

NEURO·INFECTION

1巻，2号，1997.

日本神経感染症研究会

機 関 誌

目 次

総説

1. ウィルスゲノム

五十嵐 章／長崎大学

P. 1~13

2. ヘルペスウィルスの感染と免疫

皆川 洋子／九州大学

P. 14~22

3. ウィルスと持続感染

大原 義朗／金沢医科大学

P. 23~36

4. 中枢神経系へのウィルス感染とサイトカイン

池本 香, 森松 光紀／山口大学

P. 37~44

ウイルス・ゲノム

五十嵐 章

長崎大学熱帯医学研究所

病原体解析部門・分子構造解析分野

1. トガウイルスとフラビウイルス

中枢神経に感染して脳炎ないし脳髄膜炎の原因となるウイルスは多種類存在するが（表1）、これらの中でフラビウイルス科フラビウイルス属の日本脳炎に代表されるウイルスは、ヒトの急性脳炎の病原体として、医学・公衆衛生上の大きな問題である。一方、トガウイルス科のアルファウイルス属には主としてウマ脳炎の病原体が含まれており、それらはヒトにも脳炎を起こすことがある。本稿ではこの2属のウイルスに的を絞って述べる。

トガウイルスは、以前には沈降係数約42～49Sで、塩基数約11Kbの1本鎖(+)極性のRNAを遺伝子として、外被膜を有する小型球形と定義され、アルファウイルス、フラビウイルス、ルビウイルス、ペスティウイルスの4属に分類されていた(1)。自然界での伝播様式と血清学的交叉反応によって、アルファウイルスはすべて蚊で媒介されるA群アルボウイルスに(2)、フラビウイルスの多くは蚊又はダニで媒介されるB群アルボウイルスに分類されていた(3)。

その後ウイルス粒子の構造蛋白質、遺伝子RNAの構造、および複製・増殖機構が解析された結果、フラビウイルスは独立した科となり(4)、フラビウイルス属、ペスティウイルス属、C型肝炎ウイルス属の3属を包含することとなった(5)。一方現在のトガウイルス科にはアルファウイルス属とルビウイルス属が所属している(6)。

2. トガウイルスの遺伝子構造

トガウイルス科のアルファウイルスとルビウイルスの遺伝子構造の模型を図1に示す(7)。遺伝子のサイズはアルファウイルスでは約12Kbであるが、ルビウイルスでは9,756塩基とかなり小さい(8)。遺伝子は大きく2つの領域に分かれる。遺伝子の5'側約2/3はRNAの転写・複製に関与する非構造蛋白質(nsP1, nsP2, nsP3, nsP4)をコードしており、3'側約1/3は構造蛋白質(C, E3, E2, 6K, E1)をコードし

表1. 脳炎・脳髄膜炎・脊髄炎の主な原因ウイルス

ウイルス科名	ウイルス属名	ウイルス種名	病名
ビコルナウイルス科	エンテロウイルス属	ボリオウイルス 1型、2型、3型	ボリオ
		エコーウイルス 1~4型	脳炎、無菌性髄膜炎
		エンテロウイルス 70型、71型	脳髄膜炎
トガウイルス科	アルファウイルス属	東部馬腦炎ウイルス	脳炎(主に馬、時に人)
		西部馬腦炎ウイルス	同上
		ヴェネズエラ馬腦炎ウイルス	同上
フラビウイルス科	ルビウイルス属	風疹ウイルス	脳炎、脳髄膜炎
		日本脳炎ウイルス	脳炎
		マレー渓谷脳炎ウイルス	同上
ラブドウイルス科	リッサウイルス属	セントルイス脳炎ウイルス	同上
		中歐ダニ脳炎ウイルス	同上
		ロシア春夏脳炎ウイルス	同上
バラミキソウイルス科	ルブラウイルス属	狂犬病ウイルス	狂犬病
モルビリウイルス属	麻疹ウイルス	流行性耳下腺炎ウイルス	脳髄膜炎
		インフルエンザウイルス	亞急性硬化性全脳炎 Rye症候群、脳炎
オルトミキソウイルス科	ブニヤウイルス属	ラ・クロス脳炎ウイルス	脳炎
アレナウイルス科		リンパ性脈絡膜炎ウイルス	髄膜炎
レオウイルス科	コルティウイルス属	コロラドダニ熱ウイルス	脳髄膜炎
レトロウイルス科		HTLV-1	TSP/HAM
		HIV	亞急性脳炎、脊髄炎
バボバウイルス科	ボリオマウイルス属	JCウイルス	進行性多発性白質脳炎
アデノウイルス科		アデノウイルス 3、5、6、7、12型	脳髄膜炎(まれ)
ヘルペトウイルス科	アルファヘルペスウイルス属	单纯ヘルペスウイルス	脳炎
		水痘・帯状脳疹ウイルス	脳髄膜炎
ポックスウイルス科		ワクシニアウイルス	種痘後脳炎

ている。遺伝子RNAの5'末端はタイプ0のm⁷Gキャップ構造があり、3'末端にはポリAが存在する。ウイルス複製の過程で遺伝子RNAの3'末端側1/3の構造蛋白質遺伝子に相当するsubgenomic mRNAが合成され、このRNAにもキャップ構造とポリAが存在する。

ウイルスRNA合成に関する温度感受性変異株を用いた解析等によって、非構造蛋白質の機能が解明された結果、nsP1は(-)鎖RNA合成に関与すると共に5'キャップ構造のメチル化にも必要であり(9,10,11,12)、nsP2は(-)鎖合成の制御とsubgenomic mRNA合成の開始(12,13)、及び非構造蛋白質の解裂にも関与し(14,15,16)、核局在シグナルを保有することが示された(17,18)。それに対して、りん酸化蛋白質であるnsP3の機能は十分には解明されていないが、nsP4はウイルスRNA合成酵素の本体と考えられている(19,20,21)。

一方、subgenomic mRNAの転写によってポリプロテインが合成され、そのC-末端に存在するC蛋白質はそれ自身の持つセリン蛋白質分解酵素作用によって解裂されてコア蛋白質が形成される。残りのポリプロテインは宿主細胞の蛋白質分解酵素によってE3、E2、6K、E1に解裂される。セムリキ森林ウイルスのE3はウイルス粒子に存在するが、シンドビスウイルスの場合には感染培養液中に放出される。6K蛋白質は資質重層中に膜蛋白質としてとどまるのに対して、E2とE1蛋白質には糖鎖が付加されて、ウイルス粒子の外被膜糖蛋白質が形成される(7)。

いくつかのアルファウイルス遺伝子RNAの塩基配列を比較解析すると次の4か所に保存領域が存在する。①3'末端の19塩基、②非構造蛋白質遺伝子と構造蛋白質遺伝子の接合領域の21塩基、③5'末端近辺の51塩基、④5'末端（この領域では塩基配列よりもむしろ予測される2次構造が保存されている）。これらの中で②③④の領域はルビウイルス属の唯一のメンバーである風疹ウイルスでも保存されている。これらの保存領域はウイルスRNAの合成に重要な機能を保有すると推測される。

塩基配列解析によって、アルファウイルスの非構造蛋白質遺伝子といいくつかのRNA植物ウイルス遺伝子との間に相同意が存在することが解明された。この結果は、植物ウイルスとアルファウイルス間のが進化の過程における関連性を示すものであり、両ウイルスを包

含する superfamily という概念の基本となつた (8, 22, 23, 24, 25,)。

いくつかのアルファウイルス (26, 27, 28, 29) および風疹ウイルス (30) では、遺伝子全長に相当する cDNA を鋳型として試験管内で感染性 RNA に転写することが可能である。この手法を用いてこれらウイルスの複製、集合過程が解析されている。

3. フラビウイルス科・フラビウイルス属の遺伝子構造

フラビウイルス科に分類されるフラビウイルス属、ペスティウイルス属、C型肝炎ウイルスの中で、ヒトを含む脊椎動物の神経に感染するのはフラビウイルス属のウイルスである。この属のウイルスの遺伝子 RNA は約 11Kb であり (31, 32, 33, 34)、感染細胞中にもこのサイズの RNA が mRNA として存在する。遺伝子 RNA の 5' 末端にはタイプ I キャップ構造があるが、3' 末端にはポリ A が存在しない。遺伝子の中央部分には約 10Kb の一続きの長い読み取り枠 (open reading frame =ORF) が存在し、その 5' 側約 1/4 は構造蛋白質遺伝子 (C, PrM/M, E) であり、残りの約 3/4 は非構造蛋白質遺伝子 (NS1, NS2A/2B, NS3, NS4A/B, NS5) である。遺伝子の 5' 末端 95~132 塩基と、3' 末端 114~624 塩基は非コード領域である (図 2)。3' 非コード領域には保存された塩基配列が存在するが、その機能はいまだ不明である。3' 末端の約 90 塩基は Stem-loop の 2 次構造を取ると推測されるが、それらの塩基配列はウイルス間で保存されていない。

フラビウイルス遺伝子 RNA の 5' 側約半分と 3' 側約半分に相当する cDNA を試験管内で結合させ、得られた cDNA から感染性 RNA を転写することが黄熱ウイルス (35) と日本脳炎ウイルス (36) とで成功している。更にデング 4 型ウイルスでは、宿主に使用する大腸菌の株を選択すれば、遺伝子 RNA の全長に相当する cDNA から感染性 RNA を転写できることが報告されている (37)。

4. 日本脳炎ウイルスの神経病原性を決定する遺伝子の同定

患者数、流行地域の広さ、臨床症状の重篤度、致命率の高さ、精神神経障害を伴う後遺症の観点から、日本脳炎ウイルスはフラビウイルスの中でも医学・公衆衛生学的に最も重要視されるウイルスの 1 つである。一方では日本脳炎は不顕性感染率が高く、このウイルスに感染したヒトの中で脳炎を発病するの 300 名に 1 名程度と推定されている (38)。この観点、及び実用的に安全で有効な弱毒生ワク

チンを開発する目的で、日本脳炎ウイルスの神経病原性を決定する遺伝子を同定する研究が行われてきた。

この方向に向けた1つの流れは、人工的に継代培養によって弱毒化したウイルスと、その親ウイルス株の遺伝子塩基配列を比較解析する研究である。中国では日本脳炎ウイルス野生株(SA14)をハムスター腎臓細胞の初代培養(PHK)に100代継代培養することによって弱毒株(12-1-7)を開発した。この株をPHKでプラーク分離してSA14-2-8株を開発し、更に乳のみマウス脳内接種とPHKでのプラーク分離によって弱毒株SA14-14-2が得られた(39, 40)。この一連の弱毒化における親株(SA14)と、最終的に得られた弱毒株(SA14-14-2)株の遺伝子塩基配列を比較解析した結果、複数の塩基及びアミノ酸変異が存在することが解明されたが、神経病原性を決定する領域や、塩基ないしはアミノ酸配列を確定するには至らなかった(41, 42, 43, 44)。

最近住吉らは、試験管内で結合させた遺伝子RNA全長に相当するcDNAから感染性RNAを転写する彼らが開発した実験系を用いて、ウイルス粒子の外被膜糖蛋白質(E)の第138番目のアミノ酸がグルタミン酸からリジンに変異することによって日本脳炎ウイルスの神経病原性が失われること証明した(45)。以下はその実験の概略である。

