

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応えるべく、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。「研究室配属」「感染免疫テュートリアル」も担当し、研究やテュートリアル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と与える影響を明らかにすることで、精神神経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、疲労によって再活性化することが知られている単純ヘルペスウイルス1型とアルツハイマー病との関係についても検討を行った。本年度の具体的な研究内容は以下のとおりである。

1. 疲労誘発因子と抗疲労因子：うつ病の疲労による誘発機構

現代はストレス時代と言われ、ストレスの蓄積状態である「疲労」による、うつ病や自殺が増加して

いる。このような状況を打開するためには、疲労を客観的に測定して予防することが必要となる。我々はこの目的のために、人の意志では変化しない疲労のバイオマーカーを検索し、唾液中に放出されるヒトヘルペスウイルス (HHV-) 6 による疲労測定法を開発した。HHV-6 は突発性発疹の原因ウイルスで、100%の人の体内でマクロファージとアストロサイトに潜伏感染している。マクロファージで潜伏感染している HHV-6 は、1週間程度の疲労の蓄積に反応して再活性化し、唾液中に放出される。このため、唾液中の HHV-6 の量を測定することによって中長期の疲労の蓄積を知ることができた。

さらに我々は、HHV-6 の再活性化の分子機構を研究することにより、疲労因子 (FF) と疲労回復因子 (FR) の同定に成功した。FF と FR は末梢血検体で測定可能で、被験者の疲労の定量だけでなく、回復力の評価も可能であることが明らかになってきた。

HHV-6 は、ほぼ100%のヒトで脳の前頭葉や側頭葉のアストロサイトに潜伏感染を生じている。この潜伏感染 HHV-6 も、ストレス・疲労によって再活性化が誘導されると考えられる。我々は、脳での再活性化時に特異的に産生される、HHV-6 潜伏感染遺伝子タンパク SITH-1 を見出した。SITH-1 発現は、血液中の抗体産生に反映され、血中抗 SITH-1 抗体を測定することによって、脳へのストレスと疾患との関係を検討することが可能であった。抗 SITH-1 抗体陽性者は、主としてうつ病患者に特異的にみられ、抗 SITH-1 抗体がうつ病のバイオマーカーとなることが示唆された。

さらに、SITH-1 タンパクを、ウイルスベクターを用いてマウスのアストロサイト特異的に発現させたところ、マウスはうつ症状を呈することが判った。これらのことより、脳へのストレス・疲労負荷は、潜伏感染 HHV-6 の再活性化を誘導することによって、潜伏感染タンパク SITH-1 を発現させ、うつ病の発症の危険性を増加させるというメカニズムが示唆された。

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非常に難しく、これまでは AIDS の原因ウイルスである HIV 由来の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

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 (+) 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. 単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) 再活性化のアルツハイマー病発症に対する影響の解明

単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) は感染後、生涯にわたり三叉神経節に潜伏感染し、再活性化すると口唇ヘルペスを引き起こす。これまで、HSV-1 の再活性化はアルツハイマー型認知症 (AD) の危険因子であることが数多く報告されている。そこで、本研究では、HSV-1 の再活性化と AD の認知機能症状との関連を明らかにするために、AD (n=85)、AD の前段階である健忘型軽度認知機能障害 (aMCI) (n=34) および健常者 (n=28) を対象として、HSV-1 の再活性化の指標となることが知られている抗 HSV-1 IgG 抗体 avidity index を測定した。AD および aMCI の認知機能の評価は、ミニメンタルステート検査 (MMSE) や前頭葉機能検査 (FAB) スコアを用いて評価した。その結果、脳機能が AD に比して保たれている aMCI では AD や健常者よりも抗 HSV-1 IgG 抗体 avidity index が高く、また、抗 HSV-1 IgG 抗体 avidity index は

MMSE スコアの時間見当識と言語理解を表すスコアの高い患者でむしろ高値を示した。また、抗 HSV-1 IgG 抗体 avidity index と HSV 脳炎の指標となる血漿中 BDNF 濃度は負の相関を認め、抗 HSV-1 IgG 抗体 avidity index の上昇として観察される HSV-1 再活性化は脳炎発症までは至らないことが示唆された。

これらの結果は、HSV-1 の再活性化は AD 顕在発症の前駆段階である aMCI の段階から起こり、重症な脳炎を介すことなく AD 発症に影響を与えることを示すものと考えられた。このことは、抗 HSV-1 IgG 抗体 avidity index が aMCI、AD 早期診断のバイオマーカーとなり得ることを示すのみならず、HSV-1 に対する抗ウイルス薬による治療が AD 発症の予防に繋がる可能性を示すものと考えられた。

「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。最近の学生は、実習を要領良くこなす。しかし、ゆとり世代に入り「実習を始めて下さい」などの開始の合図をしないと実習にとりかからないなど、自ら学ぶ力は明らかに低下している。また、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は、さらに大きくなっている印象を受ける。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。Early research exposure の影響もあって、研究者指向の強い学生も増えてきたので、将来りっぱな医師・医学者となれる様に、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。

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。特に、脳科学分野の研究では、独自の研究の方向を得ることに成功しつつある。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) Kobayashi N, Nagata T, Shinagawa S, Nakayama R, Kondo K, Nakayama K, Yamada H. Association between neurotrophin-3 polymorphisms and executive function in Japanese patients with amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2012; 34(3-4) : 190-7.
- 2) Shimizu A, Kobayashi N, Shimada K, Oura K, Tanaka T, Okamoto A, Kondo K. Novel gene therapy viral vector using non-oncogenic lymphotropic herpesvirus. *PLoS ONE* 2013; 8(2) : e56027.
- 3) Kobayashi N, Nagata T, Shinagawa S, Oka N, Shimada K, Shimizu A, Tatebayashi Y, Yamada H, Nakayama K, Kondo K. Increase in the IgG avidity index due to herpes simplex virus type 1 reactivation and its relationship with cognitive function in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 430(3) : 907-11.
- 4) 清水昭宏, 小林伸行, 嶋田和也, 近藤一博. 新規組み換えヒトヘルペスウイルス 6B (HHV-6B) を用いた HHV-6B ゲノム組み込み 293T 細胞の樹立とヒトゲノム DNA への組み込み機構の解析. *慈恵医大誌* 2013; 128(1) : 41-52.

III. 学会発表

- 1) 嶋田和也, 小林伸行, 清水昭宏, 近藤一博. ヒトサイトメガロウイルス潜伏感染遺伝子 ORF152 が免疫機能に与える影響. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪, 11 月.
- 2) 小林伸行, 鈴木 豪^{1, 2)}, 徳野慎一²⁾, 山本泰輔²⁾, 波多野弁¹⁾(¹陸上自衛隊), 清水昭宏, 嶋田和也, 立花正一²⁾(²防衛医科大学校), 近藤一博. 疲労・ストレスによるヒトヘルペスウイルス (HHV-) 6, 7 再

活性化機構の検討. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪, 11 月.

- 3) 嶋田和也, 小林伸行, 清水昭宏, 近藤一博. ヒトサイトメガロウイルス潜伏感染遺伝子 ORF152 が免疫機能に与える影響. 第 27 回ヘルペスウイルス研究会. 東浦町, 6 月.