

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

我々が見出したHHV-6潜伏感染タンパクSITH-1は、HHV-6の再活性化が誘導される際に産生され、うつ病の引き金となる。SITH-1とうつ病との関係は、研究を重ねるごとに、その関係性を示す証拠が蓄積してきている。特に、疲労によるHHV-6とHHV-6の近縁のウイルスであるHHV-7の再活性化は、疲労とうつ病との関係を結びつけるだけでなく、再活性化によって唾液中へ排出されるHHV-6とHHV-7の量を測定することによって、疲労に関する多くの情報が得られた。今年度は、唾液中HHV-6、HHV-7の検討により、慢性疲労症候群(CFS)が労働などによる生理的疲労とは別の現象であることを明らかにした。CFSは長く究極の慢性疲労状態とされ、疲労研究に強い影響を与えてきたが、今回の我々の研究結果により、これが見直されるべきであることが示唆された。また、疲労によるHHV-6の再活性化のメカニズムを検討することで、疲労がmyeloid系細胞の分化を促進するという、疲労のシグナル伝達に関する新たな知見を得ること

ができた。さらに、唾液中HHV-6、HHV-7が抗ガン剤の副作用のバイオマーカーとして有用であることを示し、副作用を軽減可能な補完代替医療の方法を見出した。ガン患者の疲労は臨床上大きな問題であるが、抗ガン剤の副作用として強い疲労が挙げられる。このため今回の発見は、臨床における疲労の問題解決に唾液中HHV-6、HHV-7の測定が有用であることを示す好例であると考えられる。

1. 慢性疲労症候群(CFS)が労働などによる生理的疲労と異なることの証明

CFSは、異常な疲労感を特色とする慢性疾患で、ウイルス感染などによって引き起こされた中枢神経系の機能異常が原因と考えられている。疲労を診断治療する上で、患者の訴える「疲労感」がCFSによる病的なものであるか、それとも労働などによる生理的な疲労の結果として生じているものかを鑑別することは重要である。しかし、これまでは疲労の測定は自覚的な疲労感によることが多く、客観的な疲労測定方法が確立していなかったため、CFSの疲労感と生理的な疲労感を判別することができなかった。「疲労」は休みなく心身を使うことによって生体機能の低下が生じた状態を、「疲労感」は疲労を脳が主観的に感じる感覚を指す。CFS患者では、過労などの疲労の原因がないにも関わらず強い疲労感を訴えることが高頻度で生じ、その原因は明らかにされていない。このため、疲労感が疲労負荷によって生じているのか、疲労感だけが発生しているのかを判別することは、疲労の診断や治療にとって必須である。このため、唾液中のHHV-6、HHV-7による生理的疲労の測定方を用いて、CFSとの判別を行うことを試みた。

CFS患者と健常人の唾液中HHV-6量の比較CFS患者、運動疲労負荷、複合疲労負荷、健常人コントロールから採取した唾液中のウイルスDNA量をReal-time PCRで定量した。この結果、唾液中のHHV-6 DNA量とHHV-7 DNA量は、CFS患者唾液と健常人コントロールで統計上有意な差が見られなかった。一方、運動疲労負荷、複合疲労負荷においては、CFS患者に比して有意にHHV-6とHHV-7の増加が見られた。CFS患者における疲労感是非常に強く、通常の場合、運動疲労負荷や複合疲労負荷を受けた者の疲労感と同等以上の疲労感を訴えることが多い。今回の検討により、CFS患者における唾液中のHHV-6とHHV-7の量は、健常人コントロールと差がなく、疲労負荷が生じている人に比べて有意に少ないことが判った。これらの結果は、唾液中HHV-6、HHV-7による疲労測定法

がCFSと過労などによる生理的疲労との鑑別に有用であることを示しているだけでなく、CFSの疲労と過労などによる疲労が本質的に異なっていることを示していると考えられる。

2. 疲労現象のもととなる生命現象の解明

唾液中へのHHV-6の再活性化は、CFSと生理的疲労の鑑別に有用であるだけでなく、生理的疲労の本質に関係する生命現象を反映している可能性がある。これまでに我々は、HHV-6の潜伏感染部位がマクロファージであることを明らかにし、潜伏感染マクロファージの分化や活性化が再活性化と関係することを示してきた。今回は、この様な研究成果を背景として、疲労負荷がマクロファージの分化や活性化といったHHV-6の再活性化に関わる現象に関係するかどうかを検討した。

マクロファージの分化・活性化マーカーとしては、CD14, CD83, CD80, CD86, CD40, TNF- α , IL-1 β , CCR7のmRNAを利用した。測定は、mRNAのReal-time PCR定量によった。疲労刺激は、C57BL/6マウスを2時間強制水泳、8時間不眠、24時間不眠を用いた。

その結果、これらのマーカーのほとんどが疲労刺激による増加することが判り、疲労刺激に対する生体反応としてマクロファージの分化・活性化が関係することが示唆された。さらに、疲労刺激と分化・活性化マーカーの増加は、それぞれ反応しやすいものがあることが示唆され、疲労刺激の種類によって、やや異なった疲労シグナルが利用されている可能性も示唆された。