表2はウイルス遺伝子RNAの5'側半分及び3'側半分にそれぞれ相当するcDNAクローン、それらを結合して得られたウイルス遺伝子全長に相当するcDNAから転写されたRNAを培養細胞にトランスフェクトすることによって產生されたウイルス株、及び各株のプラークサイズを示している。この結果から、pM343を遺伝子の5'側半分に相当するcDNAクローンとして使用した時に得られるウイルス株は親株と同様の大きなプラークを形成するが、pM433を使用した時に得られるウイルス株は小さなプラークを形成したことがわかる。

ウイルスのマウスに対する病原性を検討するために、大きなプラークを形成するIC37株或は親株と、小さなプラークを形成するIC47株、をそれぞれ8匹の3週令のICRマウスの皮下あるいは脳内に接種した。IC37株あるいは親株の $10^1 \sim 10^6$ PFUを脳内接種した場合にはすべてのマウスが死亡し、皮下接種の場合の死亡率は平均50%であったが、IC47株を接種したマウスは1匹も死亡しなかった。

次に1群8匹の3週令のICRマウスの脳内に、IC33, IC327, IC43,

表2. 日本脳炎ウイルス遺伝子RNAの全長に相当するcDNAの構築に使用されたcDNAクローンと得られたウイルス株のプラーカサイズ

ウイルス 株名	cDNAクローン		BHK21細胞 上の プラーカ
	5'側cDNA	3'側cDNA	
親株			大
IC37	pM343	pH756	大
IC33	pM343	pH313	大
IC327	pM343	pI227	大
IC47	pM433	pH756	小
IC43	pM433	pH313	小
IC427	pM433	pI227	小

文献(45)より改変

またはIC427株を100PFU接種した。大きなプラーカを形成したIC33あるいはIC327株を接種したマウスはすべて8日以内に死亡したのに対して、小さなプラーカを形成したIC43或はIC427株を接種したマウスは1匹も死亡せず、発病もしなかった。

更に、1群8匹の5週令マウスにIC47株あるいは親株の100PFUを脳内に接種した。親株を接種したマウスはすべて死亡したのに対して、IC47株を接種したマウスは1匹も死亡しなかった。

最後に、1群8匹の2週令マウスにIC37株（大プラーカ）、IC47株（小プラーカ）、あるいは親株を脳内あるいは末梢に感染させた場合の生存曲線を図3に示している。

これらの結果から、大プラーカを形成するIC37、IC33、IC327株は親株と同様マウスに対して神経病原性を示したが、小プラーカを形成するIC47、IC43、IC427株は神経病原性を示さないと判定される。

免疫原性とウイルス血症を検討するために、3週令マウスの皮下に100PFUのIC47株あるいは親株を接種し、経日的に血中の中和抗体とウイルス感染価を測定した。中和抗体は接種後3～4日から出現し、IC47株と親株の間には顕著な差が認められなかった。それに対し

てウイルス血症は親株を接種したマウスでのみ検出され、最高力価は 10^3 PFU程度であった。

脳内でのウイルス増殖度を検討するために、3週令マウスの脳内あるいは皮下にIC47株または親株を接種し、経日的に脳内ウイルス感染価を測定した。強毒の親株を脳内に接種した場合には、脳内の感染性ウイルスは2日目から検出され、第5日で 4.5×10^7 PFU/gに達し、第6日にはすべてのマウスは死亡した。親株を皮下接種した場合には、脳内の感染性ウイルスは第5日から検出され、感染価が 10^7 PFU/g以上に達したマウスは死亡したが、 10^6 PFU/g以下であったマウスは発病せず生存し、第14日目には脳内からウイルスは除去された。弱毒のIC47株を脳内に接種した場合のウイルス増殖速度は親株よりも遅く、感染価も第5日に最高で 10^4 PFU/gに達した後に第8日には消失した。IC47株を皮下接種した場合には脳内には感染性ウイルスは検出されなかった。

弱毒株の免疫原性を検討するために、1群8匹の2週令マウスの皮下にIC47株を100PFU接種し、2群8匹づつの3週令マウスには皮下或は脳内にはIC43株とIC427株を各100PFUづつ接種した。2週間後、これらのマウス及び対照群のマウス脳内に強毒である親株を攻撃した。対照群のマウスはすべて死亡したが、IC47、IC43、またはIC427株で前もって免疫しておいたマウスは全例発病することなく生存した。

弱毒株免疫による脳内ウイルス増殖に及ぼす影響を検討するために、2週令マウスの皮下にIC47株を100PFU接種し、2週間後に親株の100PFUを脳内攻撃し、経日的に脳内のウイルス感染価を測定した。その結果、免疫を施さなかった対照群のマウスはすべて死亡し、脳内ウイルス感染価は約 10^8 PFU/g以上に達した。これに対して、弱毒株であらかじめ免疫してあったマウスではウイルス感染価は 3×10^6 PFU/g以下にとどまり、14日目に消失した。

弱毒に関係する遺伝子変異を検索する目的で、弱毒株の元となつたpM343クローンと、強毒株の元となつたpM433クローンのcDNA塩基配列を比較解析した。この領域は遺伝子RNAの5'非コード領域、C, PrM/M, E, NS1, NS2A/2B, NS3の一部に相当する塩基番号1～5567である。この領域では唯1か所塩基番号1389番目にA→Gの塩基置換があ

り、その結果コードされるアミノ酸が親株とIC37ではグルタミン酸(コドン:GAA)であったものがIC47ではリジン(コドン:AAA)であった。このアミノ酸置換によって、蛋白質の疎水性には大きな変化がなかったが、蛋白質の2次構造の変化と等電点の変化が推測された。前述した中国の弱毒株SA14-14-2でもこの部位のアミノ酸はリジンであるが、親株SA14ではグルタミン酸である(41, 42, 43, 44)。

5. デングウイルスの向神経性を規定する遺伝子領域

デングウイルスは日本脳炎ウイルスよりも向神経性が少ないが、マウス脳内継代を重ねると向神経性が上昇することが知られている。米国のLaiらは、彼らが開発した4型デングウイルスの遺伝子全長に相当して感染性RNAを転写できるcDNAクローンを使用して(37)、4型デングウイルス間で神経病原性の異なる株間で遺伝子の一部を入れ替えたキメラウイルスを作成し、その神経病原性を検討した。その結果、構造蛋白質領域が神経病原性に関係していることを示した(46)。同様の結論は2型あるいは3型デングウイルスの構造蛋白質遺伝子を4型デングウイルス遺伝子に導入したキメラウイルス(47, 48)、およびダニ脳炎ウイルスの構造蛋白質遺伝子を4型デングウイルス遺伝子に導入したキメラウイルス(49)でも得られている。4型デングウイルスの神経病原性の異なる株間で作成したキメラウイルスの場合には、外被膜糖蛋白質(E)の糖鎖付加部位の消失、及びE蛋白質の第401番目のアミノ酸がロイシンからフェニルアラニンに置換することによって、ウイルスの神経病原性が上昇することが結論された(46)。

6. 結語

ウイルスの神経病原性の問題は基礎ウイルス学の見地からも興味ある研究課題であり、ウイルス遺伝子の解析、ことに試験管内でウイルス遺伝子の全長に相当するcDNAを感染性RNAに転写し、それをトランスフェクトして得られるウイルスを使用した種々の研究が最近特に顕著な進展を示している。これらの基礎ウイルス学的成果を脳炎・脳髄膜炎の予防治療といった臨床的あるいは予防医学的応用にどのように結びつけていくかが今後残された問題であろう。

7. 文献

- 1) Matthews REF (1982) *Intervirology* 17: 97-101
- 2) Johnston RE, Peters CJ (1996) pp843-898 In BN Fields, DM Knipe, PM Howley et al (eds) *Fields Virology*, 3rd Ed, Lippincott-Raven Press, Philadelphia
- 3) Clarke DH, Casals J (1965) pp606-658 In FL Harsfall, Jr, I Tam (eds) *Viral and Rickettsial Infections of Man*, Lippincott, Philadelphia
- 4) Westaway EG, Brinton MA, Gaidamovich SY, et al (1985) *Intervirology* 24: 183-192
- 5) Wengler G (1991) pp223-233 In RIB Francki, CM Fauquet, DL Knudson, et al (eds) *Classification and Nomenclature of Viruses*, Arch Virol, Suppl 2, Springer-Verlag, Wien
- 6) Strauss JH (1991) pp216-222 In RIB Francki, CM Fauquet, DL Knudson, et al (eds) *Classification and Nomenclature of Viruses*, Arch Virol, Suppl 2, Springer-Verlag, Wien
- 7) Schlesinger S, Schlesinger MJ (1996) pp825-841 In BN Fields, DM Knipe, PM Howley et al (eds) *Fields Virology*, 3rd Ed, Lippincott-Raven Press, Philadelphia
- 8) Dominiguez G, Wang C-Y, Frey TK (1990) *Virology* 177: 235-238
- 9) Hahn CS, Strauss EG, Strauss JH (1989) *J Virol* 63: 1194-1202
- 10) Mi S, Durbin R, Huang HV, et al (1989) *Virology* 177: 385-391
- 11) Wang Y-F, Sawicki SG, Sawicki DL (1991) *J Virol* 65: 985-988
- 12) Scheidel LM, Stollar V (1991) *Virology* 181: 490-499
- 13) Sawicki DL, Sawicki SG (1993) *J Virol* 67: 3605-3610
- 14) Ding MX, Schlesinger MJ (1989) *Virology* 171: 280-284
- 15) Hardy WR, Strauss JH (1989) *J Virol* 63: 4653-4664
- 16) Strauss EG, Levinson R, Rice CM, et al (1988) *Virology* 164: 265-274

- 17) Peränen J, Rikkonen M, Liljiström P, et al (1990) *J Virol* 64: 1888-1896
- 18) Rikkonen M, Peränen J, Kääriäinen L (1992) *Virology* 198: 462-473
- 19) Barton DJ, Sawicki SG, Sawicki DL (1988) *J Virol* 62: 3597-3602
- 20) Hahn YS, Grakouri A, Rice CM, et al (1989) *J Virol* 63: 1194-1202
- 21) Sawicki DL, Barkhimer DR, Sawicki SG, et al (1990) *Virology* 174: 43-52
- 22) Ahlquist P, Strauss EG, Rice CM, et al (1985) *J Virol* 53: 536-542
- 23) Strauss EG, Strauss JH (1986) pp35-82 In S Schlesinger, MJ Schlesinger (eds) *The Togaviridae and Flaviviridae*, Plenum Press, New York
- 24) Strauss JH, Strauss EG (1988) *Ann Rev Microbiol* 42: 657-683
- 25) Zimmern D (1988) pp211-240 In E Domingo, JJ Holland, P Ahlquist (eds) *RNA Genetics*, Boca Raton, CRC Press
- 26) Rice CM, Levis R, Strauss JH, et al (1987) *J Virol* 61: 3809-3819
- 27) Davis NL, Willis LV, Smith JF, et al (1989) *Virology* 171: 189-204
- 28) Kuhn RJ, Niesters HGM, Hong Z, et al (1991) *Virology* 182: 430-441
- 29) Liljestrom P, Lusa S, Huylebroeck D, et al (1991) *J Virol* 65: 4107-4113
- 30) Wang C-Y, Dominiguez G, Frey TK (1994) *J Virol* 68: 3550-3557
- 31) Rice CM, Strauss EG, Strauss JH (1986) pp276-326 In S Schlesinger, MJ Schlesinger (eds) *The Togaviridae and Flaviviridae*, Plenum Press, New York
- 32) Brinton MA (1986) pp327-365 In S Schlesinger, MJ

