

機関番号：14501
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20390138
 研究課題名（和文）ヒトヘルペスウイルスの病原性発現に関与する因子の同定と機能解析
 研究課題名（英文）Identification and functional analysis of factors related to human herpesvirus pathogenesis
 研究代表者
 森 康子（MORI YASUKO）
 神戸大学・大学院医学研究科・教授
 研究者番号：50343257

研究成果の概要（和文）：HHV-6 は、Tリンパ向性のウイルスであり、再活性化により様々な病気を引き起こすがその病原性発現機構は明らかにされていない。特に免疫抑制状態における HHV-6 の再活性化は、患者に後遺症を残す脳炎を引き起こす。また、最近、薬剤過敏症候群との関連性も示唆されており、その病態の解明は必須である。そこで、本研究ではウイルス特異的な遺伝子の解析に焦点を当て、その病態解明を試みた。本研究では未だ確立されていなかった HHV-6 の組換えウイルスの作製系の確立に成功した。本法によって未だ解明されていなかったウイルス特異的な遺伝子の機能解析が飛躍的に進歩すると考えられる。さらに本系を用いた解析によって HHV-6 特異的エンベロープ糖タンパク質 gQ1 は、ウイルス増殖に必須な遺伝子であることが明らかとなった。また、HHV-6 の感染機構として HHV-6 はまず DC に捕獲され感染し、T 細胞に伝播され、そしてそこで爆発的に増殖することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：HHV-6 is T lympho-tropic virus and causes several diseases by reactivation, but it is still unknown regarding the pathogenesis. Here we successfully established the construction system of HHV-6 recombinant virus that had not been established yet. We found that envelope glycoprotein gQ1 that is HHV-6 specific gene is essential for virus growth. Moreover, we found that HHV-6 is captured and transmitted to T cells by DC, and can replicate in T cells completely.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2009 年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2010 年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度			
年度			
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・ウイルス学

キーワード：遺伝子発現、細胞向性、ウイルス感染、病原性

1. 研究開始当初の背景
 ヒトヘルペスウイルスの中で、 β ヘルペス

ウイルスに属するヒトヘルペスウイルス
 6(HHV-6)は、T細胞、マクロファージ等の

免疫担当細胞に感染するという他のヘルペスウイルスとは異なった興味深い特徴を示す。HHV-6 は、二つのバリエーション、HHV-6A および HHV-6B に分けられる。HHV-6B の初感染は突発性発疹で発症するが、HHV-6A に関してはその病態は、現在のところ不明である。

臨床的には、乳幼児において突発性発疹発症後、脳症を引き起こし、重篤な後遺症を残す例が散見される。昨今、臍帯血や骨髄幹細胞移植が盛んに行われるようになったが、移植後患者において、HHV-6 の再活性化によると考えられる脳症の発症が問題となっている。しかし、現在までのところ、HHV-6 による病態発症機構に関しては全く不明であり、またその機構解明に関しては国内外においてほとんど研究されていない。

2. 研究の目的

HHV-6 がコードする遺伝子の解析を行い、ウイルス感染におけるその役割を解析し、病態解明に繋げる。

3. 研究の方法

- (1) HHV-6 特異的な遺伝子のクローニングとそれらの遺伝子のウイルス感染における機能をみる。
- (2) 上記ウイルス遺伝子における遺伝子変異あるいは欠損組換えウイルスを作製し、ウイルスの増殖能を調べる。変異株と野生株における増殖能の比較を行い、それらの遺伝子の機能を解析する。

4. 研究成果

HHV-6 は、主に T 細胞に感染し、増殖することができるが、今回我々は、HHV-6 が immature monocyte-derived DCs (MDDCs) においても感染できることを見出した。しかし、感染した DC の細胞質には成熟ウイルス粒子はほとんど認められなかった。しかし、核内には多くの未熟ウイルス粒子を認めた。また、ウイルス DNA 合成も行われていることを見出した。HHV-6 が感染した DC を刺激した T 細胞と混合培養すると HHV-6 は、T 細胞において爆発的に増殖した。即ち、DC において僅かながら増殖したウイルスは、混合培養によって T 細胞に伝播され、T 細胞において爆発的に増殖したものと推察された。本結果より *in vivo* における感染において DC は、HHV-6 感染における最初の標的であり、DC において捕獲され、僅かに増殖したウイルス

