

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17460

研究課題名（和文）CIHHV-6の活性化機構および病原性の解明

研究課題名（英文）Research of activation mechanism and pathogenicity of CIHHV-6

研究代表者

遠藤 明史（Endo, Akifumi）

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・プロジェクト助教

研究者番号：80624238

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）：本研究では、CIHHV-6の活性化機構の解明を目指した。CIHHV-6患者の臨床情報および臨床試料の収集を行うため、本邦の免疫不全レジストリを活用し、その中からCIHHV-6患者を同定し、臨床試料および臨床情報を収集した。研究期間中はCOVID-19の社会的影響が大きい時期であったため、それらの研究にも協力した。私達のCIHHV-6症例は単一遺伝子IL2RG異常の免疫不全患者で活性化が見られ、該当遺伝子が活性化機構に関わったかどうかを検証するため、患者家族検体より不死化細胞株を樹立し、IL2RGをノックダウンする系の立ち上げを検討したが、系の確立に難渋しており引き続き条件の検討をしている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CIHHV-6患者さんを含んだ本邦の免疫不全レジストリを構築することができた。

また研究期間中はCOVID-19の社会的影響が大きかったため、それらの研究へ貢献した。CIHHV-6症例からもEBVによる不死化細胞株の樹立が確認できた。

しかしノックダウンする系の立ち上げは通常の細胞よりも難しいことが確認された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to elucidate the activation mechanism of CIHHV-6. We collected clinical information and samples from patients with CIHHV-6. We constructed an immunodeficiency registry in Japan, identified CIHHV-6 patients, and collected clinical specimens and clinical information. Also, during the research period, the social impact of COVID-19 was significant, so we cooperated with those studies. In our case of CIHHV-6, activation was observed in an immunodeficient patient with a single-gene IL2RG abnormality, and in order to verify whether the corresponding gene was involved in the activation mechanism, an immortalized cell line was established from the patient's family specimen. We studied the establishment of a system that knocks down IL2RG. But it is difficult to establish the system, and we are examining the conditions.

研究分野：pediatrics

キーワード：CIHHV-6 HHV-6 immunodeficiency

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Human herpesvirus - 6 (HHV-6) は小児期に初感染をし、その後ほとんどの人の体内に潜伏感染し、けいれん発作や脳炎などに関わる DNA ウイルスである。1993 年にこの HHV-6 がヒトゲノムの生殖細胞系に組み込まれる事 (Chromosomally integrated HHV-6: CIHHV-6) が報告され、その後 CIHHV-6 は全人口の約 1% (日本では 0.6% と報告されている。Miura, et al. J Med Virol. 2018) に存在し、親から子へ遺伝的に伝播する事が分かってきた。

CIHHV-6 は、その頻度の多さからしばらく病原性が無いと考えられていたが、in vitro でウイルスが活性化することが報告され (Arbuckle, et al. Proc Natl Acad Sci. 2010) 続いて申請者らが、初めてこの CIHHV-6 が人の体内で活性化し病原性を有する事をウイルス学的かつ分子生物学的に確認し報告した (Endo A, et al. Clin Infect Dis. 2014)。その後も CIHHV-6 と各種の疾患との相関について示唆する論文が報告されている (Nat Commun. 2015, blood advances. 2018) が、活性化の分子的機構は未だ解明されていない。またそもそもヒトゲノムに組み込まれる過程やその後の不活化に寄与する分子的機構についても未解明のままである。

### 2. 研究の目的

CIHHV-6 の人体内における活性化機構を解明すること

### 3. 研究の方法

#### CIHHV-6 臨床試料および臨床情報の収集

本邦の免疫不全症レジストリを活用し、HHV-6 DNA 検査を行い CIHHV-6 患者と家族を同定する。同定後、患者に研究について同意のもとで臨床試料と情報を収集する。

#### 臨床試料を用いた CIHHV-6 活性化の確認および活性化機構の解明

上記コホートの臨床試料より、免疫不全患者および健常者の CIHHV-6 それぞれで、ウイルス学的な活性が確認されるか検証する。

以下の解析系を構築する。

a. リアルタイム定量 RT-PCR による HHV-6 mRNA の測定系。

また必要に応じ以下の解析系も検討する。

b. HHV-6 活性化蛋白の免疫染色

c. 感染細胞のウイルス分離

活性が確認された症例は、臨床症状との相関について解析する。

免疫不全者でみられる原因遺伝子が活性化機構に必須の遺伝子であるか、該当遺伝子をノックダウンで確認し、活性化機構の解明を行う。

### 4. 研究成果

#### (1) レジストリの構築

本邦の免疫不全レジストリ (primary immunodeficiency database in Japan: PIDJ) を更新構築し、その中からウイルス検査を試行し CIHHV-6 患者を同定した。患者及び家族に同意を取得し、臨床試料および臨床情報を収集した。この免疫不全症レジストリに関しては、これまでの経過をまとめ報告した。

