

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12680

研究課題名(和文) 健常人体内でウイルスを増え易くする生体物質の同定

研究課題名(英文) Identification of substances in vivo that increase virus growth in a healthy human body

研究代表者

荒尾 雄二郎 (Arao, Yujiro)

岡山大学・保健学研究科・教授

研究者番号：40151146

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)： ウイルス感染症の発症とその重篤化の予防に役立つ手掛かりを得るために、3名の健常人から採取した安静時唾液を検体として、トルケテノウイルス(TTV)とヒトヘルペスウイルス6型(HHV6)DNAを定量するとともに、炎症関連因子やストレス応答因子を計測し、これらウイルスDNA量と相関する宿主因子を探索した。

ある被験者では、TTV DNAと α -アミラーゼは負に相関し、分泌性IgAとエストラジオールは弱く負に相関していた。これらの生体因子は3名中2名の被験者でもTTV DNAと弱く負に相関していたことから、健常人唾液中に排出されるTTV DNAと関連する可能性が高いと推測された。

研究成果の概要(英文)： I tried to obtain clues to prevent the onset and advancing in severity of viral diseases. I collected saliva at rest from three healthy young adult subjects as specimens. I quantified Torque teno virus (TTV) DNA, human herpesvirus type 6 (HHV 6) DNA, inflammation-related factors, and stress-responsive factors in these specimens and then, searched host factors correlated with TTV or HHV6 DNA.

In one subject, there was a negative correlation between TTV DNA and alpha-amylase and there were weak negative correlations between TTV DNA and both secretory IgA and estradiol. In two of three subjects, I found weak negative correlations between the three substances in vivo and TTV DNA. Thus, it was speculated that the substances are likely to be associated with TTV DNA excreted in healthy human saliva.

研究分野：ウイルス学

キーワード： 健常人 唾液 持続感染ウイルス トルケテノウイルス ヒトヘルペスウイルス6型 nested real-time PCR 炎症関連因子 ストレス応答因子

1. 研究開始当初の背景

(1) 健常人がウイルス感染した場合、重篤化する人とならない人がある。この場合の健常人とは、疾病を増悪する基礎疾患等の背景を持たない人であることを意味する。従って、この事実は、体内でウイルスを増殖し易くする未知の要因が存在することを意味する。このような生体因子は国内外を問わず未だ同定されていない。通常の間接的な考え方は、この未知の要因を探索するためには、健常人に病原ウイルスを接種してその後の症状を経時的に観察、検討する必要がある。しかし、それは人道上許されることではない。

(2) トルケテノウイルス (TTV) とヒトヘルペスウイルス 6 型 (HHV6) は、ほとんど全ての健常人で持続的に増殖して唾液中に排出されている持続感染ウイルスである。これらの持続感染ウイルスの増減を計測することにより、健常人のウイルス増殖に対する許容性を評価できるのではないかと考えた。

(3) 予備調査から、健常人唾液中の TTV と HHV6 DNA 陽性率は、一過性の睡眠不足と逆相関することが見出された。一過性の睡眠不足は炎症関連因子を増加させる。故に、これらの持続感染ウイルスの増殖に炎症関連因子が関与していることが疑われる。また、健常人唾液中の TTV と HHV6 DNA 陽性率は、被験者が精神的ストレスを感じている時期に高くなる傾向が得られた。この事実から、持続感染ウイルスの増殖にストレス応答因子に関連する可能性が示唆された。

2. 研究の目的

(1) 近年、いくつかのウイルス感染症が人類の新たな脅威となっているが、健常人であってもその症状の有無と程度には大きな差異が存在する。一般的には個人差で片付けられてしまうこの差異の原因を科学的に解明することを手掛かりを見出すことを目的とする。

(2) 個人差の原因となる生体因子を同定、またはその同定の手掛かりとなる生体因子を見出し、ウイルス感染症の発症とその重篤化を予防する方法の開発に道を開くことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 健常成人から安静時唾液を採取して検体とした。唾液採取前日の睡眠時間をオムロン睡眠計 HSL-101 で計測した。また、採取当日の心身状態の主観的な評価 (肉体的疲労、精神的疲労、眠さ、やる気、喜び、怒り、悲しさ、及び楽しさ) を Visual analogue scale で数値化して記録した。

(2) 唾液検体中の TTV DNA 量と HHV6 DNA 量を in house の Nested real-time PCR 法で定量した。

(3) 唾液検体中のアルファ-アミラーゼ、コルチゾール、DHEA、17 ベータ-エストラジオール、プロゲステロン、分泌性 IgA、テストステロン、及びインターフェロン-アルファをマイクロプレート法で計測した。

