

機関番号：32651

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890260

研究課題名（和文）脳内に潜伏感染するヘルペスウイルスによる、気分障害の発症および病態変化の研究

研究課題名（英文）Mood disorders associated with latent herpes virus infection in the brain.

研究代表者

小林 伸行 (KOBAYASHI NOBUYUKI)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：20385321

研究成果の概要（和文）：本研究は、我々が発見したヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) の潜伏感染特異的遺伝子タンパク SITH-1 と気分障害との関連を明らかにすることを目的とした。SITH-1 は、細胞内カルシウムシグナルに影響を与え、気分障害と同様の異常が起こることを明らかにした。また、マウス脳にこの SITH-1 を発現させることにより、躁およびうつ様行動が引き起こされた。このことから、SITH-1 は気分障害発症に関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we have aimed to clarify the connection between the Small protein encoded by the Intermediate stage Transcript of HHV-6 (SITH) -1 and mood disorders. SITH-1 significantly up-regulated the intracellular calcium levels. An increase in calcium levels is generally thought to be an important factor in mood disorders. When we caused SITH-1 to be expressed in mouse brain glial cells, the mouse showed manic-like behavior and depressive-like behavior. These results suggest that SITH-1 is involved in the onset of mood disorders.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	950,000	285,000	1,235,000
2010年度	870,000	261,000	1,131,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,820,000	546,000	2,366,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：精神神経科学

キーワード：気分障害、ヒトヘルペスウイルス 6、動物モデル、うつ病、双極性障害、アストロサイト、SITH-1、慢性疲労症候群

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) は突発性発疹の原因ウイルスであり、ほとんどの小児は1歳までに HHV-6 に感染し、成人で潜伏

感染を成立させている。また、中枢神経向性が高く、脳内アストロサイトで潜伏感染することが知られている。また、臓器移植後などの HHV-6 再活性化時に、脳炎の後遺症として、

重篤な精神症状を伴うこと、さらに、HHV-6は慢性疲労症候群との関連が指摘されている。このことから、HHV-6の潜伏感染は高次脳機能、気分、情動に影響を与えることが疑われた。

(2) 我々はHHV-6が潜伏感染する際に、特異的に発現するタンパクである Small protein encoded by the intermediate stage transcript of HHV-6 (SITH)-1を発見した。

(3) 精神疾患患者血清を用いて、間接蛍光抗体法にてSITH-1抗体陽性率を調べたところ、SITH-1抗体陽性率は慢性疲労症候群で4割、うつ症状を伴う慢性疲労症候群では7割、うつ病性障害では5割、双極性障害では7割と高い抗体陽性率を示した。一方、健常成人ではほとんど抗体陰性であった。

以上のことから、SITH-1は気分障害との関連が強く疑われた。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、SITH-1と気分障害との関連を明らかにするために、

- (1) SITH-1の機能解析、とくにSITH-1のカルシウムシグナルに対する影響を検討すること、
- (2) SITH-1をマウス脳に発現させることにより、マウスの行動異常を誘導することが可能かを検討し、このマウスが、気分障害の動物モデルになり得るかを検討すること、

を目的とした。

3. 研究の方法

(1) ヒトアストロサイトマ由来細胞株であるU373-MG細胞にレトロウイルスベクターを用いて、SITH-1を恒常的に発現させた。このSITH-1発現U373-MG細胞をCa²⁺-ATPase阻害薬であるthapsigarginで刺激し、細胞内カルシウム濃度の変化をカルシウム蛍光試薬fura-2 AMを用いて検討した。さらに、カルシウム結合タンパクであるS100βの発現を、間接蛍光抗体法およびreal-time RT-PCRにて検討した。

(2) アストロサイト特異的に働くglial fibrillary acidic protein(GFAP)プロモーター制御下でSITH-1を発現するアデノウイルスベクターを作成した。このアデノウイルスを生後24時間以内のマウス脳へ接種し、成長後、マウスのうつおよび躁状態の評価のため、尾懸垂テスト、Prepulse Inhibition (PPI)、自発運動測定の各種行動実験を行った。

