皮ブドウ球菌）が黄色ブドウ球菌のバイオフィルムを破壊し、鼻腔内の黄色ブドウ球菌を排除することを報告した。しかしながら、阻害性表皮ブドウ球菌が黄色ブドウ球菌の定着を防ぐことができるかどうかについては不明であった。そこでマウスを用いて検討したところ、表皮ブドウ球菌を塗布し定着させたマウスでは、黄色ブドウ球菌の定着が阻害されることが判明した。本研究は米国の研究者との共同研究によって行われた。

#### II. バイオフィルム破壊因子の解析

バイオフィルムが、医療素材上に形成されると細菌が薬剤に抵抗性をもつとともに、感染源となって新たな部位に広がり治療を困難にしている。我々は、バイオフィルム感染症を引き起こす黄色ブドウ球菌が、自身のバイオフィルムを破壊する因子を分泌することを見出し、その因子の同定や性質の解析を試みた。破壊因子は耐熱性で121度20分処理しても失活せず、また500Da以下の低分子であった。また培養上清は、表皮ブドウ球菌やMRSA、緑膿菌や大腸菌のバイオフィルムも破壊したことから、バイオフィルム感染症で問題となる複数の菌に対して有効な可能性が示唆された。黄色ブドウ球菌の培養上清をHPLCにてゲルろ過カラムで分画後、逆相カラムの非吸着画分を回収し、親水性相互作用カラムで分画した。バイオフィルム破壊作用をもつ活性画分をMS解析し、現在因子の同定を進めている。

#### III. 表皮ブドウ球菌 Esp による黄色ブドウ球菌バイオフィルムの破壊メカニズム

表皮ブドウ球菌により産生されるバイオフィルム破壊酵素Espの大量発現・精製系を確立した。次に、Espにより分解される黄色ブドウ球菌の細胞表層タンパク質を探索し、その結果、Espは既知のバイオフィルム関連タンパク質 (Atl, Emp, FnBPA, Eap, Spa) や宿主への定着・病原性に重要なタン