4. 研究成果

(1) TTV を検出することができた 2 名の被験者を対象に、睡眠計による客観的睡眠時間計測を行い、唾液中の TTV DNA コピー数と睡眠時間との相関性を検討した。しかし、唾液中の TTV DNA コピー数と睡眠時間の間には有意な相関は認められなかった。予備調査では、TTV DNA の陽性率と主観的な睡眠時間との間に有意な負の相関が見出されていたにもかかわらず、今回の検討において相関が認められなかった原因は、今回の被験者たちは調査期間の間、睡眠時間にあまり変動がなかったことであると考えられる。

(2) 5 名の被験者を対象に、嗅覚・視覚刺激を実施し、刺激の有無による TTV DNA コピー数の増減を検討した。5 名中 3 名の被験者からは定量可能な量の TTV DNA を検出することができなかった。TTV DNA コピー数を計測することができた 2 名の被験者を対象に、TTV DNA コピー数に対する嗅覚・視覚刺激の影響を検討したが、有意な差は認められなかった。予備調査では、嗅覚・視覚刺激を被験者個別に実施したが、本研究では、複数の被験者がともに実施した。嗅覚・視覚刺激試験実施時に被験者が孤独ではなかったことが TTV DNA コピー数に影響が現れなかった原因であると考えられる。

(3) 1 名の被験者から得た検体について、アルファ-アミラーゼ、コルチゾール、DHEA、17 ベータ-エストラジオール、プロゲステロン、分泌性 IgA、テストステロン、及びインターフェロン-アルファを計測し、TTV 及び HHV6 DNA コピー数と比較検討した。その結果、TTV DNA コピー数は、アルファ-アミラーゼと負に相関 ($r = 0.48$) していた (図 1)。また、TTV DNA コピー数は、分泌性 IgA 及び 17 ベータ-エストラジオールと弱い負の相関 (それぞれ、 $r = 0.24$ と 0.29) を示した (それぞれ、図 2 と 3)。アルファ-アミラーゼや分泌性 IgA はヒトの免疫機能の一翼を担っている。従って、唾液中のアルファ-アミラーゼや分泌性 IgA の減少が唾液中への TTV の排出量の増加と関連していたことには合理性がある。17 ベータ-エストラジオールには炎症抑制作用が報告されている。17 ベータ-エストラジオールの減少が炎症状態を高める結果となり、炎症状態で産生される因子が TTV

の増殖を促している可能性が考えられる。また、17 ベータ-エストラジオールはヒト免疫不全ウイルスの増殖を直接抑制したとの報告があり、17 ベータ-エストラジオールの減少が直接的に TTV の増殖を許容したとも考えられる。