Schlesinger (eds) *The Togaviridae and Flaviviridae*,
Plenum Press, New York

- 33) Westaway EG (1987) *Adv Virus Res* 33: 45-90
- 34) Chambers TJ, Grakouri A, Rice CM (1991) *J Virol* 65: 6042-6050
- 35) Rice CM, Grakouri A, Galler R, et al (1989) *The New Biologist* 1: 285-296
- 36) Sumiyoshi H, Hoke CH, Trent DW (1992) *J Virol* 66: 5425-5431
- 37) Lai C-J, Zhao B, Hori H, et al (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 5139-5143
- 38) Southam CM (1956) *J Infect Dis* 99: 163-169
- 39) Yu Y-X, Zhang GM, Guo YP, et al (1988) *Am J Trop Med Hyg* 39: 214-217
- 40) Ni H, Chang GJ, Zhang MJ, et al (1995) *J Gen Virol* 76: 409-413
- 41) Nitayaphan S, Grant JA, Chang GJ, et al (1990) *Virology* 177: 541-552
- 42) Aihara S, Rao C, Yu Y-X, et al (1991) *Virus Genes* 5: 95-109
- 43) Ni H, Burns NJ, Chang JJ, et al (1994) *J Gen Virol* 75: 1505-1510
- 44) Ni H, Barrett AD (1996) *J Gen Virol* 77: 1449-1455
- 45) Sumiyoshi H, Tignor GH, Shope RE (1995) *J Infect Dis* 171: 1144-1151
- 46) Kawano H, Rostapshov V, Rosen L, et al (1993) *J Virol* 67: 6567-6575
- 47) Bray M, Lai C-J (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 10342-10346
- 48) Chen W, Kawano H, Men R, et al (1995) *J Virol* 69: 5186-5190
- 49) Pletnev AG, Bray M, Lai C-J (1993) *J Virol* 67: 4956-4963

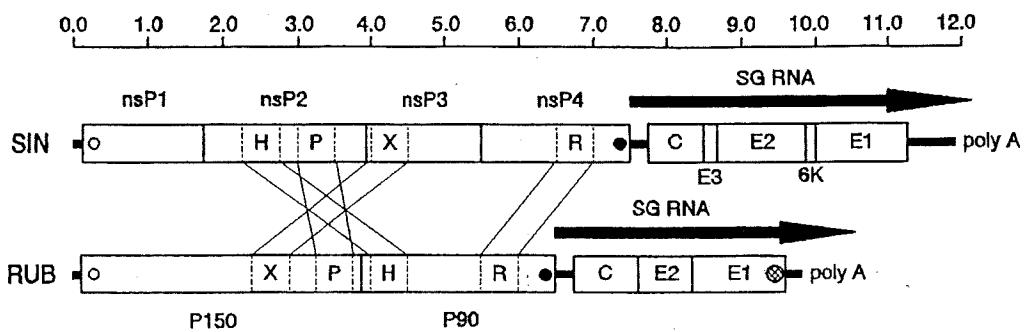


図 1. トガウイルス科・アルファウイルス属の代表シンドビスウイルス (SIN) とルビウイルス属の風疹ウイルス (RUB) の遺伝子 RNA の構造模型 文献 (7) による SG: subgenomic mRNA

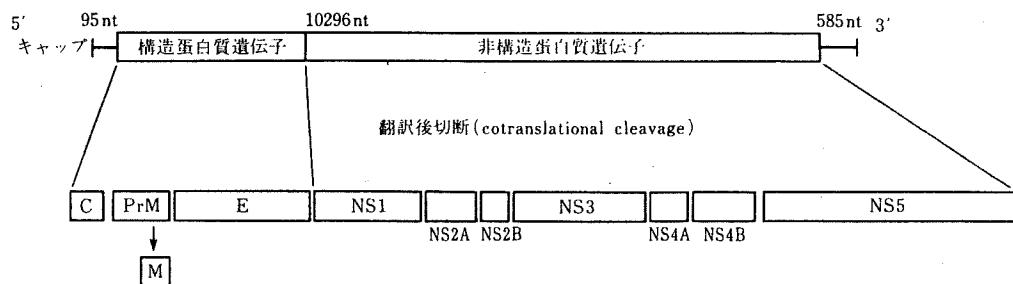


図 2. フラビウイルスの 1 種である日本脳炎ウイルス遺伝子 RNA の構造模型

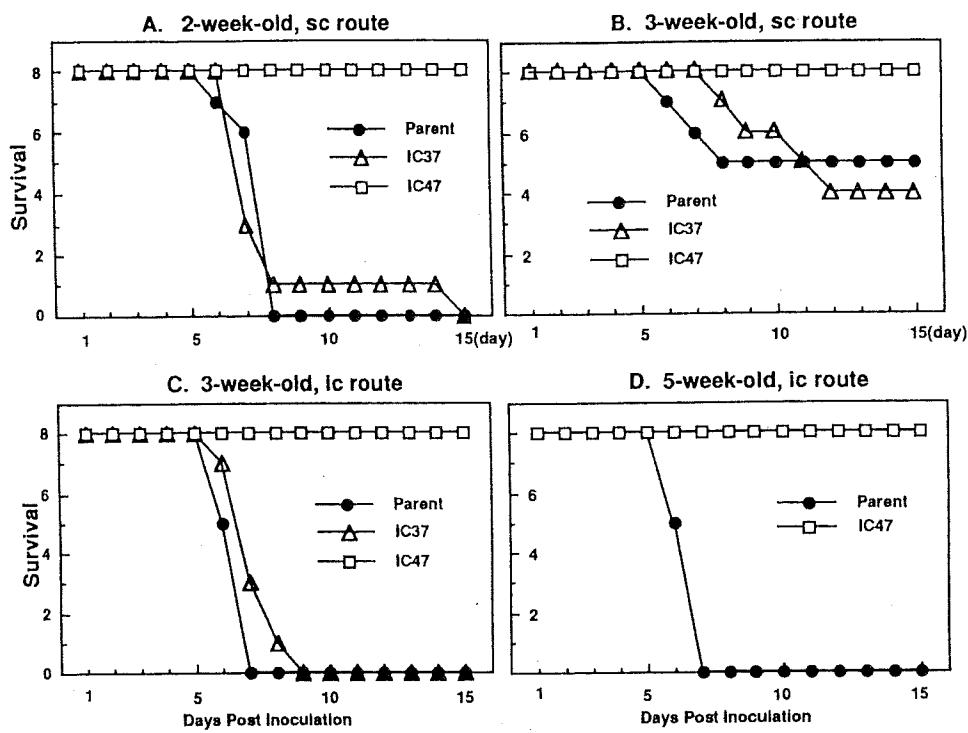


図3．日本脳炎ウイルス弱毒株 (IC47)、強毒株 (IC37、及び親株)を皮下 (sc) あるいは脳内 (ic) 接種されたマウスの生存曲線
文献 (45)による

ヘルペスウイルスの感染と免疫

皆川洋子（九州大学・医・ウイルス学・講師）

1 はじめに

ヘルペスウイルス科は、3つの亜科に分類されており、ヒトを本来の宿主とするヘルペスウイルスは、現在までに8つ知られている（表1）（1,2）。ヘルペスウイルスの初感染は急性顕性である場合と不顕性に終わる場合とがあるが、一度感染が成立すると、通常ウイルス遺伝子は終生体内から消えることはなく、持続感染persistent infection状態となる。ウイルス遺伝子が感染性ウイルス粒子産生のない状態で潜伏感染latent infectionしている細胞は、アルファヘルペスウイルス亜科では神経節の神経細胞あるいは衛星細胞であるが、ベータヘルペスウイルス亜科に属するCMVのDNAは、白血球や腎臓等から検出される（3）。持続感染から再活性化reactivateしたヘルペスウイルスの多くは、無症候性排泄に終わっているが、宿主に著しい免疫不全を認めない場合においても、しばしば回帰発症recrudescenceに至る。

アルファヘルペスウイルス亜科に属するウイルスは、脳脊髄炎や壊死性網膜炎の病原体として重要である。単純ヘルペスウイルス-1 (*herpes simplex virus 1*; 以下HSV-1), HSV-2および水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)は、いずれも神経節に潜伏感染する能力を有している。単純ヘルペス脳炎*herpes simplex encephalitis* (HSE)は、世界中で通年性にあらゆる年齢層に発生し、散発発生する脳炎の多くを占めている。VZVはヒトヘルペスウイルスで唯一ワクチンが認可され、またAIDS患者においては進行性白質脳炎を起こす（5）ことが報告されている。VZVの感染免疫に関する解析はT, B細胞機能を欠いている重症複合型免疫不全(SCID)マウスにヒト胎児胸腺/肝組織を移植したSCID-huマウスを用いて進められている（6）。ベータヘルペスウイルス亜科およびガンマヘルペスウイルス亜科に属するウイルス感染においても中枢神経症状が報告されており、サイトメガロウイルス(CMV)脳炎は、主に免疫不全患者での発生が報告されている。表1にあげたウイルス以外に、アカゲザル等旧世界ザルの一部が保有しているアルファヘルペスウイルスの一つB virus (*cercopithecine herpesvirus 1*)が、ヒトに脳脊髄炎を起こすヘルペスウイルスとして知られている（7）。

本稿においては、HSV-1実験感染から得られた知見を中心に、ヘルペスウイルス感染と、免疫をはじめとする生体防御機構の関わりについて述べる。

2 ヘルペスウイルス感染と宿主側の感染防御機構

ヘルペスウイルスは、人類と巧みに共生するウイルスであるが、新生児や免疫抑制状態の患者においては、重篤な日和見感染症の病原体となることも事実であり、ウイルスに対する免疫（特にT細胞）が、感染からの回復すなわち活動性病変の終息に、重要と考えられる。免疫応答は、ウイルス粒子およびウイルス感染細胞に出現する抗原のエピトープを、抗体が認識する液性免疫と、T細胞が認識する細胞性免疫の2つに大別される。ただしヘルペスウイルスにコ-

表1 ヒトを宿主とするヘルペスウイルスと潜伏感染細胞

ウイルスの分類	潜伏感染細胞
アルファヘルペスウイルス亜科 alphaherpesvirinae	
Simplexvirus属	
herpes simplex virus 1 (HSV-1) (HHV-1*)	神經細胞
herpes simplex virus 2 (HSV-2) (HHV-2)	神經細胞
Varicellovirus属	
varicella-zoster virus 1 (VZV) (HHV-3)	衛星細胞 (神經節)
ベータヘルペスウイルス亜科 betaherpesvirinae	
Cytomegalovirus属	
cytomegalovirus (CMV) (HHV-5)	骨髓造血幹細胞(8)
Roseolovirus属	
human herpesvirus 6A, 6B (HHV-6A, HHV-6B)	白血球・脳?
human herpesvirus 7 (HHV-7)	T細胞
ガンマヘルペスウイルス亜科 gammaherpesvirinae	
Lymphocryptovirus属	
Epstein-Barr virus (EBV) (HHV-4)	B細胞
Rhadinovirus属	
Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) (HHV-8)	B細胞?

