

平成26年度北陸地区国立大学学術研究連携支援報告書

研究グループ名	ウイルス病原性発現の分子機能解析研究グループ (支援期間：平成25年度～平成26年度)		
大学名	所属	氏名	
富山大学	大学院・医学薬学研究部	○大黒 徹	
福井大学	医学部	○定 清直 竹内健司	
※ 各大学の研究グループ責任者の氏名には○印。			
その他の機関 の構成員	機 関 名	所 属	職 名
成果概要	<p>1) HSV 母子感染の2つの症例で、児由来ウイルスは、ある遺伝子に特定の変異があることを見出したので、マウスでの感染実験で両ウイルス株の病原性の比較を行った。</p> <p>臨床分離された HSV-2 で UL13 遺伝子にフレームシフトを引き起こす変異 (G96AfsX5、W30X、A142PfsX25、Y162VfsX141) を有する株と、アミノ酸置換 (V165M、V175M、D231Y、Y384C) を有する株を網羅的塩基配列解析の結果見出した。それらの内、フレームシフトの株 (G96A fsX5、A142P fsX25、Y162V fsX141) と、アミノ酸置換の V165M の病原性をマウス皮膚病変モデルで検討した。マウス BALB/c 8 週令の側腹部を除毛後、注射針による擦過傷に各濃度の HSV-2 (5x10⁵、1x10⁵、1x10⁴PFU / 5μL) を感染させ、病変の進行を観察した。いずれのウイルス株も 1x10⁴PFU では殆ど病変を生じさせなかった。しかしながら、1x10⁵PFU 以上のウイルス量を感染させた場合では、UL13 遺伝子の変異株 (G96AfsX5 を 3 株、A142PfsX25 を 1 株、Y162VfsX141 を 1 株) の 3 種類のフレームシフトの株はいずれも変異のない株に比べて病原性が有意に低下していた。一方でアミノ酸置換のあった 1 株 (V165M) は病原性低下が認められなかった。</p> <p>2) プロテオーム解析により、母由来ウイルスと児由来ウイルスの感染細胞で発現量に違いがある宿主蛋白質を複数個同定し、これらの蛋白質の HSV 感染細胞内での発現と修飾について解析を行い、HSV の増殖における役割について検討した。培養細胞のウェスタンブロッティングで、eukaryotic elongation factor 1 delta (elf-1) は 2 つの異なる分子量のバンドが検出された。UL13 遺伝子に変異を有する HSV-2 株と変異のない株をそれぞれ培養細胞に感染させ elf-1 の発現を検討したところ、感染後 3～6 時間では、変異の有無で差は認められなかった。しかしながら、感染後 9～12 時間では変異のない株の感染細胞で、2 つのバンドの分子量の増大を確認し、リン酸化の修飾によるものと考えられた。他の同定された蛋白質については、HSV の感染による発現量の減少が見られたが、リン酸化の修飾による分子量の変動については確認できなかった。これらの結果から、HSV のリン酸化酵素が、感染細胞内で転写に関する酵素に影響を与えている可能性が示唆された。</p> <p>3) 発表論文 1: <u>Daikoku T</u>, Horiba K, Kawana T, Hirano M, Shiraki K. Novel deletion in glycoprotein G forms a cluster and causes epidemiologic spread of herpes</p>		

	<p>simplex virus type 2 infection. J Med Virol. 2013 Oct;85(10):1818-28.</p> <p>2: <u>Daikoku T</u>, Yoshida Y, Okuda T, Shiraki K. Characterization of susceptibility variants of influenza virus grown in the presence of T-705. J Pharmacol Sci. 2014;126(3):281-4.</p> <p>3: Yajima M, Shiraki A, <u>Daikoku T</u>, Oyama Y, Yoshida Y, Shiraki K. Functional differences between antiviral activities of sulfonated and intact intravenous immunoglobulin preparations toward varicella-zoster virus and cytomegalovirus. J Infect Chemother. 2015 Jun;21(6):427-33.</p> <p>4: Nakamura T, <u>Daikoku T</u>, Shiraki K, Hayashi A. Detection of cytomegalovirus in an immunocompetent adult presenting with acute retinal necrosis due to varicella-zoster virus: a case report. Clin Ophthalmol. 2015 May 13;9:853-8.</p> <p>5: <u>Daikoku T</u>, Saito K, Aihara T, Ikeda M, Takahashi Y, Hosoi H, Nishida T, Takemoto M, Shiraki K. Rapid detection of human cytomegalovirus UL97 and UL54 mutations for antiviral resistance in clinical specimens. Microbiol Immunol. 2013 May;57(5):396-9.</p> <p>6: Kimura Y, Chihara K, Honjoh C, <u>Takeuchi K</u>, Yamauchi S, Yoshiki H, Fujieda S, <u>Sada K</u>. Dectin-1-mediated signaling leads to characteristic gene expressions and cytokine secretion via spleen tyrosine kinase (Syk) in rat mast cells. J Biol Chem. 2014 Nov 7;289(45):31565-75.</p> <p>7: Chihara K, Kimura Y, Honjoh C, Yamauchi S, <u>Takeuchi K</u>, <u>Sada K</u>. Tyrosine phosphorylation of 3BP2 is indispensable for the interaction with VAV3 in chicken DT40 cells. Exp Cell Res. 2014 Mar 10;322(1):99-107.</p>
<p>獲得した外部 資金</p>	<p><富山大学></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ H25 科学研究費補助金（基盤研究（C）（一般））「単純ヘルペスウイルスの母子感染に関わる遺伝子変異と宿主因子の解明」（代表：大黒 徹）H25-27 年度（受入中） ・ H25 科学研究費補助金（基盤研究（B）（一般））「水痘ウイルスの Antigenic modulation による潜伏感染の解析」（分担：大黒 徹）H25-29 年度（受入中）。 <p><福井大学></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ H25 科学研究費補助金（基盤研究（C）（一般））「C 型肝炎ウイルスによる B 細胞チロシンキナーゼ活性制御の意義」（代表：定 清直、分担：竹内 健司）H25-27 年度（受入中）