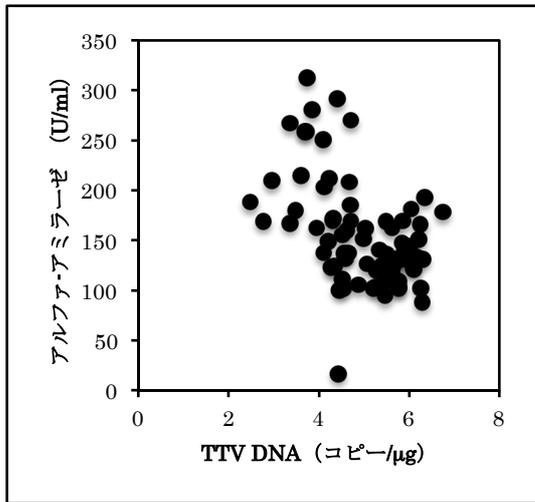


図1 TTV DNA コピー数とアルファ-アミラーゼの間の弱い負の相関

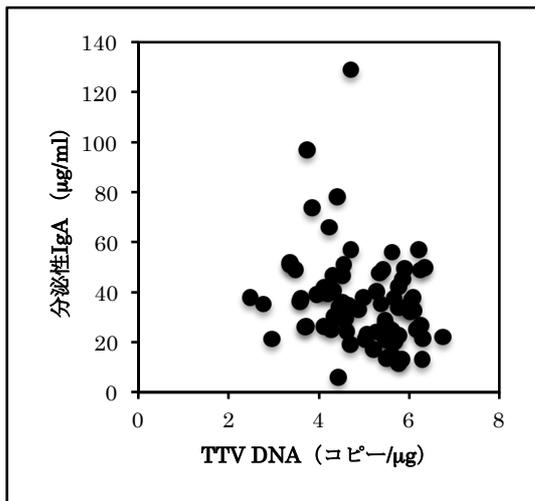


図2 TTV DNA コピー数と分泌性 IgA の間の弱い負の相関

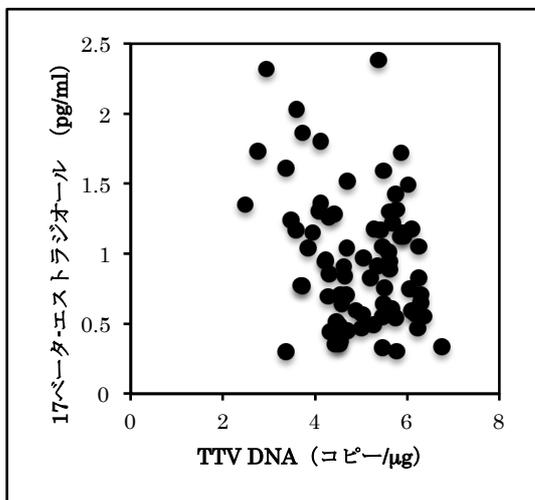


図3 TTV DNA コピー数と17 ベータ-エストラジオールの間の負の相関

さらに、TTV DNA コピー数は、肉体的疲労と正に相関し、喜びと弱い負の相関を示した。

他方、HHV6 DNA 量はアルファ-アミラーゼ、分泌性 IgA 及び17 ベータ-エストラジオールと弱い正の相関を示した。

(4) (3)で TTV DNA コピー数との間で相関が認められた生体因子(アルファ-アミラーゼ、分泌性 IgA 及び17 ベータ-エストラジオール)について、さらに2名の被験者で調査を行った。TTV、HHV6 両ウイルスを検出・定量することができた2名の被験者を調査した結果、2人目の被験者では、TTV DNA コピー数はアルファ-アミラーゼと分泌性 IgA に弱い負の相関を示した。3人目の被験者では、TTV DNA コピー数は17 ベータ-エストラジオールと弱い負の相関を示した。すなわち、アルファ-アミラーゼ、分泌性 IgA 及び17 ベータ-エストラジオールは、3名中2名の被験者で TTV DNA と弱いながらも負に相関していたことが示された。

表 3名の被験者における TTV DNA コピー数と3種類の生体因子の関係

	被験者		
	1	2	3
アルファ-アミラーゼ	負の相関	弱い負の相関	相関なし
分泌性IgA	弱い負の相関	弱い負の相関	相関なし
17ベータ-エストラジオール	弱い負の相関	相関なし	弱い負の相関

人体における TTV 増殖を左右する生体因子は複数あると予想される。また、本研究で調査した因子は直接的ではなく間接的に関連しているかもしれない。従って、TTV 増殖と関連があったとしても、表に現れる結果では、その影響が希釈されていることもあり得る。3名中2名で TTV DNA コピー数と弱く相関していたこれら3種類の生体因子は TTV 増殖に直接的に、または間接的に関連しているのではないかと期待される。

(5) TTV または HHV6 DNA 量と相関する因子が見出されたが、3名の被験者全てに共通する因子は認められなかった。その原因としては、被験者の男女差、性格、持続感染ウイルス量の多少、並びに複数の生体因子による関与が影響していると推測される。

(6) 唾液中のアルファ-アミラーゼは、ストレス負荷に反応して増加と報告されている。他方、唾液中の分泌性 IgA と17 ベータ-エストラジオールはストレス負荷で減少すると認識されている。ストレス負荷で体内の TTV 量が増加して唾液中排出量も増えたと仮定すると、ストレス負荷中に減少する分泌性 IgA と17 ベータ-エストラジオールとの TTV DNA コピー数との弱い負の相関は説明がつく。しかし、TTV DNA コピー数とア

ルファ-アミラーゼとの負の相関は、これまでの報告とは反対である。アルファ-アミラーゼは、交感神経系の直接的な神経作用やノルエピネフリン作用で分泌が亢進される。唾液中 TTV DNA 増加が示唆する体内 TTV の増加は、交感神経系の直接神経作用またはノルエピネフリン作用の低下と関係しているかもしれない。

5. 主な発表論文等

なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荒尾 雄二郎 (ARAO, Yujiro)
岡山大学・大学院保健学研究科・教授
研究者番号： 4 0 1 5 1 1 4 6

(2) 研究協力者

金行 真澄 (KANEYUKI, Masumi)

宮崎 誠 (MIYAZAKI, Makoto)

櫻井 沙絵 (SAKURAI, Sae)

辻 宏樹 (TSUJI, Hiroki)

松元 佳帆 (MATSUMOTO, Kaho)

瀧川 江美 (TAKIZAWA, Emi)

安部 瑞希 (ABE, Mizuki)

高田 悠 (TAKADA, Haruka)

村山 千紗 (MURAYAMA, Chisa)

渡辺 大雅 (WATANABE, Taiga)