

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17346

研究課題名(和文) ヒトヘルペスウイルス6B感染による内側側頭葉硬化症発症の分子メカニズム解明

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular mechanism of medial temporal lobe sclerosis caused by human herpesvirus 6B infection

研究代表者

河村 吉紀 (Kawamura, Yoshiki)

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：30581475

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は難治性てんかんである内側側頭葉硬化症(MTS)患者の脳海馬および扁桃体でヒトヘルペスウイルス6B(HHV-6B)HHV-6B感染のMTSへの影響を明らかにするために、患者脳と健常脳での遺伝子発現を解析した。患者海馬80検体中22検体、扁桃体30検体中8検体でHHV-6Bが検出された。これらHHV-6B検出、非検出脳および健常脳から各2あるいは3検体を選択し、次世代シーケンシングを行った。主成分分析で各群の検体はそれぞれ類似の傾向を示していた。今後、ヒートマップ、ボルケーノプロット、パスウェイ解析により各群での遺伝子発現を比較し、着目した遺伝子発現項目について多数検体での評価を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では先行研究と同様にHHV-6BがMTS患者脳で検出されることが確認され、HHV-6BのMTSへの影響の可能性が再確認された。MTSは抗てんかん薬の内服治療に対して抵抗性であることが多く、現在は手術で海馬、扁桃体を摘出することが有効である。しかしながら、この治療は侵襲性が高く低侵襲かつ有効性の高い治療が望まれている。今後、HHV-6BのMTS発症への関与が明らかにされれば、本症の発症予防あるいは治療として非侵襲的な抗ウイルス薬療法が有効である可能性が提案できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We showed previously that human herpesvirus 6B (HHV-6B) could be detected in hippocampus and amygdala of patients with medial temporal lobe sclerosis (MTS) which was intractable epilepsy. In this study, gene expression were analyzed in brains of these patients and healthy controls to elucidate the influence of HHV-6B infection in MTS patients. HHV-6B was detected in 22 of 80 hippocampus and 8 of 30 amygdala. Two or three samples each were selected from HHV-6B detected, non-detected, or healthy brains, and next-generation sequencing was performed. In the future, we are going to compare these gene expressions between each group and analyze the influence of HHV-6 infection on the hippocampus and amygdala.

研究分野：感染症

キーワード：ヒトヘルペスウイルス6

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1) HHV-6B の海馬における潜伏感染・再活性化

HHV-6B 初感染 (突発性発疹) の臨床像は一般的に予後良好だが、熱性けいれんや脳炎・脳症などの中枢神経系合併症が临床上最大の問題である。また以前我々は HHV-6B 感染に伴う熱性けいれんは複雑型熱性けいれんの頻度が高いことを報告しているが (Arch Dis Child. 2000)、米国の大規模コホート研究 (FEBSTAT 研究) でも HHV-6B と熱性けいれん重積、さらには将来的な内側側頭葉てんかん (MTLE) 発症との関連性について検証中である。数多くの MTLE の発症原因の中で最も主要なものが内側側頭葉硬化症 (MTS) である。MTS の形成には複雑型熱性けいれんなど乳幼児期のけいれん持続が重要な役割を果たしていると考えられており、我々の先行研究でも MTS 以外の原因による MTLE 患者では HHV-6B の関与はなかった。つまり、臨床的に複雑型熱性けいれんの合併頻度が高く、熱性けいれん重積症との関与も示唆されている HHV-6B 感染が、MTLE の中でも特に MTS の病態形成に重要な役割を演じていることが想定される。

上記仮説を支持するデータとして、HHV-6 再活性化による移植後急性辺縁系脳炎の存在と様々な *in-vitro* 研究の結果がある。HHV-6B は移植後辺縁系脳炎の主要な病原ウイルスであることが明らかになっており、我々の研究でも移植後 HHV-6B 脳炎患者髄液には大量のウイルス DNA が存在することが明らかになっている (Kawamura Y, et al. J Clin Virol. 2011)。またグリア細胞での HHV-6B 持続感染、再活性化系を用いた *in vitro* 解析で、HHV-6B の潜伏感染、再活性化がグリア細胞の炎症性サイトカイン遺伝子発現、合成促進に関与している (Yoshikawa, et al. J Med Virol. 2002) ことを示す成績を得ている。以上のような先行研究の成果を基に、MTS 発症における内側側頭葉での HHV-6B 潜伏感染、再活性化仮説を提唱したい。

2) MTLE に対する低侵襲治療法開発の重要性と先行研究深化の必要性

MTLE は薬剤抵抗性の難治性てんかんで、患者 QOL 改善のため前述のように侵襲的外科的治療が行われている。よって、より低侵襲かつ効果的な内科的治療の開発が患者予後改善のために必須である。本疾患の原因の多くを占める MTS 発症機構に、HHV-6B 潜伏感染、再活性化がどのように関与しているか明確にすることで、新規治療戦略としての抗ウイルス療法の可能性が生まれる。我々は MTS 患者の切除脳組織を用いた先行研究で、海馬・扁桃体に潜伏感染した HHV-6B が宿主細胞の遺伝子発現を修飾し MTS を惹起し MTLE 発症に関与している可能性を指摘した (Kawamura Y, et al. J Infect Dis. 2015)。しかしながら、宿主遺伝子発現解析が一部遺伝子だけの解析であったこと、対象検体が MTLE 患者脳組織に限局していたという limitation があった。

