

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09591

研究課題名(和文)ヘルペスウイルス再活性化誘因因子の同定

研究課題名(英文)Identification of reactivation factors for human herpes viruses

研究代表者

瀬尾 幸子 (SEO, SACHIKO)

国立研究開発法人国立がん研究センター・東病院・医長

研究者番号：60401121

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトヘルペスウイルスの再活性化を引き起こす宿主側要因に関して、造血幹細胞移植後患者の血液を用いて様々なサイトカインの測定を行い、再活性化した症例としなかった症例に分けて再活性化直前のサイトカインのレベルに差がないか比較を行った。その結果、CMV再活性化時にはST2(Stimulation 2)とLYVE1(Lymphocyte vessel endothelial receptor1)が有意に変化することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In order to identify reactivation factors for human herpes viruses, we compared cytokine levels in hematopoietic cell transplant recipients with or without reactivation of human cytomegalovirus or human herpes virus-6. In results, we found that the levels of ST2 (Stimulation 2) and LYVE1 (Lymphocyte vessel endothelial receptor1) have significantly changed at cytomegalovirus reactivation.

研究分野：造血幹細胞移植

キーワード：ヘルペスウイルス 再活性化 造血幹細胞移植

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトヘルペスウイルスは初感染後、細胞内で潜伏感染状態となり、宿主の生理状態を反映して、時として再活性化を起こす。細胞やマウスを用いた研究により、ウイルス側の再活性化に必要な遺伝子、宿主細胞における再活性化時のシグナル伝達機構などが解明されてきている中、宿主における再活性化の誘因因子に関しては、ストレス、サイトカイン、ホルモンあるいは細胞分裂などの可能性が、細胞やマウスを用いた実験により示唆されているものの、未だヒトにおける明確な誘因因子は明らかにされていない (Future Virol, 6:451-63;2011, Cellular Immunology, 252:16-26;2008)。

造血幹細胞移植後の患者は極度の免疫抑制状態となり、ウイルス再活性化を高頻度に起こす。同種造血幹細胞移植後において、サイトメガロウイルス (CMV) および Human herpesvirus-6 (HHV-6) の再活性化は各々 30-40%、40-50% の頻度で起こり、移植後再活性化までの期間の中央値は 40 日、20 日と報告されている (Blood, 122:1316-24; 2013, CID, 40:932-40;2005)。一般に高度免疫抑制がウイルス再活性化の誘引であると考えられているが、一方で免疫抑制状態はウイルスが増殖しやすく、再活性化が顕在化しやすいだけであって、再活性化自体を誘導するものではないとの意見もある。実際、同じ移植後であっても再活性化する症例としない症例があること、またウイルスによって、活性化時期が異なることなどから、各ウイルスにおける誘因因子あるいはその活性化閾値が異なっていることが示唆される。

造血幹細胞移植後、CMV および HHV-6 は重篤な感染症を引き起こす。従来の研究で、リンパ球減少、移植片対宿主病、ステロイド使用などがその危険因子として挙げられている (Cytomegaloviruses: 2<sup>nd</sup> edition. Caister Academic Press, CID, 57:671-81;2013)。現

在、移植後定期的に血液中のウイルスをモニタリングすることで早期治療介入を行っているが、CMV 腸炎や HHV-6 脳炎など、一部の疾患では血液中のウイルス量と関連しないことも多く、CMV および HHV-6 感染症は未だ致死的である。また抗ウイルス剤投与による感染症予防も一部行われているが、抗ウイルス剤の副作用や耐性ウイルスの出現により、汎用はできない。

### 2. 研究の目的

本研究では CMV および HHV-6 が時に再活性化を引き起こす宿主側要因に関してこれまで明らかとなっていないため、ウイルス再活性化が高頻度の起こる造血幹細胞移植後患者を対象として、その宿主側要因を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

国立がん研究センター東病院、および研究協力施設 (千葉大学附属病院、千葉市立青葉病院、筑波大学付属病院、自治医大さいたま医療センター、成田赤十字病院) にて造血幹細胞移植を施行した成人患者を対象とした。

対象症例について、本研究への参加に同意の頂けた方から、造血幹細胞移植前に 1 回と移植後 8 週まで週 1 回、末梢血 6ml を採取した。採取した血液から 600  $\mu$ L の血清を用いて、定量 PCR 検査を行ない (試薬: 定量用 Primer & Probe mix (CMV), 定量用 Primer & Probe mix (HHV-6); 日本テクノサービス株式会社)、再活性化の有無を調べた。100 Copies/ $\mu$ L 以上の場合、陽性と判定した。

CMV および HHV-6 のどちらかが陽性化 (再活性化) した症例に対して、保存血清を用いて各種サイトカイン、およびホルモンの測定を ELISA および FACS (BD Cytometric Bead Array) で行なった。再活性化しなかった症例をコントロールとして用いた。

