

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：13201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893080

研究課題名(和文) HSV-1皮膚感染モデルを用いた帯状疱疹に伴う疼痛発症メカニズムの解明

研究課題名(英文) Basic study on mechanism of pain caused by herpes zoster using HSV-1-infected mouse model of zosteriform spread.

研究代表者

矢島 美彩子 (YAJIMA, MISAKO)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・助教

研究者番号：60443131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：HSV-1皮膚感染マウスモデルでは、ウイルス接種後約半数のマウスに運動麻痺が出現し最終的には脳炎を起こし死亡してしまう。抗ヘルペスウイルス薬の投与により、運動麻痺と脳炎による死亡を抑制することができれば、帯状疱疹後神経痛に伴う形態学的変化を効率的に検討できる。本研究では、HSV-1皮膚感染モデルを用いた検討を行うための基礎研究として、新規抗ヘルペスウイルス薬であるヘリカーゼ・プライマーゼ阻害剤ASP2151のHSV-1複製阻害作用に関する検討を行った。ASP2151はアシクロビルと比較してHSV-1の複製をより強力に抑制し感染性ウイルスの産生量を顕著に低下させた。

研究成果の概要(英文)：HSV-1 infected mouse model of zosteriform spread develops zoster-like skin lesions in the lumbar regions after virus infection and exhibits mechanical allodynia and hyperalgesia in the plantar aspect of the ipsilateral hindpaw. It is known that about half of the mice cutaneously inoculated with HSV-1 die by paralysis and encephalitis. The morphological changes on the zoster-like skin lesions can be investigated efficiently if the mouse death due to encephalitis is prevented by the administration of anti-herpetic agent. The anti-herpetic effect of ASP2151, a novel helicase-primase inhibitor, was compared with acyclovir (ACV). ASP2151 reduced virus release to the culture supernatants as compared with ACV. In addition, the recovery of HSV yields after removal of antiviral drug was significantly more delayed by ASP2151 than by ACV. These results indicated that ASP2151 is more effective in the reducing viral load in the HSV-infected cells than ACV in the condition used in this study.

研究分野：ウイルス学

キーワード：水痘・帯状疱疹ウイルス 単純ヘルペスウイルス 帯状疱疹後疼痛 帯状疱疹

1. 研究開始当初の背景

水痘・帯状疱疹ウイルスによる帯状疱疹は、皮膚病変だけでなく痛みを伴う。特に高齢者では皮疹が回復した後も痛みが長期間続く、帯状疱疹後関連痛 (PHN) に移行することがある。宮崎県皮膚科医会の帯状疱疹患者 4 万 8 千人の調査結果から、わが国では年間約 60 万人、80 歳までの 3 人に 1 人が帯状疱疹を経験すること、さらにその約 10% が PHN であり、帯状疱疹に伴う PHN 患者数は年間約 3 万人にも及ぶことが報告されている¹。

申請者が所属する研究室では、水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV) の前初期抗原 (IE62) に対するモノクローナル抗体が脳由来神経栄養因子 (BDNF) と免疫交差し、その生理活性を増強することで神経損傷に伴う異痛症 (アロディニア) を増強し、帯状疱疹関連痛 (ZAP) 特有の疼痛を生じることを報告した²。このことから、抗 VZV-IE62 抗体が BDNF による痛覚伝導路の後角神経細胞 dendrocyte の伸長を有意に亢進した結果、痛覚伝導のためのシナプス形成が促進される可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、神経因性疼痛発症のメカニズムを明らかにするため、HSV-1 皮膚感染マウスモデル^{3,4}における帯状疱疹様病変に伴う皮膚や末梢神経等の形態学的変化の検討を行うための基礎研究を行うことを目的とした。

具体的には、基礎研究として以下に示す 2 点について検討を行った。

(1) ウイルスに対する抗体の存在は病態の修飾に関わる。抗体の感染防御における役割について検討するために、静注用免疫グロブリン製剤 (IVIg) におけるスルホ化がその抗体活性に与える影響について検討した。

(2) HSV-1 皮膚感染マウスモデルでは、HSV-1 の経皮感染により片側に感覚神経に沿った帯状の水疱または潰瘍が出現し、ヒトの帯状疱疹に類似した皮膚病変が見られる。BALB/c マウス系マウスを用いたモデルでは HSV-1 接種後、約半数のマウスに運動麻痺が出現し、最終的には脳炎を起こし死亡してしまうことが知られている。抗ヘルペスウイルス薬の投与により、運動麻痺と脳炎による死亡を抑制することができれば、帯状疱疹後神経痛に伴う形態学的変化を効率的に検討できる。そこで、新規抗ヘルペスウイルス薬であるヘリカーゼ・プライマーゼ阻害剤 ASP2151 の HSV-1 複製阻害作用に関する検討を行った。

3. 研究の方法

(1) スルホ化が抗体活性に与える影響を検討するため、スルホ化 IgG およびインタクト IgG を用いて、補体存在下・非存在下における VZV に対する中和抗体価、VZV 感染細胞に対する抗体依存性細胞障害活性の比較を行った。

(2) ASP2151 の HSV-1 複製阻害作用について、既存の抗ヘルペスウイルス薬であるアシクロビル (ACV) およびホスカルネット (PFA) と比較するため、ウイルス感染後の HSV DNA コピー数の変化をリアルタイム PCR 法により、培養上清中の感染性ウイルス量をプラークアッセイ法により調べた。