は、次に T 細胞に伝播され爆発的に増殖し、ウイルス血症を引き起こすという可能性が示唆された。

HHV-6 粒子のエンベロープを構成する糖タンパク質は、感染細胞の中でラフト分画に存在した。精製したウイルス粒子にもラフトマーカーが検出されたことより、ウイルスエンベロープの膜は、脂質に富んだラフトで構成されている可能性が明らかとなった。

HHV-6 は、T 細胞で増殖することから今まで、組換えウイルスの作製が困難であった。そのため、ウイルス遺伝子の性質を解析することが困難であった。しかし、本研究では世界に先駆け、HHV-6 の組換えウイルスの作製系の確立に成功した。さらに本システムを用いて宿主レセプターと結合するリガンド複合体のひとつである gQ1 がウイルス増殖に必須であることを明らかにした。gQ1 は、HHV-6 特異的に発現しており、その分子が増殖に必須であったことからウイルス特異的な病原性に寄与している可能性が示唆された。

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 7 件)

- 1) Human herpesvirus 6 encoded glycoprotein Q1 gene is essential for virus growth. Tang H, Kawabata A, Yoshida M, Oyaizu H, Maeki T, Yamanishi K, Mori Y. *Virology*. 2010 Sep 20. 査読有.
- 2) Human herpesvirus-6 entry into host cells. Tang H, Mori Y. *Future Microbiol*. 2010 Jul;5(7):1015-23. 査読有.
- 3) Characterization of varicella-zoster virus-encoded ORF0 gene--comparison of parental and vaccine strains. Koshizuka T, Ota M, Yamanishi K, Mori Y. *Virology*. 2010 Sep 30;405(2):280-8. 査読有.
- 4) Characterization of the varicella-zoster virus ORF50 gene, which encodes glycoprotein M. Sadaoka T, Yanagi T, Yamanishi K, Mori Y. *J Virol*. 2010 Apr;84(7):3488-502. 査読有.
- 5) Human herpesvirus 6 envelope components enriched in lipid rafts: evidence for virion-associated lipid rafts. Kawabata A, Tang H, Huang H, Yamanishi K, Mori Y, Virol J. 2009 19;6:127. 査読有.
- 6) Recent topics related to human herpesvirus 6