サイトカイン: 炎症性サイトカイン (IL-1, TNF, IL-6, IL-8)、Th1 サイトカイン (IFN, IL-12, IL-17)、Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5, IL-10,

IL-13)、ケモカイン(MCP-1, MIP1, IP-10)、リンパ球増殖因子(IL-2, IL-15)、その他(LYVE-1, ST2)  
 ホルモン: 視床下部-下垂体-副腎系ホルモン(コルチゾール)、成長ホルモン  
 ホルモン様物質: プロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエン

なお、データは符号化され、個人を特定できる診療録番号について別途対応表を作成したのち、診療録番号および病理番号を削除し連結可能匿名化を行った。対応表は、各々の施設において厳重に管理され保管されている。

#### 4. 研究成果

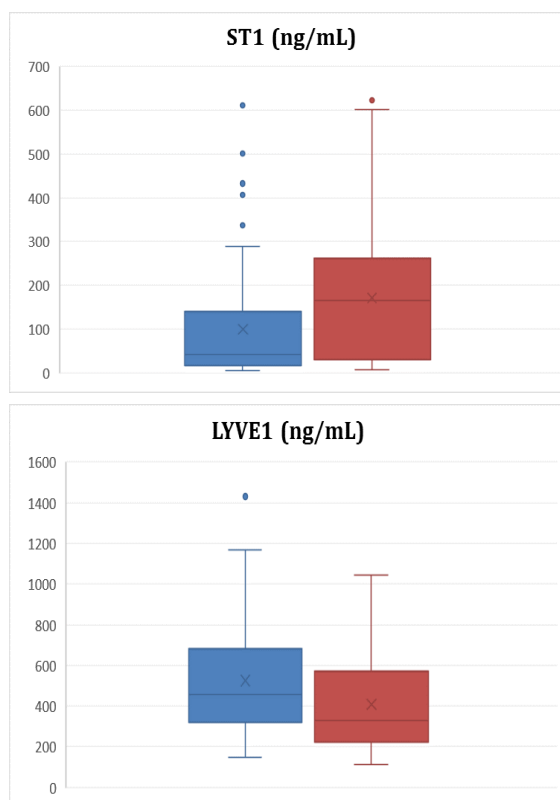
##### (1)CMV, HHV-6 再活性化

CMV 再活性化は移植後中央値 30 日(5-47 日)で生じ、再活性化時のウイルス量は中央値  $5.85 \times 10^2$  copies/uL ( $1.2 \times 10^2$  -  $1.0 \times 10^3$  copies/uL)であった。HHV-6 の再活性化は移植後中央値 30 日(13-21 日)で生じ、再活性化時のウイルス量は中央値  $8.9 \times 10^2$  copies/uL ( $1.9 \times 10^2$  -  $5.7 \times 10^3$  copies/uL)であった。

##### (2)サイトカインの変化

再活性化した症例としなかった症例に分けて再活性化直前のサイトカインのレベルに差がないか、上記の各種サイトカインおよびホルモンを調べたところ、CMV 再活性化時には ST2(Stimulation-2)が上昇していることが明らかとなった(中央値: 165 ng/mL vs 42 ng/mL (再活性化群(赤) vs 非再活性化群(青))、p-value 0.009)。一方で、LYVE1(Lymphocyte vessel endothelial receptor1)は CMV 再活性化前に低下していることが明らかとなった。(中央値: 329 ng/mL vs 457 ng/mL (再活性化群(赤) vs 非再活性化群(青))、p-value 0.025)。

HHV-6 に関しては再活性化前に明らかな変化するサイトカイン、およびホルモンを同定することはできなかった。以上の結果に関して、論文投稿準備中である。



#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
 ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

瀬尾 幸子 (SEO SACHIKO)

国立がん研究センター東病院・病理・臨床検査科・医長

研究者番号: 60401121

##### (2)研究分担者

塚崎 邦弘 (TSUKASAKI KUNIHIRO)

埼玉医科大学国際医療センター・造血器腫瘍科・准教授

研究者番号: 40274659

##### (3)連携研究者

土原 一哉 (TSUCHIHARA KATSUYA)  
国立がん研究センター・先端医療開発センター・分野長

研究者番号：00415514

立川 愛 (TACHIKAWA AI)

国立感染症研究所・エイズ研究センター・室長

研究者番号：10396880

#### (4)研究協力者

森 有紀 (MORI YUKI)

虎の門病院・血液内科・医長

千葉 滋 (CHIBA SHIGERU)

筑波大学附属病院・血液内科・教授

神田 善伸 (KANDA YOSHINOBU)

自治医大さいたま医療センター・血液科・教授

青墳 信之 (AOTSUKA NOBUYUKI)

成田赤十字病院・血液腫瘍科・部長

堺田 恵美子 (SAKAIDA EMIKO)

千葉大学医学部附属病院・血液内科・教授

小野田 昌弘 (ONODA MASAHIRO)

千葉市立青葉病院・血液内科・部長