4. 研究成果

(1) IVIg におけるスルホ化の影響
インタクト IgG の VZV に対する中和抗体価は補体の添加により約 5 倍上昇した。スルホ化 IgG では補体添加による中和抗体価の増強は認められなかったが、脱スルホ化により補体添加による中和抗体価がインタクト IgG と同程度までは上昇した (図 1)。インタクト IgG、スルホ化 IgG のどちらにおいても VZV 感染細胞に対する ADCC 活性が認められたが、IVIg を希釈した場合には、スルホ化 IgG の ADCC 活性はインタクト IgG と比較して低いことが明らかとなった (図 2)。一方で、スルホ化 IgG は投与後に生体内でインタクト IgG に戻ることが報告されており、生体内ではインタクト IgG と同様の中和活性および ADCC 活性を示すと考えられた。

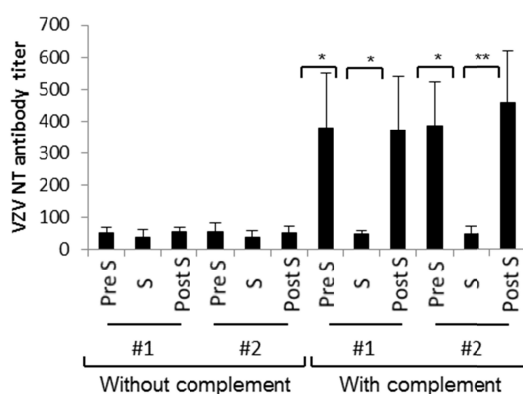


図 1: 中和抗体価

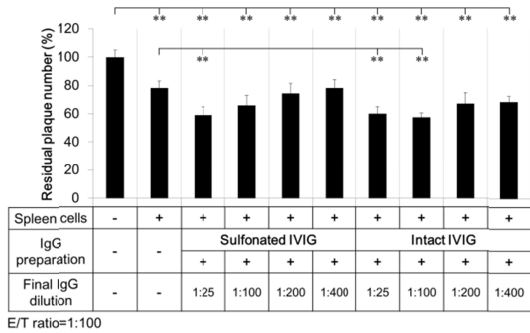


図 2 : ADCC 活性

(2) ASP2151 の HSV-1 複製阻害作用に関する検討

ウイルス感染後、経時的に薬剤を添加し、感染後 48 時間でのウイルス産生量の違いを調べた。感染後早期に薬剤を添加すると、ACV と比較して ASP2151 および PFA は HSV-1 の産生をより強力に抑制した。その一方で、ウイルス複製が開始された後に薬剤を添加した場合には、ACV と同様に ASP2151 と PFA の抑制効果が減弱した (図 3)。

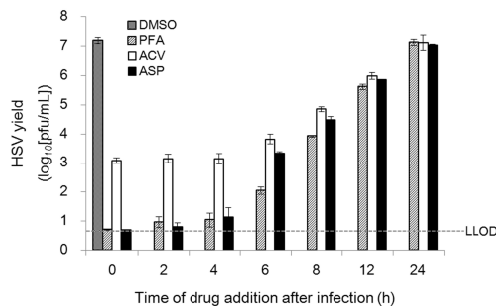


図 3 : 薬剤添加時間によるウイルス産生量の変化

ウイルス感染後、直ちに薬剤を添加し、薬剤存在下でのウイルス複製を継時的に検討した。ACV と比較して ASP2151 は HSV-1 の複製をより強力に抑制した (図 4)。

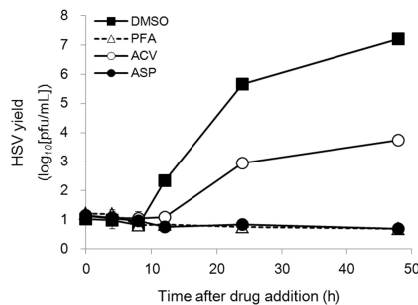


図 4 : 薬剤存在下におけるウイルス産生量の変化

また、ウイルス感染後に一定時間薬剤処理を行い、その後薬剤を除去しウイルス複製の回

復を調べた結果、ACV 処理群では薬剤除去後のウイルス複製の回復は薬剤処理時間の長さの影響を受けなかったのに対し、ASP2151 処理群では薬剤処理時間の長さに応じてウイルス複製の回復が遅れる傾向がみられた。ASP2151 は ACV と比較して感染性ウイルスの産生量を顕著に低下させた。

以上のことから、ASP2151 は HSV 感染症の治療薬としてだけでなく、抑制療法薬として ACV よりも優れた抗ヘルペスウイルス薬となり得ることが示唆された。

< 引用文献 >

- 1) Toyama N et al., J Med Virol, 81: 2053-2058
- 2) Hama Y et al., J Virol, 84: 1616-1624
- 3) Sasaki A et al., J Pharmcol Sci, 104: 218-214
- 4) Nishikawa Y et al., NeuroReport, 20:1077-1080

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 1 件)

Yajima M, Shiraki A, Daikoku T, Oyama Y, Yoshida Y, Shiraki K. Functional differences between antiviral activities of sulfonated and intact intravenous immunoglobulin preparations toward varicella-zoster virus and cytomegalovirus. Journal of Infection and Chemotherapy.21(6):427-433 (2015)

(査読有)

[学会発表] (計 2 件)

矢島美彩子、大黒徹、武本眞清、白木公康 「免疫グロブリン製剤の抗 CMV 及び VZV 効果に関する検討」第 62 回日本ウイルス学会学術集会、2014 年 11 月 10 日 (横浜)

Misako Yajima, Tohru Daikoku, Yukari Oyama, Kimiyasu Shiraki. Characterization of interaction of intravenous immunoglobulin with CMV or CMV-infected cells. The 39th Annual International Herpesvirus Workshop. July 21st, 2014, Kobe, Japan.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢島 美彩子 (Yajima, Misako)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
助教
研究者番号：60443131

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

白木 公康 (Shiraki, Kimiyasu)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
教授