*HHV : human herpesvirusの略。発見された順に番号が付与された。

ドされた抗原に対する抗体産生には、T細胞のヘルプを要する (T細胞依存性)。加えて補体、インターフェロン(IFN)や腫瘍壊死因子(TNF)・インターロイキン(IL)等サイトカイン、Natural killer (NK)細胞、マクロファージ、好中球等、抗原非特異的感染防御機構のエフェクターが密接に関与する。

2-1 非特異的感染防御機構の関与

IFNには単独あるいはTNFと相乗的に(9)HSV増殖の抑制や、マクロファージ活性化などの作用がある。NK細胞活性の抑制(抗asialoGM1抗体の持続投与)により、マウスHSV実験感染において死亡率が上昇することが示されている(10)。好中球は感染細胞の産生するIL-8に走化性を示し(11)、補体を介してHSVウイルス粒子を貪食する(12)ことも示されている。マクロファージはHSV感染をうけてもウイルス粒子産生には至らず、抵抗性intrinsic resistanceを示す(13)。

2-2 免疫の関与

HSV-1接種動物へのIgG抗体移入実験においてあらかじめFc部分を切断しておくと抗体移入効果の減弱が認められており、抗体は主に抗体依存性細胞傷害(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC)活性等を介してウイルス粒子および感染細胞の排除に役立っている(14)ものと思われる。EBV

のカプシド抗原VCAに対する抗体は、クラス(IgM陽性は初感染、IgA高値は鼻咽頭癌において診断的)および抗体価変動(しばしば活動性EBV感染において著しい高値)にある程度の診断的意義が認められている(15)。IgA抗体の产生は、HSV経口接種(16)および経膣接種(17)実験において報告されている。

HSV-1感染拡大の終息にはT細胞がきわめて重要である(4,18)。T細胞機能を欠いているヌードマウスと、SCIDマウスの側腹部皮膚にHSV-1を接種した場合の経過およびHSVの個体内での伝播・増殖を比較検討した(19)。感染SCIDマウスはHSV-1免疫BALB/cマウス由来T細胞移入により生存したが、HSV-1免疫抗血清移入では、生存日数の延長がみられるのみであった。ヌードマウス及びSCIDマウスともBALB/cマウスに比較し、脳および脊髄でのウイルス増殖が顕著であった。またValyi-NagyらはSCIDマウスにHSV-1弱毒変異株を接種した場合には潜伏状態への移行はみられず、感染性ウイルス粒子が產生され続けることを報告した(20)。

CD4抗原陽性(CD4+)T細胞(ヘルパーT細胞 helper T cells: Th cells)は、主に产生するサイトカインの特性に基づいてTh0, Th1, Th2細胞に大別されている(21)。Th1細胞はtype 1サイトカイン(IFN- γ , IL-2等)を产生し、主に遲延型過敏症反応等炎症を惹起する。Th2細胞はtype 2サイトカイン(IL-4, IL-10等)を产生し、主に抗体产生を促進する。IL-4投与によりHSV-1接種マウスの致死的脳炎発症率が上昇する(22)ことが示されている。Th1細胞とTh2細胞は、相互に抑制作用を示す。CD4+T細胞は、HSV-1皮膚接種等においては初感染からの回復をもたらす(23)が、生体にとって不利な免疫病理反応にも深く関与している。

CD8+T細胞は、主にcytotoxic T-lymphocytes (CTL)としてウイルス感染細胞の排除をおこなっていると考えられる。CMV(24)およびEBV(15)感染においては特定のウイルスペプチド配列を認識するCTL活性が、活動性感染の終息に必要であることが報告されているが、いずれのウイルスも後述するように感染細胞における主要組織適合複合体major histocompatibility complex (MHC) class Iによるウイルス抗原提示を低下させて、宿主のMHC class I拘束性免疫監視機構から巧みに逃れている。HSV感染においてもキラー活性をもつMHC class II拘束性CD4+T細胞クローニングの報告(25)が多いが、これらの細胞による防御効果は不明である(4)。

3 ウィルス側の逃避機構とビルレンス

生体防御機構に対して、ウィルスは種々の逃避evasion機構(26)をもっている。ウィルスが持続感染している細胞を免疫機構が認識するためには、一般に細胞膜上にウィルス特異的抗原が適切なMHCとともに表出されることが必要で、細胞内のみに存在するウイルス核酸等は認識できない。すなわち潜伏感染状態自体が、免疫からの逃避手段となっている。

ヘルペスウィルスのエンベロープ糖蛋白envelope glycoprotein(以下gと略記)の一部には、補体と結合して補体によるウイルス粒子不活化に対抗する機能が知られている(例: HSV-1 gC)(27)。ヘルペスウィルスのエンベロープ糖蛋白には抗体のFcレセプター活性をもつものがあり(例: HSV gE/gI複合体)(28)、Fcとマクロファージ等食細胞上のFcレセプターとの結合を妨げることに

よって、ウイルス粒子や感染細胞をADCC活性から保護しているものと思われる。

ヘルペスウイルス遺伝子にコードされた蛋白にはMHC class Iの細胞表面への表出抑制能 (CMV US2, US3, US11, HSV ICP47など) (26, 29)が知られている。EBV活動性感染の終息にはCTL活性が重要であるが、EBV関連腫瘍細胞が発現しているウイルス抗原(EBNA-1など)は、抗原提示のためのプロセシングに抵抗性を示し、MHC class Iには提示されがたいためにMHC class I拘束性CD8+CTLの認識から逃れている(15)。最近CMVの新たな免疫逃避機構として、UL18遺伝子産物(MHC class I分子ホモログhomologue) がMHCのかわりに感染細胞に表出されると、NK細胞による攻撃から逃れることができると報告された(30)。NK細胞が"正常" (ここでは自己・非感染の意) 細胞のマーカーとして認識するMHC class I分子の役割をUL18遺伝子産物が代行していると考えられる。

EBVおよびKSHVはヒトサイトカインのホモログhomologueをコードしている (このようなウイルス側の分子は一般にvirokineともよばれる)。EBVのコードするIL-10ホモログBCRF1(31)による炎症性サイトカイン活性の抑制やKSHVのコードするIL-6ホモログ(2)等が報告されている。

ウイルスの病原性 (ビルレンスvirulence) を決定する因子には、上述の免疫逃避および免疫変調をきたすものの他多岐にわたっている。神経系をはじめとする重要臓器に到達し、そこで増殖する能力なども含まれる。神経病原性neurovirulenceに関係する遺伝子には、神経細胞での増殖能を左右するHSV-1の γ 1-34.5等が知られており、 γ 1-34.5弱毒変異組換えウイルスは腫瘍治療への応用が研究されている(32)。またウイルスが末梢臓器から中枢神経系に到達する能力(神經侵襲性neuroinvasive-ness)を規定するウイルス遺伝子の例として、HSV-2 US3は、マウスマクロファージでのウイルス増殖を決定するとともに、末梢臓器の感染から上行して致死的脳炎を発症するために必要である(33)。

4 免疫病理学的反応

ウイルス抗原に対する免疫反応は、感染を終息させるだけでなく、宿主に不利な免疫病理immunopathology状態をもたらす場合もある(34)ことが知られている。免疫病理のメカニズムには、エピトープのレベルでウイルス蛋白と宿主蛋白の間に相同性があるために、感染が契機となって自己抗体をはじめとする自己免疫反応が誘発されるmolecular mimicry(35)や、Th1細胞が惹起する遅延型過敏症反応が脱髓病変の引き金となるinnocent-bystander effect(36)等が提唱されており、一部のヘルペスウイルス感染の発症病理への関与を考えられている。

4-1 HSV眼感染症における免疫病理

眼科領域のHSV感染症では、角膜実質混濁を伴う角膜ヘルペスおよび壞死性網膜炎が失明の原因として重要である。皮膚感染実験系では感染病巣の終息に重要なTh細胞が、角膜においては実質混濁の発生に関与している。すなわちTh細胞の一部Th1細胞が、IFN- γ をはじめとする炎症性サイトカインを産生し、局所に遅延型過敏症反応を引き起こすことにより(34)角膜の混濁および非接種側網膜壞死(37)を誘発すると考えられる。

マウス角膜実験感染系においてはIFN- γ , IL-2投与によりマウス角膜混濁の悪化(38)、逆にTh2細胞等より分泌され、主にTh1細胞の機能を抑制する作用をもつIL-10投与による角膜実質混濁の抑制(39)が報告されている。実質混濁にはSCIDマウスを用いた実験で好中球の関与も示されている(40)。一方Fosterらは、角膜の自己抗原(IgG2a^bheavy chain分子と交差反応を示す)を認識するTh1細胞により惹起され、Th2細胞が関与する角膜混濁(34,41,42)を示している。

5 HSVの潜伏感染と再活性化における免疫

HSVの潜伏状態においては、ウイルス抗原は全く検出されず、ウイルス遺伝子転写産物も、latency-associated transcripts(LATs)以外は検出されない。乳児期以降に発症したHSE症例の約半数は、顕著な細胞性免疫不全や血清抗体価の低下などは認められない潜伏感染状態のヒトにおけるHSV-1の再活性化から起こっていると考えられている(4)。

中枢神経系は皮膚等とは異なり、実質容積変化を伴う炎症性浮腫のみによつても重大な損傷を受けやすい。一方in vivo神経節におけるHSVの感染においては、神経細胞は感染しても目立った機能不全は起こさずに潜伏感染の温床となっている。さらに神経細胞の多くは、表面にMHC class I遺伝子産物を表出していなかったという点で特殊である。免疫抑制時には、重症のHSV回帰発症(4)がしばしばみられることから、免疫系が回帰発症の予防あるいは感染拡大の阻止に重要な役割を果たしているのはあきらかである。

通常のウイルス感染における宿主免疫系の役割としてはウイルス粒子の感染性中和ならびに感染細胞の排除が認識されやすいが、仮に、再生能を失っている潜伏感染神経細胞が宿主のCTL等によって多く排除されてしまうと、知覚麻痺など神経系に永続的傷害をもたらすはずである。幸いHSVの回帰発症においては、繰り返し同じ神経節の支配領域に発症するヒトでも、永続的機能不全は通常認められていない。Simmonsらによれば、HSV-1のマウス神経節への初感染においては、神経節に浸潤してくる単核球、特にCD8抗原陽性T細胞が、ウイルス増殖の抑制に主な役割を果たしている(43)一方、HSV-1の潜伏感染した神経細胞はMHC class I表出の亢進は認められていない(44)。神経節に浸潤したHSV抗原特異的CD8抗原陽性T細胞は、周囲の非ニューロン感染細胞から抗原提示をうけ、神経細胞を殺細胞性に攻撃するのではなく、サイトカイン等を用いて細胞に調節性に作用してHSVの増殖を抑制するものと考えられる。

同種骨髓移植後など免疫不全状態での回帰発症や無症候性ウイルス排泄の増加(6,45)は、回帰発症の予防における免疫系の果たす役割の重要性を示唆するものである。口唇ヘルペスを繰り返す患者において、回帰発症の前に血中IFN- γ レベルの低下が報告されている(46)。しかしHSVにおいては潜伏感染時はウイルス抗原が産生が認められないため、抗原認識に依存する免疫が、直接ウイルス再活性化の抑制に関与しているとは考えにくい。潜伏感染しているウイルスの再活性化の第一段階は、Oct-1等細胞性転写制御因子(47)の変動によりコントロールされている可能性がある。いったん再活性化がおこるとHSVは迅速にウイルス粒子形成に至るため、さらにウイルス増殖が起こって大量の感染性ウイルス排泄や回帰発症に至る段階においては、免疫系の作用が重要であると

