

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659206

研究課題名(和文) ヒトヘルペスウイルス6による宿主免疫抑制機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of mechanism of human herpesvirus-6-induced immune suppression

研究代表者

森 康子 (MORI, YASUKO)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50343257

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6) は初感染時および再活性化時に宿主の免疫抑制を惹き起す場合があると報告されているが、そのメカニズムは不明である。我々はHHV-6感染細胞におけるCD6分子の発現低下を見出している。本研究では、CD6分子発現低下時期の同定を試み、その責任遺伝子の探索を行い、候補となるウイルス遺伝子を見出した。CD6分子は免疫シナプスの形成など、宿主の免疫応答において重要な因子であるため、今回の結果はHHV-6感染における免疫抑制のメカニズムの解明に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Primary infection and reactivation of HHV-6 have been reported to induce immunosuppression in host. The mechanism behind this phenomenon is unknown. We have identified the downregulation of CD6 on HHV-6-infected cells. Here we found that CD6 was dramatically downregulated at the late phase of infected cells, and we also searched for the viral genes responsible for this downregulation and found several genes which might be associated with this phenomenon. Our findings may contribute to elucidating the mechanism of immunosuppression induced by HHV-6 infection.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学

キーワード：分子 細胞 ヘルペスウイルス

1. 研究開始当初の背景

ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6; 現在は HHV-6A および HHV-6B の 2 種類のウイルスに再分類されている) は乳児期の宿主の主に免疫担当細胞に感染後、潜伏し、宿主と生涯をともにすることから、ほぼ 100% の成人の体内に潜伏感染している。免疫抑制状態の宿主において HHV-6 は再活性化し、脳炎など重篤な病気を引き起こす。初感染時および再活性化時に HHV-6 は宿主の免疫抑制を惹き起こすが、そのメカニズムは不明である。近年、我々は T 細胞に発現し、宿主の免疫応答、特に免疫シナプスの形成において重要な因子である CD6 分子の発現が、HHV-6 感染 T 細胞表面において低下していることを見出した。そこで、我々は CD6 分子に着目し、HHV-6 感染による CD6 分子発現低下の機序を解明すると共に、HHV-6 感染における宿主免疫抑制機構の解明を目指した。

2. 研究の目的

HHV-6 感染細胞における CD6 分子の発現低下機構の解析および HHV-6 感染による宿主免疫抑制機構との関連性の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) HHV-6 感染における CD6 発現低下の時期を検討した。HHV-6 を T 細胞に感染させ、経時的に細胞を回収し、感染細胞表面における CD6 の発現量を FACS により解析した。

(2) CD6 発現低下に關与するウイルス遺伝子の同定を試みた。まず、紫外線により不活化した HHV-6 を T 細胞に感染させ、と同様に細胞表面における CD6 の発現量を FACS により解析することで、感染後新規に合成されるウイルス遺伝子産物が CD6 の発現低下

に必要であるか否かを調べた。また、ウイルス DNA 合成阻害剤などを用いて CD6 発現低下に關与するウイルス遺伝子の発現時期を調べた。以上の実験より、CD6 発現低下に關与すると考えられる HHV-6 がコードするその責任遺伝子を絞り込み、293T 細胞にそれらの遺伝子とを導入し、CD6 発現低下との関連性を調べた。

(3) HHV-6 感染細胞において、上記の HHV-6 遺伝子が CD6 の発現低下に關与するか否かを調べた。我々は既に HHV-6 の全ゲノムを大腸菌に維持させることに成功しているため、大腸菌内での組換え法を用いて、で同定した遺伝子を欠損させたウイルスを作製し、細胞に感染させ、感染細胞表面での CD6 分子の発現量を FACS にて調べた。また、それらの細胞での CD6 の総発現量を western blot 法で調べた。

