

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：小林 伸行 ウイルス学, 精神医学

教育・研究概要

I. 教育概要

1. 医学科講義・実習

3年生のコース臨床基礎医学のユニット「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った。ユニット「ウイルス学実習」は、5コマの実習を行った。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。また、研究不正に関する内容も講義に盛り込んだ。ユニット「感染・免疫テュートリアル」、コース研究室配属のユニット「研究室配属」、「Early research exposure」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

疲労や疲労によってもたらされるうつ病などの疾患は社会的に大きな問題となっている。本研究部では、これらの問題に対し、ヘルペスウイルスの研究を通して解決することを目的としている。ウイルスは、寄生する宿主に完全に依存しているため、他の微生物よりも宿主との相互作用が強く、これまでにガン研究や遺伝子研究に多くの知見をもたらした。我々も、この様なウイルスの性質を利用して、メカニズムが殆ど解明されていない疲労や疲労による疾患にアプローチを図っている。

特に我々が研究対象としているのは、ほとんどのヒトに潜伏感染するヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6)である。特に、我々が見出したHHV-6潜伏感染タンパクSITH-1は、うつ病の大きな危険因子と

なっていることに加え、脳のストレス応答に強い影響を及ぼすことが判って来た。このため、その解析によってうつ病などのストレス関連疾患の発症機構や予防法が見いだされることが期待される。

2017年度からは、私立大学研究ブランディング事業「働く人の疲労とストレスに対するレジリエンスを強化するEvidence-based Methodsの開発」に参加し、さらなる研究の発展を図っている。

1. 分子機構から明らかにする疲労とストレスとの相違に関する検討

疲労とは様々な要因によって生じた独特の不快感と休養の願望を伴う身体の活動能力の減退状態と定義されている。一方、ストレスとは、ハンス・セリエのストレス学説に拠ると、種々の外部刺激が負担として働くときに心身に生ずる機能変化であり、その反応は、警告反応期、抵抗期、疲憊期に分けられるとされる。一般に、活動の減退を伴う疲労と、ストレス反応としての疲憊期は同じ状態を指すものと混同されることも多いが、我々は分子機構の検討からその相違を明らかにすることを目的とした。

我々はヘルペスウイルスが再活性化する分子機構の検討を基に、ERストレスや酸化ストレスなどの様々なストレスに反応するストレス応答機構として知られるintegrated stress response (ISR)に着目した。まず、我々は疲労を負荷したマウスにおいて、各種臓器において、eIF2 α のリン酸化で特徴づけられるISRが生じており、主として肝臓で炎症性サイトカインが産生されることを明らかにした。さらに、ISR阻害剤を投与し、この経路を阻害することにより、疲労様行動と炎症性サイトカイン産生が抑制されたことから、ISRが疲労を引き起こす経路として重要であることが示された。さらに、疲労負荷により、ISRの誘導と同時に、それを阻害する、eIF2 α の脱リン酸化を促進するGADD34の誘導が観察された。疲労モデルマウスにGADD34の阻害剤であるsalubrinalを投与することにより、疲労様行動が増強したことから、GADD34は疲労回復因子として重要であることが示唆された。

以上のことから、疲労の分子機構は、ISRが誘導され、炎症性サイトカインの産生へ至ることが主たる経路となると考えられた。一方、ストレス反応では視床下部-下垂体-副腎系 (HPA軸) を介したコルチゾール等の副腎皮質ホルモンの分泌が主となる。このことから、炎症性サイトカイン産生を促す疲労のシグナル経路と、コルチゾールを産生させて免疫を抑制するストレス応答は異なる機構であると考えられた。また、ISRは細胞機能低下やアポトー

シスを誘導することも知られ、疲労が様々な疾患の増悪因子の原因となる分子メカニズムとしても重要であると考えられた。そのため、今後、疲労研究を進展させることは、多くの疾患の新たな分子機構の解明に役立つものと期待される。

