

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17928

研究課題名(和文)皮膚ポリオーマウイルスから判ずる宿主のオリジンおよび炎症性皮膚疾患との関連性

研究課題名(英文) Host origin determined by the skin-tropic human polyomavirus genotypes and its relationship with inflammatory skin diseases

研究代表者

橋田 裕美子 (Hashida, Yumiko)

高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・助教

研究者番号：00767999

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚微生物叢は皮膚の健康と密接に関係しており、皮膚常在ウイルスも様々な皮膚疾患において重要な役割を担っていると考えられる。本研究では、皮膚に生息する主なウイルスの一つであるポリオーマウイルスに注目し、「ウイルスゲノム多型を利用した新たな系統分類」と「ポリオーマウイルス群と炎症性皮膚疾患との関連性の探求」を行った。これにより、宿主の民族・地域により皮膚常在ポリオーマウイルスのDNA型が異なること、簡便に判別可能なDNA領域が存在すること、特定の皮膚疾患では皮膚ポリオーマウイルスの量に変動があり、分布しているポリオーマウイルスのDNA型も地域により異なることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

常在微生物研究は細菌に焦点をあてるものが多く、ウイルスについては知見が不足している。本研究では主要な皮膚常在ウイルスである3つのポリオーマウイルスについて、健常者および皮膚疾患患者での系統差が明らかとなり、不足している皮膚ウイルスのゲノム情報蓄積への貢献に加え、皮膚ウイルスと疾患との関連性へと迫る基盤データを提供することができた。さらに、系統差を簡便に判別できる特異的領域を見出したことから、皮膚常在ウイルスゲノムの法医学的利用への展開も期待できる。

研究成果の概要(英文)：Human skin microbes have been associated with various skin diseases. To date, most studies on skin microbiome have focused on the bacterial population and less is known about resident skin viruses such as human polyomaviruses (HPyVs), their genomic variations among ethnic groups, and their association with skin disorders.

In this study, we investigated the genotypes of three skin-tropic polyomaviruses, Merkel cell polyomavirus, human polyomavirus 6, and 7, using swabs collected from the skins of healthy individuals and Japanese patients with inflammatory skin diseases. Phylogenetic analyses showed two major clades that were ethnologically related to variant genotypes of HPyVs prevalent in the skin, compared with white and Asian/Japanese individuals. The viral strains obtained from our patients were all of the Asian/Japanese clade. These results suggest the existence of Asian/Japanese-specific strains genetically distinct from those prevalent in the skin of the white population.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ウイルス 皮膚 DNA型

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

人体の外部環境に接するあらゆる部位には微生物が共生しており、その多様性とバランスは健康と密接に関与することから注目を集めている。これまでの研究の多くは、細菌に焦点をあてたものであり、常在するウイルスについては不明な点が多い。外界と常に接する皮膚では、多量なウイルスの存在が報告されており、様々な皮膚症状に関与している可能性が示唆される。

ポリオーマウイルスは、主要な皮膚常在ウイルスの一つである。中でも、メルケル細胞ポリオーマウイルス (MCPyV)、ヒトポリオーマウイルス 6 型 (HPyV6)、ヒトポリオーマウイルス 7 型 (HPyV7) は、これまでの我々の研究により、健常者皮膚に常在すること、アトピー性皮膚炎や乾癬患者の皮膚では健常者と比べてウイルス量に変動があることが明らかとなっている。さらに MCPyV は、そのゲノムの特定領域に変異が生じた「変異型」は皮膚癌の一種であるメルケル細胞癌を惹起する腫瘍ウイルスでもある。一方で、変異のない「野生型」は健常者皮膚に常在しており、小児期に無症候感染後、低ウイルス量で持続感染することが明らかとなっている。このことから、MCPyV は宿主の育った地理/民族的環境を反映すると考えられた。メルケル細胞癌は、主に欧州や北米の白人集団に頻発し、アジア圏での発症は少ないという特徴を有するが、民族間での MCPyV の変異状況は明らかにされていない。HPyV6 および HPyV7 も同様であり、ポリオーマウイルスゲノムの民族・地理的環境による多様性についての知見は不足している。

### 2. 研究の目的

以上の背景から本研究では、皮膚に生息する主なウイルスの一つであるポリオーマウイルスに注目し、「ウイルスゲノム多型を利用した新たな系統分類」と「ポリオーマウイルス群と炎症性皮膚疾患との関連性の探求」を行うこととした。

健常者の健常部および炎症性皮膚疾患患者の病変部と非病変部に分布する MCPyV・HPyV6・HPyV7 の DNA 型に注目し、民族/地理的環境における系統差と炎症性皮膚疾患との関連性を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