4. 研究成果

(1) HHV-6 感染 T 細胞表面における CD6 の発現量を経時的に調べた結果、CD6 の発現低下は感染後期の細胞でよく見られた (図 1)。

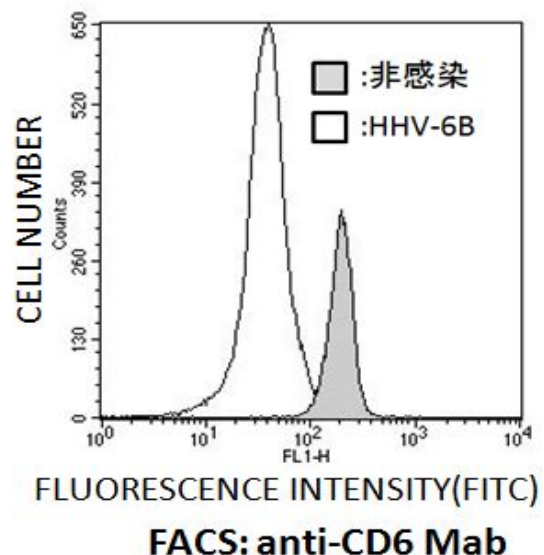


図 1. HHV-6B 感染後期の T 細胞および非感染 T 細胞における CD6 の細胞表面での発現

(2) 紫外線により不活化した HHV-6 を T 細胞に感染させたところ、感染した細胞表面での CD6 の発現低下は認められなかった (図 2)。この結果より、HHV-6 感染による CD6 分子発現の低下には、ウイルス感染後、新たに合成された遺伝子産物が必要であることが示唆された。

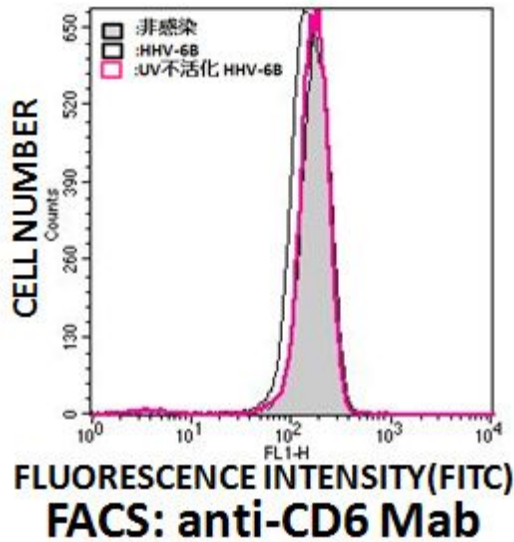


図 2. 紫外線不活化 HHV-6B 感染 T 細胞表面における CD6 の発現

(3) ウイルス DNA 合成阻害剤による処理を行った T 細胞に HHV-6 を感染させたところ、CD6 の発現低下が認められた (図 3)。以上より、HHV-6 感染における CD6 分子の発現低下には HHV-6 の前初期或いは初期遺伝子の発現が必要であることが明らかとなった。

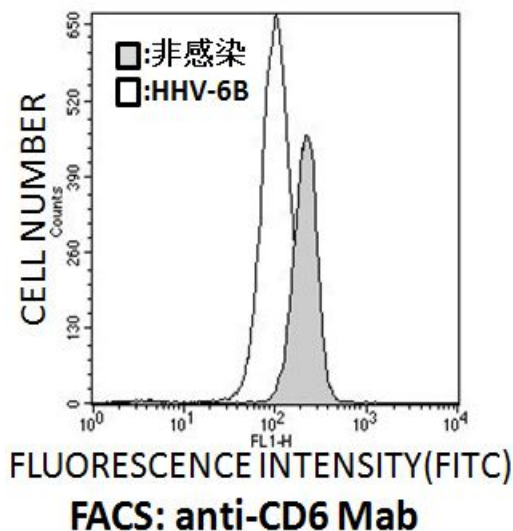


図 3. ウイルス DNA 合成阻害剤添加時における HHV-6B 感染細胞表面からの CD6 の発現減少

(4) 候補とした、HHV-6 の糖タンパクをコードする遺伝子クラスター欠損ウイルスを T 細胞に感染させたところ、感染時期によっては、若干の CD6 分子の発現低下が認められたため、この遺伝子クラスターが CD6 発現低下に関与することが示唆された。

(5) 上記の遺伝子クラスターの個々の遺伝子と CD6 発現低下との関連性を調べた結果、そのうち 2 つの遺伝子が CD6 の発現低下に関与する可能性が高いという結果が示された。

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)

Hayashi, M., K. Yoshida, H. Tang, T. Sadaoka, A. Kawabata, C. Jasirwan, and Y. Mori. 2014. Characterization of the human herpesvirus 6A U23 gene. *Virology* 450-451:98-105. 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

林 麻佑子、河端 暁子、湯 華民、定岡知彦、森 康子、ヒトヘルペスウイルス 6B 感染により引き起こされる宿主因子の発現低下、2013 年 11 月 10 日~12 日、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)

林 麻佑子、世良田 聡、河端 暁子、湯 華民、定岡 知彦、仲 哲治、森 康子、ヒトヘルペスウイルス 6B 感染による宿主細胞のシグナルと免疫抑制の解析、2013 年 5 月 30 日~6 月 1 日、第 28 回ヘルペスウイルス研究会、淡路夢舞台国際

会議場 (兵庫県淡路市)

〔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：
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

森 康子 (MORI, Yasuko)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：50343257