思われる。

6 おわりに

近年ヘルペスウイルスの一部は、遺伝子治療のベクター(48)としても注目されており、HSVをはじめとするヘルペスウイルスと宿主免疫の関係のさらなる解明とコントロールの重要性は、いっそう増している。

表2 宿主防御機構に対するヘルペスウイルスの戦略（本文を参照）

宿主側の防御機構	対抗するウイルス側の手段（該当する例）
免疫監視	神経系への潜伏感染(HSV-1, HSV-2, VZV, HHV-6?)
抗体	Fcレセプター活性 (HSV-1 gE:gI, CMV)
CD8+ T細胞 (CTL等)	MHC class Iの抗原提示を阻害 TAPと結合(HSV-1 ICP47) 細胞膜への輸送の阻害(CMV US3) turnoverの促進(CMV US2) 抗原processingの阻害(EBV EBNA-1)
CD4+ Th1細胞等	IL-10様活性 (EBV BCRF1)
補体	C3bと結合(HSV-1 gC, HSV-2 gC)
C-Cケモカイン (RANTES等)	C-Cケモカインレセプター (CMV US28)
NK細胞	MHC class Iホモログ(CMV UL18)

【文 献】

- 1) Roizman B: Herpesviridae. In Fields Virology, 3/e, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia., p. 2221-2230 (1996)
- 2) Moore PS, Boskoff C, Weiss RA, Chang Y (1996) Molecular mimicry of human cytokine and cytokine response pathway genes by KSHV. Science 274: 1739-1744
- 3) Plachter B, Sinzger C, Jahn G (1996) Cell types involved in replication and distribution of human cytomegalovirus. Adv Virus Res. 46: 195-261.
- 4) Whitley RJ: Herpes simplex viruses. In Fields Virology, 3/e, Lippincott-Raven Publishers, p.2297-2342 (1996)
- 5) Ryder J, Croen K, Kleinschmidt-Demasters B, Ostrove J, Straus S, Cohn D (1986) Progressive encephalitis three months after resolution of cutaneous zoster in a patient with AIDS. Ann Neurol 19: 182-188
- 6) Arvin AM, Moffat JF, Redman R (1996) Varicella-zoster virus: aspects of pathogenesis and host response to natural infection and varicella vaccine. Adv Virus Res 46: 263-309
- 7) Whitley RJ: B virus. In Infections of the central nervous system 2/e. Sheld WM, Whitley RJ, Durack DT, (eds), Lippincott-Raven Publishers, p.139-145 (1997)
- 8) Kondo K, Kaneshima H, Mocarski ES (1994) Human cytomegalovirus latent infection of granulocyte-macrophage progenitors. Proc Natl Acad Sci USA 91: 11879-11883.

- 9) Ellerman-Eriksen S (1993) Autocrine secretion of interferon- α/β and tumour necrosis factor- α synergistically activates mouse macrophages after infection with herpes simplex virus type 2. *J Gen Virol* 74: 2191-2199
- 10) Habu S, Akamatsu K-I, Tamaoki N, Okumura K (1984) In vivo significance of NK cell on resistance against virus (HSV-1) infections in mice. *J Immunol* 133: 2743-2747
- 11) Miyazaki D, Araki-Sasaki K, Inoue Y, Shimoimura Y, Hayashi K (1996) Neutrophil chemotaxis induced by corneal epithelial cells after herpes simplex virus type 1 infection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37: 546
- 12) Van Strijp JAG, Van Kessel KPM, van der Tol ME, Verhoef J (1989) Complement-mediated phagocytosis of herpes simplex virus by granulocytes. Binding or ingestion. *J Clin Invest* 84: 107-112
- 13) Morahan PS, Mama S, Anaraki F, Leary K (1989) Molecular localization of abortive infection of resident peritoneal macrophages by herpes simplex virus type 1. *J Virol* 63: 2300-07
- 14) Mester JC, Glorioso JC, Rouse BT (1991) Protection against zosteriform spread of herpes simplex virus by monoclonal antibodies. *J Infect Dis* 163: 263-269
- 15) Rickinson AB, Kieff E: Epstein-Barr virus. *In Fields Virology*, 3/e, Lippincott-Raven Publishers, p.2397-2445 (1996)
- 16) Irie H, Shimeld C, Williams N, Hill T (1993) Protection against ocular and cutaneous infection with herpes simplex virus type 1 by intragastric immunization with live virus. *J Gen Virol* 74: 1357-1362
- 17) Gallichan WS, Rosenthal KL (1996) Effects of the estrous cycle on local humoral immune responses and protection of intranasally immunized female mice against herpes simplex virus type 2 infection in the genital tract. *Virology* 224: 487-497
- 18) Mori R, Tasaki T, Kimura G, Takeya K (1967) Depression of acquired resistance against herpes simplex virus infection in neonatally thymectomized mice. *Arch ges Virusforsch* 21: 459-462
- 19) Minagawa H, Sakuma S, Mohri S, Mori R, Watanabe T (1988) Herpes simplex virus type 1 infection in mice with severe combined immunodeficiency (SCID). *Arch Virol* 103: 73-82
- 20) Valyi-Nagy T, Deshmane SL, Raengsakulrach B, Nicosia M, Gesser RM, Wysocka M, Dillner A, Fraser NW (1992) Herpes simplex virus type 1 mutant strain 1814 establishes a unique, slowly progressive infection in SCID mice. *J Virol* 66: 7336-7345
- 21) Mosmann TR, Coffman RL (1989) Th1 and Th2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 7: 149-173
- 22) Ikemoto K, Pollard RB, Fukumoto T, Morimatsu M, Suzuki F (1995) Small amounts of exogenous IL-4 increase the severity of encephalitis induced in mice by the intranasal infection of herpes simplex virus type 1. *J Immunol* 155: 1326-1333
- 23) Schreier RD, Pizer LI, Moorhead JW (1982) Delayed hypersensitivity to herpes simplex virus: murine model. *Infect Immun* 35: 566-571
- 24) Alp NJ, Allport TD, van Zanten J, Rodgers B, Sissons JGP, Borysiewicz LK (1991) Fine specificity of cellular immune responses in humans to human cytomegalovirus immediate-early 1 protein. *J Virol* 65: 4812-4820
- 25) Yasukawa M, Zarling JM (1984) Human cytotoxic T cell clones directed against herpes simplex virus-infected cells. I. lysis restricted by HLA class II MB and DR antigens. *J Immunol* 133: 422-427
- 26) Smith GL (1994) Virus strategies for evasion of the host response to infection. *Trends*

- 27) Harris SL, Frank I, Yee A, Cohen GH, Eisenberg RJ, Friedman HM (1990) Glycoprotein C of herpes simplex virus type 1 prevents complement-mediated cell lysis and virus neutralization. *J Infect Dis* 162: 331-337
- 28) Frank I, Friedman HM (1989) A novel function of the herpes simplex virus 1 Fc receptor: participation in bipolar bridging of antiviral immunoglobulin G. *J Virol* 63:4479-4488
- 29) York IA, Roop C, Andrews DW, Riddell SR, Graham FL, Johnson DC (1994) A cytosolic herpes simplex virus protein inhibits antigen presentation to CD8+T lymphocytes. *Cell* 77: 525-535
- 30) Reyburn HT, Mandelboim O, Valcé-Gomez M, Davis DM, Pazmany L, Strominger JL (1997) The class I MHC homologue of human cytomegalovirus inhibits attack by natural killer cells. *Nature* 386: 514-517
- 31) Hsu D-H, de Waal Malefyt R, Fiorentino DF, Dang M-N, Vieira P, deVries J, Spits H, Mosmann TR, Moore KW (1990) Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Science* 250: 830-832
- 32) Randazzo BP, Kesari S, Gesser RM, Alsop D, Ford JC, Brown SM, MacLean A, Fraser NW (1995) Treatment of experimental intracranial murine melanoma with a neuroattenuated herpes simplex virus 1 mutant. *Virology* 211: 94-101
- 33) Nishiyama Y, Yamada Y, Kurachi R, Daikoku T (1992) Construction of a US3 lacZ insertion mutant of herpes simplex virus type 2 and characterization of its phenotype in vitro and in vivo. *Virology* 190: 256-268
- 34) Rouse BT: Virus-induced immunopathology. *Adv Virus Res* 47: 353-376 (1996)
- 35) Fujinami RS, Oldstone MB, Wroblewska Z, Frankel ME, Koprowski H: Molecular mimicry in virus infection: Crossreaction of measles virus phosphoprotein or of herpes simplex virus protein with human intermediate filaments. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:2346 (1983)
- 36) Johnson RT: Parainfectious neurological syndromes. In *Viral infections of the nervous system*, Raven Press, New York, p.169-200 (1982)
- 37) Liu Y, Minagawa H, Toh Y, Sakai Y, Ishibashi T, Inomata H, Mori R (1993) Necrotizing chorioretinitis in mice inoculated with herpes simplex virus type 1 with or without glycoprotein C: anterior chamber-associated immune deviation does not persist. *Arch Virol* 132: 225-236
- 38) Hendricks RL, Tumpey TM, Finnegan A (1992) IFN- γ and IL-2 are protective in the skin but pathologic in the corneas of HSV-1-infected mice. *J Immunol* 149: 3023-3028
- 39) Tumpey TM, Elner VM, Chen S-H, Oakes JE, Lausch RN (1994) Interleukin-10 treatment can suppress stromal keratitis induced by herpes simplex virus type 1. *J Immunol* 153: 2258-2265
- 40) Bouley DM, Kanangat S, Rouse BT (1996) The role of the innate immune system in the reconstituted SCID mouse model of herpetic stromal keratitis. *Clin Immunol Immunopathol* 80: 23-30
- 41) Jayaraman S, Heiligenhaus A, Rodriguez A, Soukiasian S, Dorf ME, Foster CS (1993) Exacerbation of murine herpes simplex virus-mediated stromal keratitis by Th2 type T cells. *J Immunol* 151: 5777-5789.
- 42) Avery AC, Zhao Z-S, Rodriguez A, Bikoff EK, Soheilian M, Foster CS, Cantor H (1995) Resistance to herpes stromal keratitis conferred by an IgG2a-derived peptide. *Nature* 376: 431-434
- 43) Simmons A, Tscharke DC (1992) Anti-CD8 impairs clearance of herpes simplex virus from

the nervous system: implications for the fate of virally infected neurons. J Exp Med 175: 1337-44

- 44) Pereira RA, Tscharke DC, Simmons A (1994) Upregulation of class I major histocompatibility complex gene expression in primary sensory neurons, satellite cells, and Schwann cells of mice in response to acute but not latent herpes simplex virus infection *in vivo*. J Exp Med 180: 841-850
- 45) Augenbraun M, Feldman J, Ghirgwin K, Zenilman J, Clarke L, DeHovitz J, Landesman S, Minkoff H (1995) Increased genital shedding of herpes simplex virus type 2 in HIV-seropositive women. Ann Int Med 123: 845-847
- 46) Cunningham AL, Merigan TC (1983) γ Interferon production appears to predict time of recurrence of herpes labialis. J Immunol 130: 2397-2400
- 47) Latchman DS: Herpes simplex virus latency and immediate early gene repression by the cellular octamer-binding protein Oct-2. In Becker Y and Darai G (eds) Pathogenicity of human herpesviruses due to specific pathogenicity genes. Springer-Verlag, Berlin, vol 3, p 239-252 (1994)
- 48) During MJ, Naegele JR, O'Malley KL, Geller AI (1994) Long-term behavioral recovery in Parkinsonian rats by an HSV vector expressing tyrosine hydroxylase. Science 266: 1399-1403