様々な地域出身の健常者ボランティアを募り、清潔綿棒で擦過することにより皮膚スワブ検体を採取した。また、アトピー性皮膚炎および乾癬患者の病変部および非病変部を同様に擦過し、検体を採取した。これらから DNA を抽出し、これまでの研究で収集した皮膚スワブ DNA と合わせて、MCPyV・HPyV6・HPyV7 のウイルス DNA を定量リアルタイム PCR 法により検出した。ウイルス DNA が検出された検体において、PCR ダイレクトシーケンシング法により、各々のウイルス DNA 配列を同定した。その後、GenBank に登録されている世界各地の配列と合わせて系統解析および変異解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 健常者におけるポリオーマウイルスの系統差

これまでの研究で収集した健常者皮膚スワブ DNA を解析し、異なる民族・地理的起源をもつ健常者の皮膚スワブに含まれる MCPyV のゲノム配列を GenBank に登録されている MCPyV 株情報と合わせて解析を行なった。宿主の出身地域の情報と照らし合わせ、MCPyV 配列を比較したところ、日本・東アジア地域由来の皮膚スワブからは、MCPyV の転写・複製調節に関与する非コード領域に特徴的な 25 塩基の反復配列を有する株が検出されることが明らかとなった。

反復配列の有無により、大きく二つの型「I 型」「II 型」に大別され、反復配列を有する「I 型」は主に日本・東アジア由来の皮膚スワブから検出され、反復配列の無い「II 型」はそれ以外の地域由来の皮膚スワブから検出された。さらに解析を行った結果、周辺のゲノム領域の配列差から「II 型」は、「IIa-1 型」「IIa-2 型」「IIb 型」「IIc 型」の 4 つの型に分類できる可能性が示唆された。一部塩基の欠損や挿入による配列長差により判別可能であることから、対象領域を PCR で増幅した電気泳動パターンからも型の判別が可能であった。

この分類は、MCPyV の他領域の配列解析で得られた系統樹とも関連していた (図 1)。系統樹には、MCPyV 株名と分離された地域または宿主の出身地域、および型を記載した上で色により分別した。さらに、本研究で決定した株は太字で示した。

IIa-1 型と IIa-2 型は、主に欧州・北米に広く分布しており、IIb 型は主にオセアニア周辺で得られた株で認められた。解析対象領域における IIc 型と I 型の配列差は 25 塩基の反復配列の有無のみであり、系統樹においても、数は少ないものの IIc 型は I 型と同じクレードに属していた。

以上のことから、MCPyV の一部領域の配列差により日本・東アジア系かそれ以外かを大別可能であることが明らかとなった。皮膚スワブから簡便に宿主の民族・地理的起源を推定できる可能性が示唆され、今後法医学的利用への展開も期待される。

#### (2) 炎症性皮膚疾患患者病変部における皮膚ポリオーマウイルスの系統差

これまでの我々の研究から、代表的な炎症性皮膚疾患であるアトピー性皮膚炎および乾癬患者の病変部皮膚では、非病変部皮膚または健常者の健常皮膚と比べてポリオーマウイルス群の

量に変動があることが明らかとなっている。そこで病変部皮膚から検出されるポリオーマウイルスのゲノム配列の同定を行うとともに、健常者の皮膚スワブから得られたウイルス株の配列の決定を行なった。これにより得られたウイルス配列と世界各地域で分離され、GenBank に登録されているゲノム配列を合わせて系統解析を行い、得られた系統樹を図 2 に示した。本研究で我々が配列決定した株は太字で示すとともに、アトピー性皮膚炎由来株は赤色、乾癬由来株は黄色で示した。系統樹は、MCPyV、HPyV6、HPyV7 のいずれのウイルスにおいても、大きく日本・アジアのクレードと欧米のクレードに分かれることが示された。本研究で得られた本邦の健常者皮膚スワブ由来株と皮膚疾患患者由来のウイルス株は、すべて日本・アジアグループのクレードに属しており、欧米で流行している株とは異なる遺伝子型を示すことが明らかとなった。

### (3) 炎症性皮膚疾患患者病変部と非病変部における皮膚ポリオーマウイルスの配列差

上記の研究で、アトピー性皮膚炎および乾癬患者の皮膚では、ポリオーマウイルス群の量的変動が生じており、病変部皮膚から得られるポリオーマウイルス株 (MCPyV、HPyV6、HPyV7) は欧米とは異なる遺伝子型を保持していることが明らかとなった。次に、患者の病変部と病変の認められない正常部の皮膚スワブから得られたウイルスゲノム配列の比較を行ったところ、解析対象領域内の配列において正常部と病変部で差は認められなかった。このことから、患者個人での部位におけるウイルス遺伝子型に変化は無いことが示唆された。また同様に、健常者個人においても頭部と腕部において身体部位別の皮膚スワブにおけるウイルスゲノム配列の比較を行ったところ、MCPyV・HPyV6・HPyV7 の各々のゲノム配列に差は認められなかった。