2. 疲労によって誘導されるウイルス因子が関与するうつ病発症メカニズムの解明

疲労やストレスがうつ病の発症に寄与するメカニズムは明らかになっていない。私たちは体内に潜伏感染している HHV-6 が疲労やストレス依存的に再活性化し、唾液中に分泌されることを発見した。さらに、HHV-6 がアストロサイト特異的に発現するタンパク質 SITH-1 を同定し、SITH-1 がカルシウムシグナル伝達因子 calcium-modulating cyclophilin ligand (CAML) と結合して活性化させることを発見した。CAML はうつ病との関係が報告されているため、うつ病患者における血清中の抗 SITH-1 抗体価を測定したところ、健常者と比較して高かった。このことから、SITH-1 タンパク質はうつ病に関連すると考えられた。そこで私たちは、SITH-1 発現モデルマウスを作製し、唾液中に分泌された HHV-6 がうつ病を発症させるメカニズムを解明することを目的とした。

HHV-6 はマウスに感染しないため、SITH-1 発現モデルマウスの作製意義を検証するために、SITH-1 がマウス細胞内でもヒト細胞と同様に CAML を活性化させるか、カルシウム流入試験で確認した。さらに、SITH-1 発現モデルマウスを構築し、うつ病の指標を示すか検討した。

この結果、SITH-1 はマウス内在性 CAML と結合し、活性化させることが示された。SITH-1 発現モデルマウスはうつ病様行動を示し、脳内において CRH の発現が優位に増加していた。また、嗅球におけるアポトーシスおよび、海馬神経新生の低下が確認された。これらは抗うつ薬 SSRI の投与によって抑制された。以上の結果から、唾液中に分泌された HHV-6 は嗅覚系アストロサイトに感染し、CAML を活性化させることで嗅球のアポトーシスを誘導し、それによって辺縁系障害が誘導され、うつ病様行動を引き起こす可能性が示唆された。

3. HHV-6 脳炎における髄液中の interleukin-1 β と basic fibroblast growth factor の上昇

HHV-6 variant B (HHV-6B) は乳幼児期における突発性発疹の原因であり、病原性は低いことが知られる。しかし、高率に熱性痙攣を誘発し、まれに重篤な脳炎を引き起こすことが臨床上一問題となる。HHV-6B が脳炎を引き起こす要因として、造血幹

細胞移植等に伴う免疫不全があるが、免疫不全のない初感染時の HHV-6B 脳炎については、何が要因で発症するかは明らかではない。そこで、HHV-6B 脳炎発症の機序を解明するため、炎症性サイトカインである IL-1 β および神経栄養因子である bFGF に注目した。

HHV-6B 脳炎患者 (n=11)、非 HHV-6B 脳炎患者 (n=4)、HHV-6B 熱性痙攣患者 (n=11)、および非 HHV-6B 熱性痙攣患者群 (n=5) の髄液中 IL-1 β および bFGF 濃度を測定した結果、HHV-6B 脳炎患者群では、非 HHV-6B 熱性痙攣患者群と比較し、髄液中の IL-1 β および bFGF 濃度が上昇していることが明らかとなった。さらに、髄液中 IL-1 β と bFGF は両者ともに髄液中 HHV-6B DNA 量と相関し、HHV-6B の増殖に影響を与えることが示唆された。

そこで、髄液中の IL-1 β および bFGF が HHV-6B 増殖に与える影響を検討するために、in vitro での検討を行った。HHV-6B 脳炎患者において脳内のアストロサイトで HHV-6B が増殖することが報告されている。HHV-6B をアストロサイト細胞株 U373MG に感染させ、感染直後および感染の維持期に IL-1 β と bFGF を加えることによって、ウイルス遺伝子発現にどのような影響を与えるか検討した。

その結果、HHV-6B を感染させた U373MG では、IL-1 β は感染初期に HHV-6B の immediate early 遺伝子 (U90)、early 遺伝子 (U41)、late 遺伝子 (U39、U48) の発現を増強し、それぞれに対応するウイルスタンパクの発現も増強することを明らかにした。すなわち、IL-1 β は感染初期に全ての phase において、ウイルス遺伝子およびタンパクの発現を増強し、HHV-6B の増殖に関与することが考えられた。