ウイルスと持続感染

金沢医科大学微生物学

大原義朗

はじめに

ウイルスは細胞質や核をもたず、核酸の複製や蛋白質の合成に必要な場と材料を欠いているので、宿主細胞のオルガネラを利用して、自己の核酸の複製と蛋白の合成を行う。多くのウイルスの感染様式は細胞溶解性(cytolytic)であり、ウイルス粒子の產生とともに宿主細胞は死にいたる。しかしウイルスは宿主細胞の寄生体であるので、ウイルスの種の保存という観点からは、このような感染様式、すなわち cytolytic は決してウイルスの利益にはつながらない。むしろ宿主細胞と共に存し、自己の種の保存を図る方が有利である。このようにウイルスが宿主もしくは宿主細胞に感染し、その感染が長期間続き、ウイルスの複製および合成が継続して起こってる場合、これを持続感染(Persistent infection)と呼ぶ。本編ではまず微生物一般、特にウイルスと宿主との相互関係について述べ、そして *in vitro* における細胞とウイルスの関係、*in vivo* における宿主とウイルスの関係、最後に現在想定されている持続感染のメカニズムについて説明する。

I. 自然界における種の相互関係

生物界において、二種類の異なった生物の相互関係は大きく二つに分類することができる。一つは、寄生(parasitism)であり、もう一つは共生(symbiosis)である。寄生とは、一方が他方の犠牲の上に利益を得ることであり、共生とは両方がお互いに利益を得ることである。こういった分類は、脊椎動物と微生物の関係にも当てはめることができる。麻疹ウイルスを始めとする数多くのウイルスや結核菌は寄生であり、腸内細菌は共生である。共生の場合はもちろんあるが、寄生

の場合でも微生物は宿主に過度の障害を起こさないような感染様式をとる。何故ならば、宿主に致死的な障害を起こしてしまえば宿主の数が減少し、その結果自己に不利になるからである。このことから多くの微生物は感染したとしても全く傷害を起こさないか、感染した中のごく少数にのみ病気を起こす。例えば、ポリオウイルスはヒトに感染したとしても、90-95%のヒトは臨床症状を出さない不顕性感染であり、中枢神経症状を起こす患者は不顕性患者の約100人に1人である(1)。このように微生物と宿主はお互いのバランスをとるような関係を保っており、微生物は宿主に侵入・増殖し、次の宿主に感染するために必要な最小限の障害だけを起こすような感染様式をとる。このような相互関係の中で、持続感染という感染様式がむしろヒトとウイルスのバランスを考えたうえで、むしろ自然の理にかなっていると言える。

II. *in vitro* における宿主細胞とウイルスの関係

組織培養系における細胞とウイルスの関係は次のように考えることができる(表1)。すなわち細胞溶解性感染、流産感染、持続感染、そしてトランスフォーメーションである(2)。細胞溶解性感染、流産感染、トランスフォーメーションは細胞とウイルスの関係を考えるうえで重要であり、一部持続感染を考えるうえでも必要であるので述べておく。

1. 細胞溶解性感染 (lytic infection)

ある細胞にウイルスが感染、増殖し、その結果ウイルス粒子が産生され、それに伴い、細胞が形態学的变化を起こし、細胞死が起こる場

合を細胞溶解性感染という。典型的な細胞とウイルスとの相互関係である。ちなみにウイルス感染に伴う宿主細胞の形態変化を細胞変性効果 (cytopathic effects、CPE)と呼ぶ。

表 1. *in vitro* における細胞とウイルスの相互関係

感染様式	ウイルス粒子産生
細胞溶解性感染	+
流産感染	-
持続感染（維持型）	+
持続感染（内部共存型）	+,-
トランスフォーメーション	+,-

2. 流産感染 (abortive infection)

細胞にウイルスが感染しても、何らかの理由でウイルスの増殖課程が阻害され、完全なウイルス粒子の形成が中断される場合である。ウイルス自身に問題がある場合もあるし、またウイルス増殖に必要な因子が細胞に欠如している時や、ウイルス増殖を抑制する因子が細胞内に存在する場合でも、ウイルスの増殖課程が阻害される。このようにウイルスの吸着から放出までのどこかのステップに問題があり、ウイルス粒子の産生が不可能である場合、その細胞はウイルスにとって非許容細胞(non-permissive cell)であるといい、その逆にウイルスが感染・増殖し、ウイルス粒子が産生される場合、許容細胞(permissive cell)という。

3. 持続感染 (persistent infection)

in vitro における持続感染とは、ある細胞集団においてウイルス粒子産生と平行して細胞も分裂・増殖し、両者が共存して生き続ける状態である。維持型持続感染と内部共生型持続感染がある。維持型持続感染では細胞集団の中の少数の細胞においてのみ、ウイルス粒子産生が行われており、他の大多数の細胞はウイルスに感染せずに分裂・増殖しており、両者の平行が保たれている。大多数の細胞が非感染細胞であるには、非感染細胞の増殖速度がウイルスの増殖速度よりはるかに速い、非感染細胞が非許容細胞である、インターフェロンにより大多数の細胞が抗ウイルス状態になっている、などの理由が上げられる。内部共生型持続感染とは、大多数の細胞が感染しており、細胞内にウイルスを保持しつつ細胞分裂が行われている。ウイルス粒子の產生がある場合もない場合もある。

4. トランスフォーメーション

いわゆる腫瘍ウイルスによる感染様式であり、細胞は死滅することなく形態的または機能的变化を起こし、細胞の増殖はかえって促進される。ウイルス感染によって変化した形質は細胞分裂によって娘細胞に受け継がれる。ウイルス遺伝子は宿主細胞の染色体に組み込まれたり、エピゾーム(episome)として細胞質に存在する。

このように *in vitro* の場合は、免疫系の関与を考える必要がないので、純粹に細胞とウイルスの相互関係を検討していくのには最適である。しかし、実際の生体内では宿主の免疫反応を無視する訳には行かないので、*in vitro* とは少し異なった考え方が必要になる。

III. *in vivo* における宿主とウイルスの関係

ウイルスは宿主細胞の寄生体であるので、自然界におけるウイルスの種の保存・維持には、感受性宿主(あるウイルスが感染、増殖できる宿主)に継続的に感染していかなければならない。ウイルスの感染様式は一般に短期間の急性感染か、または長期間にわたる慢性感染に区別される。急性感染においては、一般にウイルスは宿主の免疫機構により排除される。従って、ウイルスがその種を維持するためには、新しい宿主に感染を繰り返していくか、その宿主外で生き延びており、何らかの機会に宿主に感染するという形式をとらざるをえない。例えば、麻疹ウイルス、ムンプスウイルスでは次々と新しい宿主に感染していく。またインフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルス、狂犬病ウイルスでは動物界で種が維持されており、ヒトと出会ったとき、ヒトに急性感染を引き起こす。一方、持続感染を成立させるウイルスには種々のDNAまたはRNAウイルスが含まれており、このようなウイルスは最初は急性感染を起こすが、引き続き慢性感染へと移行していく。従来、ウイルス感染は急性感染と考えられていたが、最近、次第に慢性感染を引き起こすウイルスの割合が増加している。

生体内におけるウイルスの感染様式は、次の4つのタイプに分類できる(2) (図1)。

- a. 急性感染を起こした後、ウイルスは宿主の免疫機構により排除される。
- b. 急性感染を起こした後、潜伏感染に移行するタイプ。何らかの刺激または宿主の状態の変化などにより、ウイルスが再活性化し、ウイルス粒子が産生される。潜伏感染とは、ウイルスゲノムが宿主体内

のどこかにとどまっているが、感染性ウイルスは產生されず、従つて当然臨床的にも無症状である状態をいう。

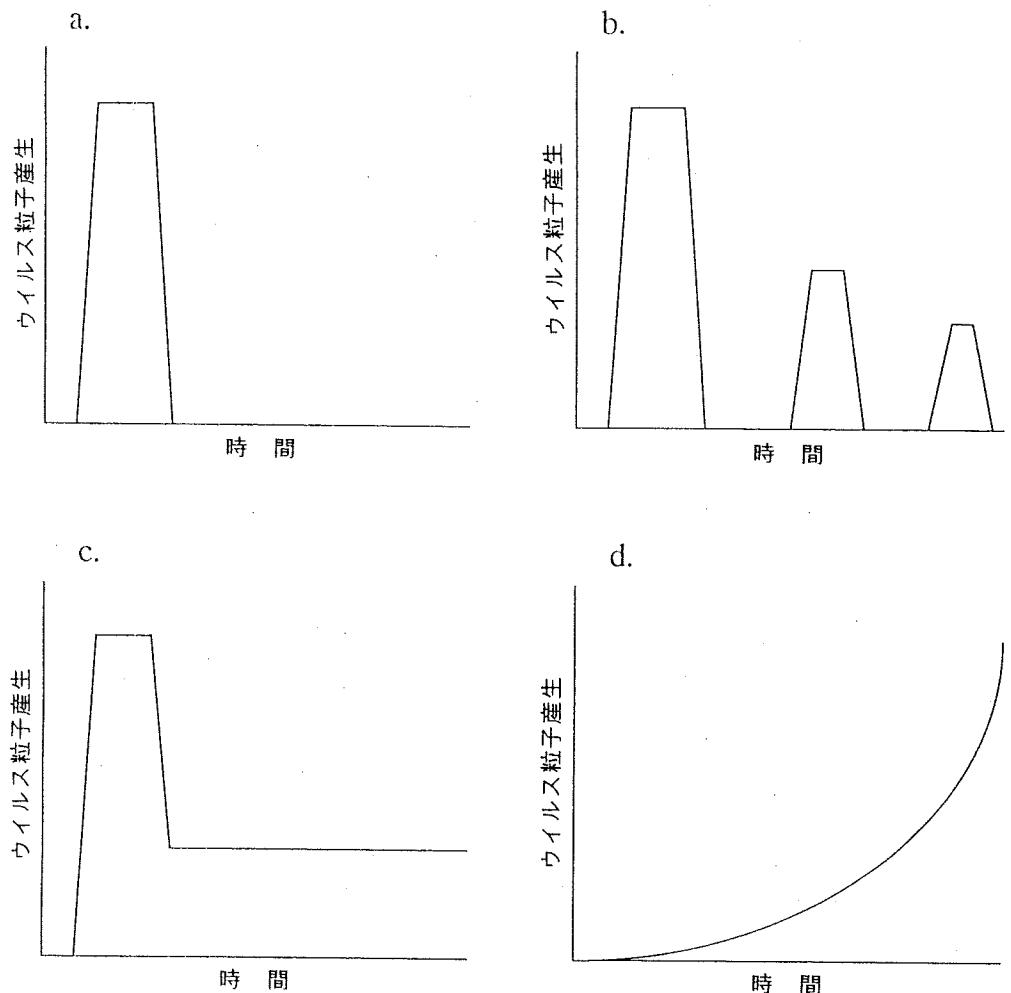


図 1. *in vivo* におけるウイルス感染型

- c. 急性感染に引き続き、持続感染に移行。一般に少量の感染性ウイルスが継続的に產生、排出される。何らかの理由で、宿主の免疫機構がウイルスを完全に排除できない場合である。
- d. プリオン病に見られる遅発性、進行性の感染型。非通常性ウイルス