これらの研究により、3 つの皮膚指向性ポリオーマウイルスの系統差が明らかとなり、MCPyV においては簡便に系統差を判別できる特異的領域を見出した。さらに、本邦のアトピー性皮膚炎・乾癬等の炎症性皮膚疾患患者では、欧米とは異なる遺伝子型を有するウイルス株の量的変動が生じていることが明らかとなった。

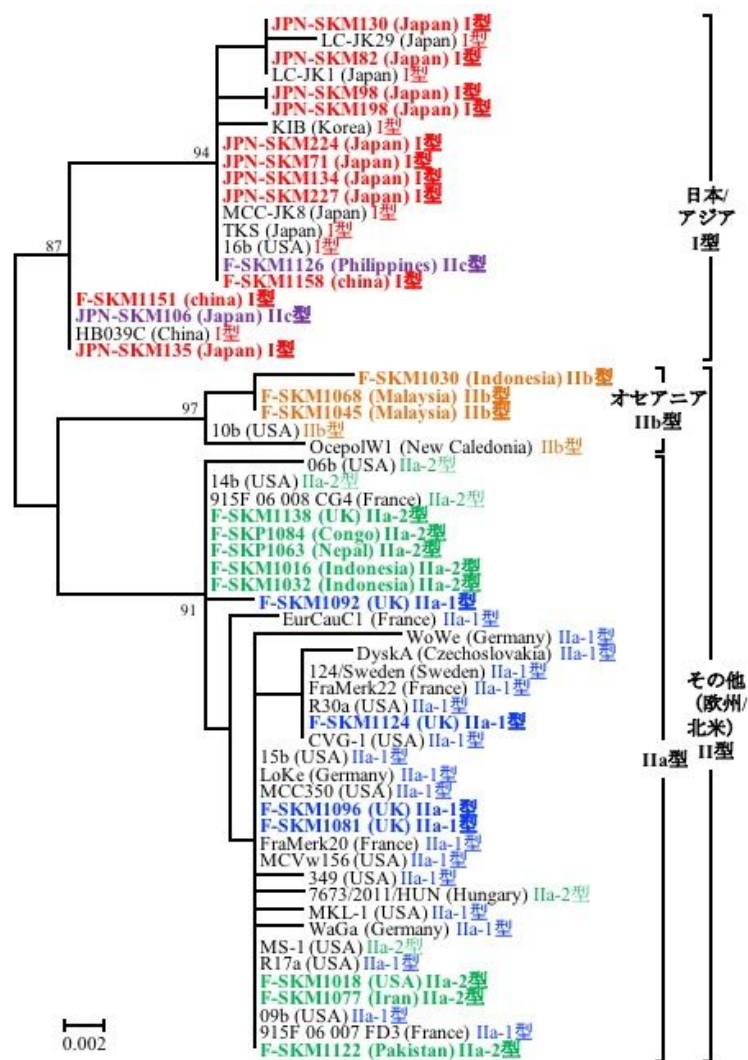


図 1

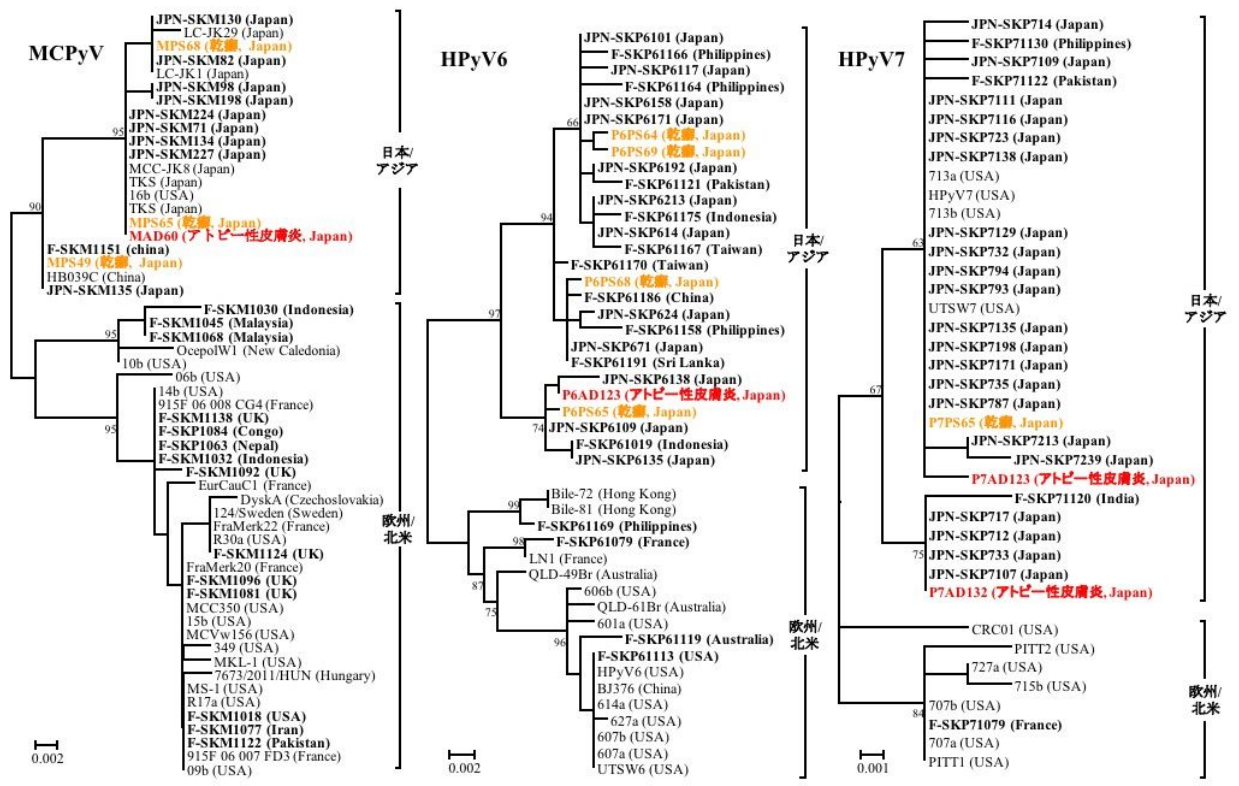


図 2

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hashida Yumiko, Higuchi Tomonori, Matsumoto Shuichi, Iguchi Mitsuko, Murakami Ichiro, Hyodo Masamitsu, Daibata Masanori	4. 巻 112
2. 論文標題 Prognostic significance of human papillomavirus 16 viral load level in patients with oropharyngeal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4404 ~ 4417
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15105	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 Nishimori Tomohiro, Higuchi Tomonori, Hashida Yumiko, Ujihara Takako, Taniguchi Ayuko, Ogasawara Fumiya, Kitamura Naoya, Murakami Ichiro, Kojima Kensuke, Daibata Masanori	4. 巻 10
2. 論文標題 Development of a novel cell line derived xenograft model of primary herpesvirus 8 unrelated effusion large B cell lymphoma and antitumor activity of birabresib in vitro and in vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 8976 ~ 8987
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.4394	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 Hashida Yumiko, Higuchi Tomonori, Nakajima Kimiko, Ujihara Takako, Murakami Ichiro, Fujieda Mikiya, Sano Shigetoshi, Daibata Masanori	4. 巻 140