4. 研究成果

(1) SITH-1発現U373-MG細胞では、thapsigarginによるカルシウム反応性の亢進が起こっていることがわかった(図1)。また、S100βはタンパクおよびmRNAレベル両方で発現が亢進していた。

気分障害患者ではSITH-1抗体陽性率が高いことから、SITH-1を原因とする気分障害の存在が疑われたが、そのメカニズムは全く不明であった。気分障害ではカルシウムシグナルの異常が指摘されており、本研究により、SITH-1は細胞内カルシウムシグナルの異常を介して、気分障害発症の原因の一つとなり

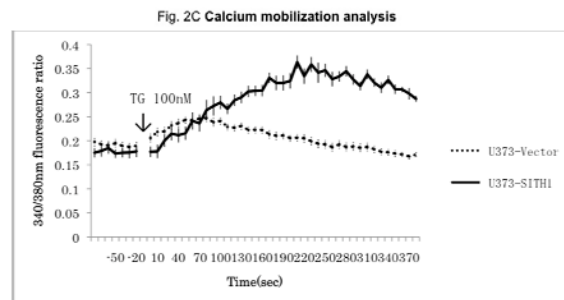


図1 SITH-1発現による、細胞内カルシウム濃度の上昇: SITH-1発現U373-MG細胞(実線: U373-SITH1)とSITH-1を発現していないU373-MG細胞(破線: U373-Vector)をthapsigargin 100nMで刺激し、細胞内カルシウム濃度の変化を測定した。

(2) マウス脳で、GFAP陽性細胞に一致したSITH-1の発現を間接蛍光抗体法により確認した(図2)。また、行動実験において、3週齢のSITH-1発現マウスでは、尾懸垂テストでの無動時間の低下(図3)、Prepulse Inhibition (PPI)の障害(図4)を認めた。一方、5週齢では、尾懸垂テストでの無動時間の延長(図5)および自発運動量の低下(図6)を認めた。