#### (2) ウイルスの検出と臨床情報の解析

また上記のレジストリ上で HHV-6 を含んだ、主に免疫不全者に病原性を呈するウイルスの網羅的な検出を施行し、レジストリ上の臨床情報と検出されたウイルスから興味深い知見が得られ、これらについても報告した。特に研究期間中は COVID-19 の社会的影響が大きかったため、COVID-19 と重症化に関わる因子探索の研究などにも協力した。

#### (3) 該当遺伝子のノックダウンと活性化機構の解明

次に私達の経験した CIHHV-6 の活性化が見られた症例は単一遺伝子 IL2RG 異常の免疫不全患者であったことから、該当遺伝子が活性化機構に関わる遺伝子であるかどうか、該当遺伝子をノックダウンする系の立ち上げを検討した。まず患者の家族で CIHHV-6 ではあるが、遺伝的に IL2RG 欠損の免疫不全ではない症例の血液細胞より EB ウイルスによる不死化細胞株を樹立した。

次に CRISPR で IL2RG のノックダウンを試みたが、ノックダウン後の細胞が得られず、系の確立までは現時点では進まなかった。この原因には患者由来の原因などが考えられたが、現在条件の検討などを行っている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mitsui-Sekinaka Kanako, Sekinaka Yujin, Endo Akifumi, Imai Kohsuke, Nonoyama Shigeaki	4. 巻 12
2. 論文標題 The Primary Immunodeficiency Database in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2021.805766	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 Asano Takaki, Boisson Bertrand, Onodi Fanny, et al.	4. 巻 6
2. 論文標題 X-linked recessive TLR7 deficiency in ~1% of men under 60 years old with life-threatening COVID-19	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciimmunol.abl4348	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 -
1. 著者名 Inoue Maiko, Isoda Takeshi, Yamashita Motoi, Tomoda Takahiro, Inoue Kento, Okano Tsubasa, Ohkawa Teppei, Endo Akifumi, Mitsuiki Noriko, Kamiya Takahiro, Yanagimachi Masakatsu, Yamamoto Kouhei, Inaba Yuichiro, Sasaki Toru, Takagi Masatoshi, Kanegane Hirokazu, Imai Kohsuke, Morio Tomohiro	4. 巻 41
2. 論文標題 Cytomegalovirus Laryngitis in Primary Combined Immunodeficiency Diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 243 ~ 247
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10875-020-00873-9	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 -
1. 著者名 Nishimura Akira, Aoki Yuki, Ishiwata Yasuyoshi, . . . Endo Akifumi, Yasuhara Masato, Kamiya Takahiro, Mitsuiki Noriko, Ono Toshiaki, Isoda Takeshi, Yanagimachi Masakatsu, Tomizawa Daisuke, Nagasawa Masayuki, Mizutani Shuki, Kajiwarra Michiko, Takagi Masatoshi, Kanegane Hirokazu, Imai Kohsuke, Morio Tomohiro	4. 巻 online
2. 論文標題 Hematopoietic Cell Transplantation with Reduced Intensity Conditioning Using Fludarabine/Busulfan or Fludarabine/Melphalan for Primary Immunodeficiency Diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 online
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10875-021-00966-z	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 -

1. 著者名 Udagawa Tomohiro, Matsuyama Yusuke, Okutsu Mika, Motoyoshi Yaeko, Okada Mari, Tada Norimasa, Kikuchi Eriko, Shimoda Masuhiro, Kanamori Toru, Omori Tae, Takahashi Masaki, Imai Kohsuke, Endo Akifumi, Fujiwara Takeo, Morio Tomohiro	4. 巻 2
2. 論文標題 Association between Immunoglobulin M and Steroid Resistance in Children with Nephrotic Syndrome: A Retrospective Multicenter Study in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Kidney360	6. 最初と最後の頁 487 ~ 493
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.34067/KID.0004432020	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0件

〔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
---------	---------