2. 論文標題 Human Polyomavirus 6 with the Asian-Japanese Genotype in Cases of Kimura Disease and Angiolymphoid Hyperplasia with Eosinophilia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1650 ~ 1653.e4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2019.12.027	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 橋田裕美子、樋口智紀、氏原隆子、大畑雅典
2. 発表標題 木村病と好酸球性血管リンパ球増殖症におけるヒトポリオーマウイルスの検出
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西森 大洋、樋口 智紀、橋田 裕美子、大畑 雅典
2. 発表標題 HHV8 陰性原発性滲出性リンパ腫細胞由来の異種移植モデルの樹立とその解析
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yumiko Hashida , Tomonori Higuchi , Masanori Daibata
2. 発表標題 Epidemiological investigation of Merkel cell polyomavirus infection levels in the human skin.
3. 学会等名 第93回日本感染症学会総会・学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋田裕美子, 樋口智紀, 西森大洋, 大畑雅典
2. 発表標題 健康者皮膚におけるヒトポリオーマウイルス6およびヒトポリオーマウイルス7の疫学調査
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 樋口智紀, 橋田裕美子, 西森大洋, 大畑雅典
2. 発表標題 EBV陽性膿胸関連リンパ腫はケモカインCCL17およびCCL22を発現し, CCR4陽性制御性T細胞を誘引する
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 橋田裕美子、大畑雅典ほか60名	4. 発行年 2021年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 426
3. 書名 進化する皮膚科学（第3章皮膚マイクロバイオーム 第2節皮膚ウイロームと炎症性皮膚疾患）	

〔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
---------	---------