すなわち、アストロサイトにSITH-1を発現させることにより、マウスの躁およびうつ様行動が引き起こされた。

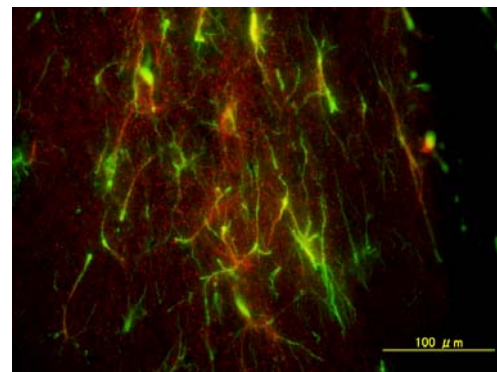


図2 アデノウイルスベクターを利用したマウス脳でのSITH-1発現: 赤色がSITH-1、緑色がGFAPの発現を表す。

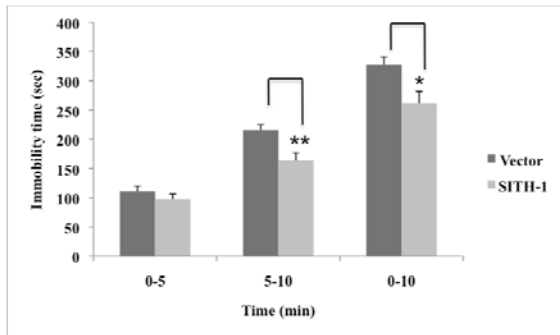


図3 SITH-1を脳に発現した3週齢のマウスにおける尾懸垂テスト：尾懸垂テストを始めてから5分間、5分後から10分後、計10分間の無動時間を測定した。

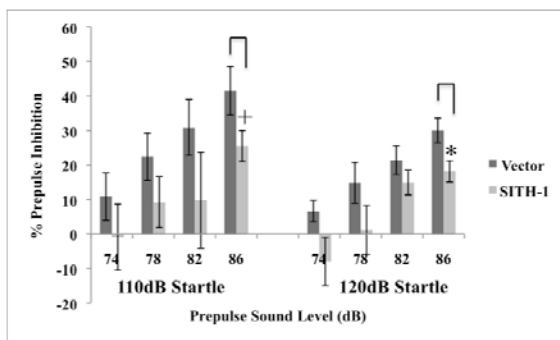


図4 SITH-1を脳に発現した3週齢のマウスにおける Prepulse Inhibition(PPI)：SITH-1発現マウスではPPIの障害を認めた。

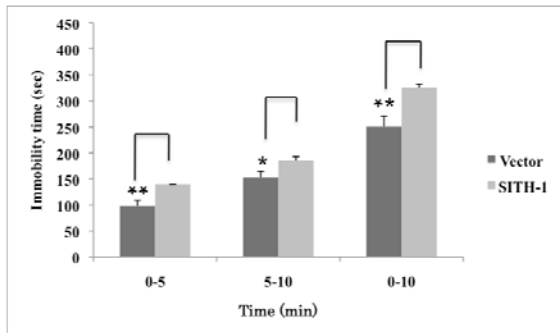


図5 SITH-1を脳に発現した5週齢のマウスにおける尾懸垂テスト：尾懸垂テストを始めてから5分間、5分後から10分後、計10分間の無動時間を測定した。

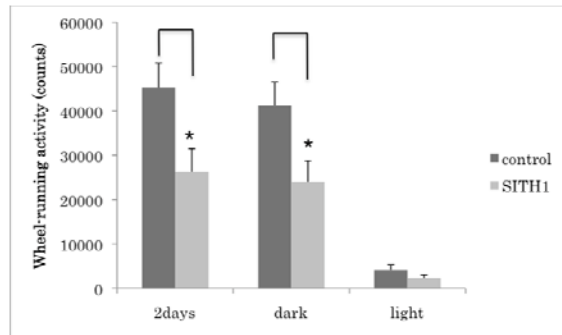


図6 SITH-1を脳に発現した5週齢のマウスにおける回転ケージを利用した自発運動量の測定：明期12時間、暗期12時間の条件下にて、48時間、滑車の回転数を測定した。

これらの結果から、SITH-1は気分障害発症の機序に関与し、SITH-1を発現させたマウスは新たな気分障害の動物モデルとして有用であることが示唆された。この動物モデルの利用により、気分障害の病態解明に向けて、今までにない新たなアプローチが可能になると考えられる。さらに、本研究は気分障害診断のためのバイオマーカー開発への応用が期待される。

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)

[学会発表] (計6件)

1. 小林伸行、嶋田和也、清水昭宏、近藤一博 新規ウイルス精製法を用いた、ヒトヘルペスウイルス6(HHV-6)再活性化機構の検討 (第58回日本ウイルス学会、2010年11月7日、徳島)

2. Kazuhiro Kondo, Nobuyuki Kobayashi. Identification of a novel HHV-6 latent-protein associated with CFS and mood disorders. (Joint conference of the 33rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, the 53rd Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry, and the 20th Annual Meeting of Japanese Neural Network Society (Neuro2010), 4 Sep 2010, Kobe)

3. 小林伸行、嶋田和也、清水昭宏、近藤一博 ヒトヘルペスウイルス(HHV)-6関連疾患における、多彩な精神症状の出現機構に関する検討 (第57回日本ウイルス学会、2009年10月26日、東京)

4. Nobuyuki Kobayashi, Kazuya Shimada, Akihiro Shimizu, Kazuhiro Kondo. Identification of novel HHV-6 latent protein associated with CFS and mood disorders. (14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections, 6 Oct 2009, Kobe)

5. 小林伸行、中山和彦、近藤一博 ヒトヘルペスウイルス(HHV)-6 潜伏感染特異的タンパク(SITH-1)と気分障害発症との関連 (第105回精神神経学会、2009年8月23日、神戸)

6. Kazuhiro Kondo, Nobuyuki Kobayashi. Identification of a novel molecular mechanism and a major cause of fatigue. (The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences (IUPS2009), 1 Aug 2009, Kyoto)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 伸行 (KOBAYASHI NOBUYUKI)
東京慈恵会医科大学 医学部 助教
研究者番号：20385321