

8) 単純ヘルペスウイルス活動性感染モデルでの増幅
効率と宿主細胞内シグナル伝達との関連解明

研究代表者 長森 恒久

【研究背景と目的】

新生児ヘルペスはHSV-1またはHSV-2の母子垂直感染によって起こる重篤な感染症である。抗ウイルス薬のアシクロビル (acyclovir: ACV) は効果的である一方で限界があり、適切にACVを使用しても死亡あるいは神経学的後遺症を残す症例があり、単独治療には限界がある。従ってACVと併用し得る治療法の確立が望まれる。

ヒトヘルペスウイルス (Human herpes viruses: HHV) では、早期に発現しウイルス蛋白の転写促進因子として働く Immediate early (IE) 蛋白をコードする遺伝子のエンハンサー領域に、ヒトの転写因子結合領域が存在する事が知られており [2]、HSVでもNF- κ Bの活性化を阻害する IkappaB を遺伝子導入し高発現させた細胞ではHSV増幅効率が著しく低下する事 [3]、同じHHVである cytomegalovirus (CMV) では感染により誘導される cyclooxygenase-2 (COX-2) 阻害でウイルス増幅が阻害される事 [4] が報告されている。つまり自身の感染による炎症反応を利用して増幅効果を上げている事になる。『宿主細胞内シグナルがウイルス増幅効率を修飾する』機能は他のウイルスではほとんど認められていない。

臨床的に新生児ヘルペス全身型では強烈的なHSV感染に伴い重度の全身性炎症反応症候群 (Systemic inflammatory syndrome: SIRS) を呈し、いわゆる高サイトカイン状態からショック、DICを合併し多臓器不全に至る。また高頻度にHSV感染関連血球貪食症候群への移行も認められ、ウイルスの直接侵襲と惹起された過剰な炎症が共同で病態を形成しているものと思われる。しかしこの病態に対するステロイドを代表とした抗炎症的治療介入の是非は明らかでない。炎症抑制に働く各種薬剤がウイルス感染自体にどう影響を及ぼすかを解析し、新生児ヘルペスを代表とする重症HSV感染症におけるアシクロビルとの併用療法の候補確立をめざす研究を行った。

【方法と対象】

細胞はヒト線維芽細胞 (hTERT-BJ1), ウイルスは HSV-1 (VR3) を用いた。24well-dish で感染を MOI=0.01 で行い、一定の培養時間後、凍結 / 解凍により作製したウイルス溶液から DNA を抽出しリアルタイム PCR でウイルス量を定量した。

【結果】

1) COX2 阻害剤による HSV 増幅効率抑制効果と PGE2 共添加条件での解析

COX2 選択的阻害剤として NS398 を 1,5,10 μ Mol の量で培養液に加えて培養時間 18 時間で評価した。また、NS398 と PGE2 1 μ Mol 共添加の条件も解析した。

結果は右に示す通りであり、NS398 は用量依存的に HSV 増幅効率を抑制した。また、NS398 の HSV 抑制効果は PGE2 を加える事によって消失する傾向があり、NS398 10 μ Mol では有意差を持って PGE2 投与による HSV 増幅効率のリカバリーが認められた。

解釈として、HSV は自らの感染に伴って COX-2 が誘導されて PGE2 を介した炎症反応が起こるという宿主の反応を利用して自らの増幅効率を上げるというメカニズムを持っている事が考えられる。

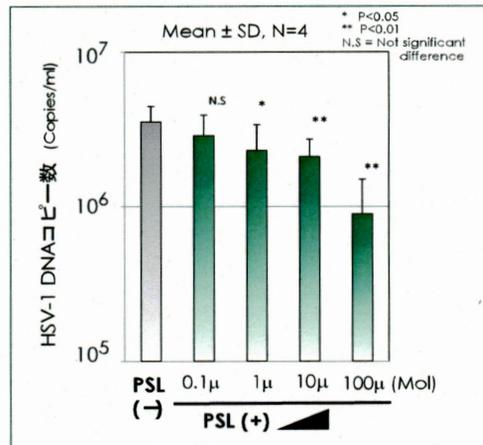
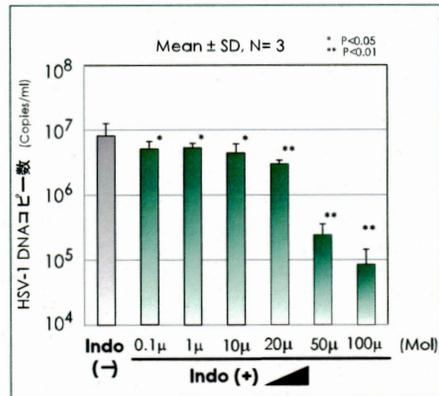
2) indomethacin による HSV 抑制効果

COX 阻害剤として人体に投与可能な NSAIDs である indomethacin を 0.1 ~ 100 μ Mol で培養液に加えて培養時間 18 時間でウイルス量を評価した。

結果は右に示す通り、indomethacin は用量依存的に HSV 増幅効率を抑制する事が判った。

3) PSL による HSV 抑制効果

同様に COX-2 誘導抑制効果の知られている糖質コルチコイド製剤のうち prednisolone (PSL) 0.1 ~ 100 μ Mol で培養液に加えて培養時間 18 時間でウイルス



量を評価した。

結果は右に示す通り、PSL は用量依存的に HSV 増幅効率を抑制する事が判った。

【考察と今後の課題】

HSV が自身の感染に伴って宿主細胞が起こす炎症に関わるシグナルを利用して自身の増幅効率を上げる現象は IKK/NF-κB pathway でも確認されているが、今回アラキドン酸カスケードの利用を証明したのは初めてであり、意義がある。HSV 感染に伴って COX-2 が誘導される事の direct evidence を取っていないので今後 Western blotting などで証明する。

COX-2 阻害効果を持つ事が既に知られている NSAIDs や糖質コルチコイド製剤での解析を行なってその HSV 抑制効果も確認した。しかし indomethacin や PSL の内服で得られる血中濃度 (いずれも 1 μ Mol オーダー) での HSV 抑制効果はわずかであり、ダイレクトに臨床的意義が高いとは言えない。このようなメカニズムを報告する事で HSV 感染症における分子標的治療などの展開が得られるかどうかを考えていきたい。