の感染型であるので、ここでは述べない。

VI. ウィルス持続感染のメカニズム

生体内でウィルスが持続感染するためには、次の3つの条件が満たされなければならない。第一に、ウィルスは過剰に細胞を死滅させることなしに感染しなければならない。第二に、ウィルスは何らかの形で宿主内で自己のウイルスゲノムを維持し続けなければならぬ。第三に、ウィルスは何らかの形で宿主の免疫機構の攻撃から免れなければならない。

1. 宿主細胞傷害の抑制

宿主内である一定数の感染細胞が生存し続けることが、持続感染にとって必要である。感染細胞を死滅させることなしに、ウィルスが子孫ウイルスを増やすことができれば、前述の共生の理論に合致する。例えば、アレナウイルスは宿主細胞を殺すことなしに、また細胞の増殖率にも影響を与えるにウイルスの複製を行う(3)。しかしウイルスは通常感染細胞の代謝を阻害するので、持続感染系に移行するには、非許容細胞への感染や、より細胞溶解性の少ない変異ウイルスの出現が必要である。例えば、皮膚の基底細胞はパピローマウイルスにとって非許容性があるので、ウイルス蛋白の発現は抑制されており、潜伏感染が成立する。それらの細胞が角化細胞に分化し始めたり、皮膚に傷害が加わったりすると、ウイルスは再活性化され、ウイルス粒子が産生される。またレオウイルスやポリオウイルスでは、ウイルス側だけではなく宿主細胞側も変化し、溶解感染を受けにくくなることが知られている(4, 5)。

2. ウィルス遺伝子の維持

もし細胞の増殖に伴いウィルス遺伝子の複製が行われなければ、ウィルス遺伝子の維持は不可能であるので、ウィルス遺伝子の複製は持続感染に必須である。遊離ウィルスが細胞分裂した新しい細胞に感染していく場合と、細胞分裂に伴い親細胞から娘細胞へと伝達される場合が考えられる。前者の場合は細胞分裂の速度とウィルス感染および複製の速度のバランスがとれていなければならない。後者の場合は、ウィルス遺伝子が宿主の染色体に組み込まれるか、エピゾームの形で維持されている。レトロウィルスにおいては、ウィルスRNAから環状複鎖DNAが作られ、宿主の染色体に組み込まれる。この状態のウィルスをプロウィルスと呼ぶ。従ってプロウィルスDNAは染色体の複製に伴い、永遠に親細胞から娘細胞へと伝達されていく。ウィルスにとって最も効率の良い遺伝子維持の方法である。一方、パピローマウィルス、ヘルペスウィルスでは、ウィルスDNAは細胞質にエピゾームとして存在する。例えばヘルペスウィルスが知覚神経節に潜伏感染しているときは、当然ウィルス粒子は検出されないが、ウィルスDNAはサザンブロットやPCRにより検出される。さらに環状エピゾームとして存在していると思われる(6)。幸い、ニューロンは既に分化した細胞なのでウィルス遺伝子の維持にウィルスDNAの複製は全く必要なく、潜伏期間中 latency-associated transcript(LAT) と呼ばれる転写物のみが発現している。ウィルス蛋白が発現していないので、免疫の監視機構から免れうるし、またニューロンはほとんどまたは全くMHC分子を発現しないので、T細胞の標的にもなり得ない。

以上のように、DNAウィルスは染色体に組み込まれるか、またはエ

ピゾームの形で、宿主細胞において自己の遺伝子を維持している。従って、ウイルス遺伝子の複製の際にウイルス蛋白の発現は不可欠ではない。一方、RNAウイルスの場合はウイルス遺伝子の複製にはウイルス自身の酵素が必要であるため、持続感染に必要なウイルス遺伝子の複製と維持のためには、ウイルス蛋白の持続的な発現が不可欠である。このため、潜伏感染はむしろDNAウイルス(またはRNAウイルスであってもレトロウイルス)において一般的に見られる現象である。

3. 宿主免疫監視機構からの回避

宿主免疫機構は液性免疫および細胞性免疫に分けられる。抗体はウイルス粒子またはウイルス感染細胞を認識し、ウイルス粒子を中和するか、もしくはウイルス感染細胞を補体依存性細胞傷害作用や抗体依存性細胞性細胞傷害作用(ADCC)によりウイルス感染細胞に障害を与える。このように免疫機構が認識する分子はウイルス粒子の膜糖蛋白やカプシド蛋白そして感染細胞表面に表出されるウイルス糖蛋白である。また感染細胞表面に表出されるウイルス糖蛋白に対する抗体が細胞内のウイルス遺伝子の発現を抑制することが *in vitro* および *in vivo* において、麻疹ウイルスを始め(7)、種々のウイルスで報告されている。また抗体は感染細胞内のウイルス抗原までも中和する可能性が報告されている(8)。このような抗体からの攻撃からウイルスが免れるもっとも一般的な手段は、膜糖蛋白やカプシド蛋白を変化させること、すなわち変異体の出現である。抗体認識部位の変異は中和抗体の攻撃から免れる最も有効な手段である。例えば、ウマの伝染性貧血症では感染性ウイルスは一時中和抗体により中和されるが、再び出現するウイルスは変異しており、もうその中和抗体が作用することはでき

ない。新たな中和抗体で再び中和するが、その次に出現するウイルスはさらに変異している。一方、このような表面の膜糖蛋白やカプシド蛋白のような構成蛋白に対して、ポリメラーゼのような非構成蛋白は液性免疫の攻撃対象にはならない。

液性免疫が独自にウイルス抗原を認識できる反面、細胞性免疫は宿主細胞のMHC分子と関連することによってのみウイルス抗原を認識する。すなわち細胞性免疫が液性免疫と根本的に異なる点は、T細胞は細胞外に放出されたウイルス粒子を認識することはできず、ターゲットはウイルス感染細胞に限られていることである。周知のように、T細胞はCD4⁺細胞とCD8⁺細胞に分類され、抗原提示細胞によって細断されたウイルスペプチドをそれぞれMHCクラスII抗原、MHCクラスI抗原との関連により認識する。従って抗体と異なり、ウイルスの構成蛋白であっても非構成蛋白であってもT細胞の認識の対象になりうる。その機構から推察できるように、ウイルスが細胞性免疫機構の監視から免れる方法は、T細胞認識からの回避、T細胞認識に必要な細胞表面分子の抑制、抗原提示プロセスの阻害などが考えられる。T細胞認識からの回避に関しては、CD4⁺細胞よりもむしろCD8⁺細胞について検討されている。リンパ性脈絡髄膜炎ウイルスでは単一アミノ酸の変異が細胞障害性T細胞(CTL)の認識を阻害することが報告されている(9)。この他にも、HIV、E-Bウイルス、B型肝炎ウイルスでCTLからのエスケープ変異体が持続感染に役割を果たしていると言われている。またT細胞認識に必要な宿主細胞分子、例えばMHCクラスI分子、MHCクラスII分子、そしてICAM-1やLFA-3といった接着分子の発現抑制もT細胞認識からの回避に役に立つ。事実アデノウイルスの感染では、ウ

イルス蛋白がMHC抗原と結合したり、MHC分子の転写過程の阻害により、MHCクラスI抗原発現が抑制されることが知られている(10)。またバーキットリンパ腫から樹立されたB細胞株において、接着分子ICAM-1およびLFA-3分子の発現抑制により、CTLの攻撃から免れえることが報告されている(11)。さらに単純ヘルペスウイルス感染で新しいメカニズムが提唱されている(12)。すなわち前初期蛋白の一つであるICP47がウイルスペプチドの小胞体への移行を阻害し、その結果MHCクラスI分子に結合できず、ウイルスペプチド、MHCクラスI分子が細胞表面に表出できない。注意すべき点は、ヘルペスウイルスの潜伏感染細胞はニューロンであり、ニューロンはMHCクラスI分子をほとんどまたは全く発現しない。従って、この機構は上皮細胞や線維芽細胞といったMHCクラスI分子を発現する細胞にウイルスが感染したときに重要と考えられる。

おわりに

以上、細胞とウイルスの関係、ヒトにおけるウイルス感染様式、そして現在想定されている持続感染のメカニズムについて述べた。従来、急性と考えられていたウイルス感染症において慢性感染を引き起こすウイルスの割合が急増しており、それに伴う持続感染のメカニズムの理解は急務である。

文 献

1. 大原義朗: 急性灰白髓炎(ポリオ). 最新内科学大系、中山書店、67: 123-127, 1996.
2. White DO, Fenner FJ: Virus-induced changes in cells. In Medical Virology, 4th ed, ed by White DO, Fenner FJ, Academic Press, San Diego, 1994, pp 74-86.
3. Buchmeier MJ, Welsh RM, et al: The virology and immunology of lymphocytic choriomeningitis virus infection. Adv Immunol 30: 275-331, 1980.
4. Dermody TS, Nibert ML, et al: Cells and viruses with mutations affecting viral entry are selected during persistent infections of L cells with mammalian reoviruses. J Virol 67: 2055-2063, 1993.
5. Kaplan G, Levy A, et al: Isolation and characterization of HeLa cell lines blocked at different steps in the poliovirus life cycle. J Virol 63: 43-51, 1989.
6. Stevens JG: Human herpesviruses: a consideration of the latent state. Microbiol Rev 53: 318-332, 1989.
7. Fujinami RS, Oldstone MBA: Alterations in expression of measles virus polypeptides by antibody: molecular events in antibody-induced antigenic modulation. J Immunol 125: 78-85, 1980.
8. Mazanec MB, Kaetzel CS, et al: Intracellular neutralization of virus by immunoglobulin A antibodies. Proc Natl Acad Sci USA 89: 6901-6905, 1992.
9. Pircher H, Moskophidis D, et al: Viral escape by selection of cytotoxic T cell-resistant virus variants *in vivo*. Nature 346: 629-633, 1990.
10. Burgert H-G, Kvist S: An adenovirus type 2 glycoprotein blocks cell surface expression of human histocompatibility class I antigens. Cell 41: 987-997, 1985.
11. Gregory CD, Murray RJ, et al: Downregulation of cell adhesion molecules LFA-3 and ICAM-1 in Epstein-Barr virus-positive Burkitt's lymphoma underlies tumor cell

escape from virus-specific T cells surveillance. J Exp Med 167: 1811-1824, 1988.