- cell tropism. Mori Y. Cell Microbiol. 2009 Jul;11(7):1001-6. 査読有.
- 7) Role of dendritic cells infected with human herpesvirus 6 in virus transmission to CD4(+) T cells. Takemoto M., Imasawa T, Yamanishi K, Mori Y. Virology. 2009 15;385(2):294-302. 査読有.
- [学会発表] (計 20 件)
- 1) Y. Mori. HHV-6 Glycoprotein Complex Formation is Required for the Folding and Trafficking of the Complex, gH/gL/gQ1/ gQ2 and its Cellular Receptor Binding; gQ1. 7th International Conference on HHV-6 & 7. Feb 27- Mar 2, 2011 (Reston, Virginia, USA)
- 2) H. Tang, H. Oyaizu, T. Maeki, K. Yamanishi, Y. Mori. The Functional Analysis Of Glycoprotein O During HHV-6 Infection: HHV-6 gO is Non- Essential for the Virus Growth in CBMCs. 7th International Conference on HHV-6 & 7. Feb 27- Mar 2, 2011 (Reston, Virginia, USA)
- 3) A. Kawabata, E. Hayashi, M. Hayashi, H. Oyaizu, H. Tang, K. Yamanishi, Y. Mori. Identification of the Epitopes on Neutralizing MAb for Human Herpesvirus 6 Glucoprotein Q1. 7th International Conference on HHV-6 & 7. Feb 27- Mar 2, 2011 (Reston, Virginia, USA)
- 4) 河端 暁子、林 麻佑子、小柳津 裕子、湯 華民、山西 弘一、森 康子. ヒトヘルペスウイルス 6 glycoprotein Q1 に対する中和抗体の作製とその解析. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会(2010 年 11 月 7-9 日 徳島県徳島市)
- 5) Huamin Tang, Akiko Kawabata, Hiroko Oyaizu, Takahiro Maeki, Koichi Yamanishi and Yasuko Mori. Human herpesvirus-6 encoded glycoprotein Q1 gene is essential for virus growth. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会(2010 年 11 月 7-9 日 徳島県徳島市)
- 6) 小柳津 裕子、忠垣 憲次郎、Huamin Tang, 黒田 和道、水口 裕之、山西 弘一、森 康子. ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) がコードするテグメントタンパクU14 と細胞周期の関連性. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会(2010 年 11 月 7-9 日 徳島県徳島市)
- 7) Tang H, Oyaizu H, Yamanishi K, Mori Y. HHV-6 glycoprotein complex formation is required for the folding and 3.05 trafficking of the complex, gH/gL/gQ1/ gQ2 and its cellular receptor binding. 35th International Herpesvirus Workshop. July 24-29, 2010 (Salt Lake City, Utah, USA)
- 8) 末永 忠弘、有澤 史倫、佐藤 毅史、Pranee Somboonthum、森 康子、川口 寧、荒瀬 尚. ヘルペスウイルス感染における神経組織指向性レセプター. 第 25 回ヘルペスウイルス研究会(2010 年 5 月 27-29 日 静岡県浜松市)
- 9) 湯 華民、林 麻佑子、山西 弘一、森 康子. ヒトヘルペスウイルス 6 がコードする糖タンパク複合体gH/gL/gQ1/gQ2 の解析. 第 25 回ヘルペスウイルス研究会(2010 年 5 月 27-29 日 静岡県浜松市)
- 10) 林 麻佑子、湯 華民、山西 弘一、森 康子. ヒトヘルペスウイルス 6 がコードする糖タンパク glycoproteinQ (gQ) に対するモノクローナル抗体作製. 第 25 回ヘルペスウイルス研究会(2010 年 5 月 27-29 日 静岡県浜松市)
- 11) 定岡 知彦、林 麻佑子、山西 弘一、森 康子. 水痘帯状疱疹ウイルスORF44 の解析. 第 25 回ヘルペスウイルス研究会(2010 年 5 月 27-29 日 静岡県浜松市)
- 12) 河端 暁子、世良田 聡、仲 哲治、山西 弘一、森 康子. ヒトヘルペスウイルス 6 glycoprotein M と相互作用する宿主因子の解析. 第 25 回ヘルペスウイルス研究会(2010 年 5 月 27-29 日 静岡県浜松市)
- 13) 湯 華民、河端 暁子、山西 弘一、森 康子. ヒトヘルペスウイルス 6 特異的エンベロープ糖タンパクをコードするgQ遺伝子の解析. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会(2009 年 10 月 25-27 日 東京都千代田区)
- 14) 腰塚 哲朗、山西 弘一、森 康子. 水痘帯状疱疹ウイルスワクチン株ORF0 は糖タンパク質である. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会(2009 年 10 月 25-27 日 東京都千代田区)
- 15) 定岡 知彦、山西 弘一、森 康子. 水痘帯状疱疹ウイルス glycoprotein M の成熟機構の解析. 第 57 回日本ウイルス学会学術

集会 (2009年10月25-27日 東京都千代田区)

- 16) 河端 暁子、山西 弘一、森 康子. ヒトヘルペスウイルス6 glycoprotein Mと相互作用する宿主因子の同定および解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会 (2009年10月25-27日 東京都千代田区)
- 17) Mori, Y. Human herpesvirus-6 gH/gL/gQ complex and its receptor usage. The 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. October 6-8, 2009 (Kobe, Japan)
- 18) Koshizuka, T., Yamanishi, K., Mori, Y. The ORF0 protein of varicella zoster virus vaccine strain is N-glycosylated. The 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. October 6-8, 2009 (Kobe, Japan)
- 19) Okamoto, S., Hata, A., Sadaoka, K., Yamanishi, K., Mori, Y. Decreased varicella zoster virus-specific cell-mediated immunity in patients with diabetes mellitus. 34th International Herpesvirus Workshop. July 25-31, 2009 (Ithaca, NY, USA)
- 20) 定岡 知彦、山西 弘一、森 康子. 水痘帯状疱疹ウイルスglycoprotein Mの詳細な解析. 第24回ヘルペスウイルス研究会 (2009年7月2日~4日 静岡県裾野市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 康子 (MORI YASUKO)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：50343257

(2) 研究分担者

岡本 成史 (OKAMOTO SHIGEFUMI)
医薬基盤研究所・創薬基盤研究部
プロジェクトリーダー
研究者番号：50311759
(H21-H22)

武本 眞清 (TAKEMOTO MASAYA)
医薬基盤研究所・基盤研究部・研究員
研究者番号：60379237
(H20)