また、感染の維持期においては、bFGF を加えることによって、early 遺伝子 (U41)、late 遺伝子 (U39、U48) の発現を増強した。さらに、bFGF を加えた U373MG 細胞では、CBMC を加えることによって、有意に多くの感染性を有するウイルスが分離された。すなわち、感染維持期においては、bFGF は HHV-6B 遺伝子発現を維持する働きがあることが明らかとなった。以上のことから、HHV-6B 脳炎患者の脳内では、髄液中の IL-1 β および bFGF の上昇が HHV-6B の増殖および感染の維持に寄与し、脳炎を引き起こすことが示唆された。

「点検・評価」

1. 教育

学年によってばらつきがあるため、一概に言うこ

とはできないが、3年生の教育の質の向上に、多くの先生方が協力して取り組んでいる成果が出ているのではないかと感じている。また、コース研究室配属のユニット「Early research exposure」の影響もあって、研究に興味をもって講義を聴く学生が増えてきたことも良い影響を与えていると考えられる。

コース臨床基礎医学のユニット「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。自ら学ぶ力は向上してきていると考えられ、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改善を継続することが重要と考えられた。

コース臨床基礎医学のユニット「感染・免疫テュートリアル」は、学生が予習をした後に、講義によって考えをより深めるといふ、講義重視の方法をとることで、学生の学習意欲が向上したと考えられる。科目の特性を考慮したテュートリアルの工夫は、継続的に行う必要があると考えられた。

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り、予防法や治療法の開発研究への応用も図っている。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Tamai M, Kobayashi N, Shimada K, Oka N, Takahashi M, Tanuma A, Tanemoto T, Namba H, Saito Y, Wada Y, Okamoto A, Ida H, Kondo K. Increased interleukin-1 β and basic fibroblast growth factor levels in the cerebrospinal fluid during human herpesvirus-6B (HHV-6B) encephalitis. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 486(3): 706-11.

III. 学会発表

- 1) 小林伸行, 岡直美, 高橋麻弓, 玉井将人, 嶋田和也, 近藤一博. 分子機構から明らかにする疲労とストレスとの相違に関する検討(研究奨励賞). 第13回日本疲労学会総会・学術集会. 名古屋, 5月.
- 2) 岡直美, 小林伸行, 高橋麻弓, 嶋田和也, 近藤一博. 唾液中に分泌されたHHV-6がうつ病を発症させるメカニズムの解明. 第13回日本疲労学会総会・学

術集会. 名古屋, 5月.

- 3) 岡直美, 小林伸行, 嶋田和也, 高橋麻弓, 近藤一博. 疲労によって誘導されるウイルス因子が関与するうつ病発症メカニズムの解明. 第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同年会. 札幌, 10月.
- 4) 小林伸行, 品川俊一郎, 永田智行, 嶋田和也, 柴田展人, 大沼徹, 笠貫浩史, 新井平伊, 繁田雅弘, 近藤一博. ささまざまな変性認知症疾患におけるDNAメチル化変化とその臨床的意義の検討. 第36回日本認知症学会学術集会. 金沢, 11月.
- 5) Shimada K, Kobayashi N, Oka N, Tamai M, Takahashi M, Kondo K. Human cytomegalovirus (HCMV) latency-associated protein ORF152 is associated with pathogenesis of congenital CMV infection. 第65回日本ウイルス学会学術集会. 大阪, 10月.
- 6) 嶋田和也, 大澤正亨, 小林伸行, 岡直美, 高橋麻弓, 近藤一博. ヒトサイトメガロウイルスの潜伏感染タンパク質ORF152が潜伏感染・再活性化と細胞分化に与える影響. 第31回ヘルペスウイルス研究会. 松江, 6月.
- 7) 小林伸行, 岡直美, 高橋麻弓, 嶋田和也, 近藤一博. 疲労を引き起こす分子メカニズムの解明. 第134回成医会総会. 東京, 10月.