2. 研究の目的

先行研究の limitation を排除し、MTS 発症における内側側頭葉での HHV-6B 潜伏感染、再活性化仮説を実証する。

3. 研究の方法

先行研究の limitation を解決するため、HHV-6B コピー数高値 (100 copy/ μ gDNA 以上) の MTS 脳組織、HHV-6B 陰性の MTS 脳組織、健常脳組織から RNA を抽出し、illumina 社 HiSeq 1500 を使って mRNA シーケンス、その後 3 群間の mRNA 発現のトランスクリプトーム解析を行う。HHV-6B 感染脳組織で有意に発現亢進あるいは低下していた遺伝子について、Real-time RT-PCR 法を用いて発現量の差異を確認する。実際には下記を進めていく。

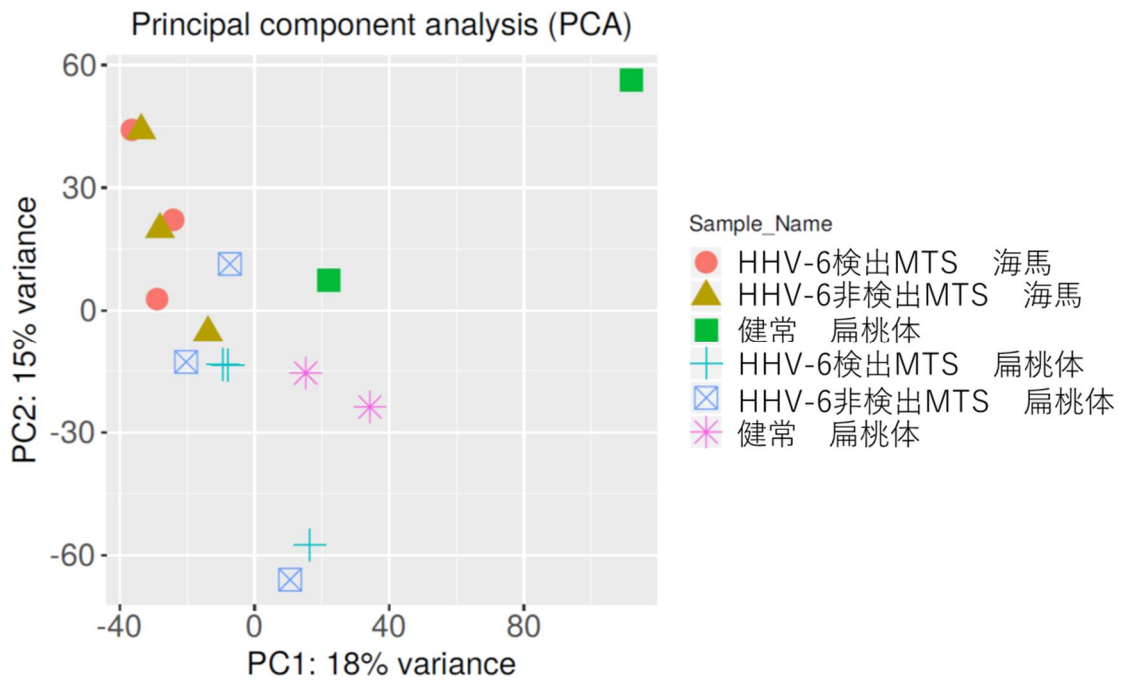
・脳検体収集と HHV-6B DNA 量測定により、条件を満たす対象脳組織 (HHV-6B コピー数高値 MTS 脳組織、HHV-6B 陰性 MTS 脳組織、健常脳組織) を選択

- ・脳組織からの mRNA 抽出
- ・RNA-Seq のためのライブラリー調整
- ・mRNA-Seq
- ・データ解析
- ・Real-time RT-PCR による validation

4. 研究成果

患者海馬 80 検体中 22 検体、扁桃体 30 検体中 8 検体で HHV-6B が検出された。これら HHV-6B 検出、非検出脳および健常脳から各 2 あるいは 3 検体を選択し、RNA-Seq を行った。主成分分析で各群の検体はそれぞれ類似の傾向を示していた (図 1)。今後、ヒートマップ、ボルケーノプロット、パスウェイ解析により各群での遺伝子発現を比較し、着目した遺伝子発現項目について多数検体での評価を行い、HHV-6B 感染が海馬および扁桃体に与える影響を解析する予定である。

図 1 : RNA-Seq 結果の各検体の主成分分析



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyake M, Kawamura Y, Ishihara N, Suzuki S, Miura H, Sakaguchi Y, Tanaka M, Takahashi Y, Kojima S, Toyama H, Natsume J, Yoshikawa T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Hippocampal Atrophy in Pediatric Transplant Recipients with Human Herpesvirus 6B	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms .	6. 最初と最後の頁 776
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/microorganisms9040776.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Miyake M, Kawamura Y, Hattori F, Miura H, Ishihara N, Yoshikawa T.	4. 巻 1009
2. 論文標題 Clinical Features of Complex Febrile Seizure Caused by Primary Human Herpesvirus 6B Infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatr Neurol.	6. 最初と最後の頁 52-55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pediatrneurol.2020.03.015.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三宅未紗、河村吉紀、服部文彦 三浦浩樹、石原尚子、吉川哲史
2. 発表標題 HHV-6B感染による複雑型熱性けいれんの臨床像解析
3. 学会等名 第122回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshiki Kawamura, Misa Miyake, Naoko Ishihara, Jun Natsume, Shigetaka Suzuki, Hiroki Miura, Yoshiyuki Takahashi, Seiji Kojima, Hiroshi Toyama, Tetsushi Yoshikawa
2. 発表標題 Reduction of hippocampal volume due to human herpesvirus 6B infection in pediatric hematopoietic stem cells transplant recipients.
3. 学会等名 第67回ウイルス学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河村吉紀
2. 発表標題 内側側頭葉てんかんとHHV-6
3. 学会等名 第60回日本臨床ウイルス学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関