3. 唾液中HHV-6を利用した抗ガン剤の副作用の測定と、副作用を軽減可能な補完代替医薬の発見

化学療法は、がん治療の結果を向上させるが、患者は時として強い疲労などの副作用によって、化学療法を中止することを余儀なくされる。我々は、生理的疲労のバイオマーカーであるHHV-6を利用することで、化学両方の副作用を評価し、副作用を軽減し得る補完代替医薬を見出すことを試みた。ガン患者にキノコの成分を投与すると治療効果が増すことは従来から報告があった。そこで我々は、キノコ成分であるactive hexose correlated compound (AHCC)が化学両方の副作用を軽減できるかどうかを検討した。患者の生活の質(QOL)は、EORTC QLQ-C30質問票で評価した。この結果、唾液中のHHV-6は化学療法によって大幅に増加するものの、AHCCの投与によってかなりのレベルまで減少することが判った。また、HHV-6のレベ

ルは患者のQOLや肝機能の良いバイオマーカーとなっていることも判った。このことから、ガン患者に対する化学療法の副作用は、唾液中のHHV-6によって評価可能で、AHCCが化学療法の副作用を抑制する補完代替医薬となり得ることが示唆された。

「点検・評価」

1. 教育

ウイルス学実習に関しては、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。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の必要性が感じられた。特に、本年度の学生の中には、学習意欲のある学生の意欲を削ぐ行動をするものもあり、学習したいと思う学生を守る工夫も必要であると考えられた。

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、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、研究の重要性について、教科書的な知識がどのよう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、ヘルペスウイルス研究を通じた疲労のメカニズムの解明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。疲労

のメカニズムに関する研究も進み、疲労による疾患誘導の研究も成果をあげつつある。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Nagata T, Kobayashi N, Shinagawa S, Yamada H, Kondo K, Nakayama K. Plasma BDNF levels are correlated with aggressiveness in patients with amnesic mild cognitive impairment or Alzheimer disease. *J Neural Transm* 2013; 121(4) : 433-41. Epub 2013 Nov 20.
- 2) 玉井将人, 南波広行, 大坪主税, 和田靖之, 久保政勝, 井田博幸, 小林伸行, 近藤一博. HHV-6 再活性化を伴ったけいれん重積型急性脳症の1例. *日小児会誌* 2013; 117(9) : 1459-63.

III. 学会発表

- 1) 嶋田和也, 小林伸行, 岡直美, 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 が免疫機能と細胞分化に与える影響. 第28回ヘルペスウイルス研究会. 淡路, 5月.
- 2) 嶋田和也, 小林伸行, 岡直美, 近藤一博. ヒトサイトメガロウイルスの潜伏感染遺伝子産物 ORF152 が免疫機能と細胞分化に与える影響. 第61回日本ウイルス学会学術集会. 神戸, 11月.
- 3) 小林伸行, 岡直美, 嶋田和也, 近藤一博. 唾液中ヒトヘルペスウイルス (HHV-) 6, 7 による客観的疲労評価に関する検討. 第130回成医会総会. 東京, 10月.
- 4) 小林伸行, 岡直美, 嶋田和也, 近藤一博. アルツハイマー型認知症の前駆段階において単純ヘルペスウイルス1型再活性化が発症に与える影響. 第61回日本ウイルス学会学術集会. 神戸, 11月.

細菌学講座

教授：水之江義充 細菌学, 分子生物学
 講師：田寫亜紀子 細菌学, 分子生物学
 講師：岩瀬 忠行 細菌学, 分子生物学
 講師：杉本 真也 細菌学, 分子生物学

教育・研究概要

I. 迅速な非侵襲的細胞外マトリクス抽出法の開発

バイオフィーム形成細菌は、タンパク質、多糖、DNAなどで構成される細胞外マトリクス (ECM) に覆われることで、免疫系や抗菌物質に対して高い抵抗力を獲得する。そのため、バイオフィームに関連した感染症は難治性となる。バイオフィームは菌種のみならず菌株でその形質が異なり、個々のバイオフィームのECM成分の正確な理解はその性質に合わせた柔軟なバイオフィーム感染症対策につながると考えられる。本研究では、主要なバイオフィーム感染症の起炎菌である黄色ブドウ球菌のバイオフィームをモデルとして、ECM抽出の最適な条件を検討した。その結果、1.5 M NaClを用いた数分間の処理により、ECM中のタンパク質のみならず、多糖やDNAも効率的に抽出することができ、溶菌による細胞質成分の流出を伴わないことがわかった。また、黄色ブドウ球菌以外の細菌 (表皮ブドウ球菌、緑膿菌、大腸菌) のバイオフィームからECMを抽出することも可能であった。今後、本手法を基盤として、バイオフィーム形成のメカニズムやバイオフィーム阻害剤の作用機序の解明が期待される。

II. 大気圧走査電子顕微鏡によるバイオフィームの液中高分解能観察

大気圧走査電子顕微鏡 (ASEM) は、解放環境の水溶液中で細胞を直接観察できる電子顕微鏡である。薄膜窓を底に備えた3.5cm径のサンプルdishを特徴とし、薄膜を透して内部の細胞を観察する。本研究では、ASEMを用いて種々の細菌の形態やバイオフィームの内部の微細構造を観察した。重金属ラベル法、正・負電荷を帯びたナノゴールドラベル法、抗体ラベル法などにより、バイオフィーム内部の細胞や細胞外マトリクス (タンパク質、DNA、多糖、分泌小胞) の時空間的動態を明らかにすることができた。同様の手法を用いて、大腸菌や表皮ブドウ球菌のバイオフィームと乳酸菌の細胞分裂の観察も可能であった。以上より、ASEMは様々な細菌によって形成されるバイオフィームの内部の微細構造とマ