12. Hill A, Jugovic P, et al: Herpes simples virus turns off the TAP to evade host immunity. Nature 375: 411-415, 1995.

中枢神経系へのウイルス感染とサイトカイン

池本 香, 森松光紀
(山口大学 神経内科)

<はじめに>

ウイルスが中枢神経系 (CNS) に侵入した際に誘導される免疫反応において、サイトカインは生体防御機構を形成する重要な因子で、局所の免疫反応の成立・維持に重要な働きをする。しかし、その一方で組織破壊を引き起こし、病態形成にも大きな役割を果たすことも知られている (Benveniste, 1992, Brosman et al, 1988, Selmaj et al, 1991a)。CNS には blood-brain barrier (BBB) が存在し、リンパ組織を欠き、主要組織適合抗原 (MHC) の発現が弱いこと、感染してない脳にも抗炎症性サイトカインである TGF- β が表出されていること (Wilbanks and Streilein, 1992) などから全身感染とは大きく異なった複雑な免疫機構が働くとされている。ウイルス感染時の脳内におけるサイトカインの産生は、浸潤してきたT細胞, macrophage ばかりでなく, microglia, astrocyte などの神経系を構成する細胞自体からも認められる。ここでは、ウイルス感染時に働くサイトカインを便宜上、炎症性サイトカインと抗炎症性サイトカインとに分け、代表的なものについてその産生細胞と働きを概説してみる。

<ウイルス感染の初期反応>

ウイルスの感染早期には microglia や astrocyte のような脳実質細胞が様々なサイトカインを産生し、ウイルスに対する特異的な免疫反応を局所に引き起こす。こうしたサイトカインを誘導する刺激が何であるかは明らかでないが、感染神経細胞の substance P のような neuropeptides による刺激 (Lotz et al, 1988) や、やはり感染感受性のある microglia, oligodendrocyte の直接刺激ではないかと考えられている (Webb and Fazakerley, 1984, Gates et al, 1985)。また、ウイルス粒子が astrocyte の MHC class II 抗原の表出を直接誘導したり (Massa et al, 1986)，感染後すぐに microglia が MHC class II 抗原を表出し、抗原提示細胞として局所の免疫反応を誘発することも報告されている (Tyor et al, 1990)。いずれにしても、サイトカインの産生には脳内局所での刺激が必要であり、全身を循環する endotoxin のような物質では脳でのサイトカインの産生は刺激されない (Giroir et al, 1992)。脳実質細胞に続きサイトカインの主な産生源となるのは浸潤してきたT細胞や macrophage である。ウイルスに対する抗体も防御反応に働くと言われている (Levine et al, 1991, Cerny et al, 1986) が、B細胞の CNS への侵入、B細胞や macrophage の分化・活性化もサイトカインに依存しているといわれており (Tyor et al, 1989)，サイトカインが防御反応の中心となって感染症の進行・期間・重症

度などを決定する。

<炎症性サイトカイン>

ウイルスの感染時に防御に働くサイトカインは proinflammatory cytokines といわれ、 IFN- γ , TNF- α を中心に (Benveniste, 1992, Ramsay et al, 1993, Sadick et al, 1990), IL-1 β , IL-2, IL-6 などが報告されており、 病態成立に関与するといわれている (Lustig et al, 1992, Ramsay et al, 1993, Gillespie et al, 1993) .

IL-1 β , IL-6 mRNAは、 scid マウスのように免疫が抑制された宿主の脳内においても認められることや、 感染早期、 T 細胞浸潤前に脳内に表現されることから microglia, astrocyte, endothelial 細胞のような脳実質細胞から産生されるとされている (Frei et al, 1989, Mokhtarian et al, 1996, Wesselingh et al, 1994). TNF- α も microglia や astrocyte から産生される (Tyor et al, 1992, Benveniste, 1992). これらのサイトカインは、その後、脳内に浸潤してきた細胞から産生される。 IL-2, IFN- γ は主として浸潤細胞から産生される (Wesselingh et al, 1994, Mokhtarian et al, 1996).

IL-1 β , IL-6, TNF- α は代表的な炎症性サイトカインで、 endothelial 細胞上の接着因子 (ICAM-1, VCAM-1) の発現を増強し (Mantovani et al, 1992, Tracey and Cerami, 1993), 表面抗原を誘導し (Benveniste et al, 1989, Frohman et al, 1989), 走化因子の産生誘導や、 浸潤細胞の活性化・分化の促進 (Mantovani et al, 1992) など、 局所での炎症反応や組織反応の誘導に大きな働きをする (Merrill and Benveniste, 1996). 抗ウイルス作用も持つ (Wong and Goeddel, 1986, Ramsay et al, 1993). さらに神経に対する直接作用も持ち、 astrocyte の増殖 (gliosis), 神経成長因子 (nerve growth factor, NGF) の産生を誘導するなど、 炎症の修復機構にも働く (Selmaj et al, 1990, Frei et al, 1989).

IL-1 は IL-6, TNF- α , IFN- γ , nerve growth factor など他のサイトカインと IL-1 自身の産生を誘導する (Benveniste, 1992) . IL-1 と TNF- α は BBB を障害することも示唆されている (Quagliarello et al, 1991). また、 感染時の発熱、 食欲低下、 睡眠誘導にも働くとされている (Plata-Salaman, 1991) .

TNF- α は astrocyte にMHC class I 及び II 抗原 (Lavi et al, 1988, Vidovic et al, 1990) を誘導し、 IL-6 の産生も誘導する (Norris et al, 1994). TNF- α の脳内での局所での産生は組織障害に働き、 myelin や oligodendrocyte を傷害し、 病態成立に関与する (Selmaj et al, 1988, 1991b, Benveniste, 1992). LCMV 脳炎では感染後に TNF- α を投与することで早期に死に至ることが報告されて

いる (Doherty et al, 1989). 局所の TNF- α 產生は食欲を低下させ死に至らしめるこども報告されている (Tracey et al, 1990).

IL-6 も多彩な機能を有するサイトカインで、浸潤した B 細胞の抗体產生細胞への最終分化を促し、T 細胞に対してはキラーT 細胞の誘導、IL-2 の產生誘導や IL-2 レセプターの発現・増殖誘導などに働く (Kishimoto, 1989). 神経細胞にも働き IL-1 と同様に発熱に関与する (Freidin et al, 1991, Soliven et al, 1992). また、astrocyte の増殖を誘導したり (Kishimoto et al, 1989), NGF 様の働きを持つと同時に astrocyte からの NGF 產生を促進する。さらに、astrocyte からの IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , GM-CSF, CSF- α の產生を誘導する。IL-6 は多くのウイルス感染で髄液中に產生されることが報告され (Moskophidis, 1991, Aurelius et al, 1994, Gillespie, 1993)、ウイルス感染時の防御ならびに組織障害の修復に重要な役割を持つと考えられている。

正常脳では検知されない IFN- γ , IL-2 は、感染時に浸潤してきた細胞から產生されることが示唆されている (Mokhtarian et al, 1996)。IFN- γ は、抗ウイルス作用をもち、ウイルスの複製を抑制する (Ward et al, 1991, Kundig et al, 1993)。また、IL-1 の產生を促進したり (Dinarello, 1989), IL-1 β と共に TNF- α の產生を促進する (Chung and Benveniste, 1990)。同時に、神経系では microglia, astrocyte, endothelial 細胞などに MHC class I 及び II 抗原を誘導し (Benveniste, 1992, Panek and Benveniste, 1995)，神経病理学的变化をきたす。IL-2 は直接抗ウイルス作用を持たないが T 細胞を活性化することで、間接的にウイルス除去に働く。IL-2 はその他にも B 細胞、NK 細胞等にも働く。神経系では oligodendroglia に作用し、その増殖、分化、myelin basic protein の合成に関与する (Benveniste and Merill, 1986, Saneto et al, 1986)。

その他に、IL-12 は NK, T 細胞からの IFN- γ の產生を強く誘導すると同時に Th1 細胞への分化を選択的に促進し、細胞性免疫の成立に必須といわれている (Lamont and Adorini, 1996) が、CNS への感染を含めウイルス感染の防御に働くことが報告されつつある (Bi et al, 1995, Orange and Biron, 1996)。

<抗炎症性サイトカイン>

逆に炎症を抑えるサイトカインとして働くのが TGF- β , IL-4, IL-10 で、細胞性免疫を抑制し、液性免疫を亢進させる (Heinzel et al, 1991, Silva et al, 1991) ほか、microglia のほとんどの機能を抑制する (Suzumura et al, 1993)。抗炎症性サイトカインは、炎症性サイトカインによって引き起こされた炎症反応を調節したり、収束の方向へ導く。神経保護作用も合わせ持つ。

TGF- β 1 mRNA は非感染マウスの脳にも表出されている。しかし、TGF- β 1 は產生されておらず、IL-1 の刺激によりはじめて astrocyte, microglia から產生される (Constam et al, 1992, da Chunha and Vitkovic, 1992)。TGF- β は IgA へのスイッチングに働き、sindbis virus 感染マウス脳では豊富な IgA の產生が認められる (Griffin, 1981)。TGF- β は、その他にも接着因子 (ICAM-1, VCAM-1) の発現を抑制し (Gamble et al, 1995, Shrikant et al, 1995), IFN- γ で誘導された MHC class II 抗原の発現を抑制し (Ransohoff et al, 1991, Panek and Benveniste, 1995), CTL 活性・NK 細胞の増殖抑制や炎症反応の抑制に働く (Wahl, 1994)。CNSにおいては、astrocyte の接着因子や神経栄養因子の產生誘導を介して神經保護に働く (Saad et al, 1991)。脳浮腫を防止すること (Pfister et al, 1992) や、Borna 病ウイルスの脳炎では、免疫性組織障害を遅らせることが報告されている (Stitz et al, 1991)。

IL-4, IL-10 mRNA の誘導は比較的早く、SV 感染マウスでは感染 24 時間以内に炎症細胞の浸潤前に出現する (Mokhtarian et al, 1996)。これは、IL-4, IL-10 が脳実質細胞から產生される可能性を示し、microglia が IL-10 を產生し (Chomarat et al, 1993, Williams et al, 1996)，脳内に存在する mast cell が IL-4 を產生する可能性が報告されている (Ben-Sasson et al, 1990, Piccinni et al, 1991, Wesselingh et al, 1994)。しかし IL-4 は脳実質細胞からは產生されないという報告 (錫村, 1995) や、IL-10 が浸潤細胞から產生されるという報告もある (Mokhtarian et al, 1996, Persidsky et al, 1997)。IL-4 は macrophage の走化因子となる (Hiester et al, 1992) ほか、B 細胞の増殖を促進させ免疫グロブリンの產生を誘導する。IL-4 も IL-10 も Th2 細胞の働きを亢進させ、Th1 細胞の働きを抑制し、IL-1, IL-6, TNF- α , IL-12 の產生も抑制する。脳内でも glia 細胞上の接着因子の発現を抑制し、IFN- γ による MHC class II 抗原の誘導も抑制する (Shrikant et al, 1995, Merrill and Benveniste, 1996) など、感染症を進行させる方向に働く (Modlin and Nutman, 1993, Sharma et al, 1996)。我々は単純ヘルペス脳炎のマウスモデルで IL-4 の投与により脳内のウイルスの増殖が促進され、死亡率が上昇することを報告している (Ikemoto et al, 1995)。しかし、その一方で IL-4 も IL-10 も microglia からの NO 產生を抑制し神經保護に働くことが報告されている (Merrill and Benveniste, 1996)。IL-4 は astrocyte からの NGF の產生も刺激する (Awatsuji, et al, 1993)。

<自己免疫疾患>

ウイルス感染は自己免疫疾患の誘因となり、例えば alphatogavirus の semliki forest virus は experimental allergic encephalomyelitis (EAE) に似た脱髓疾患のモデルをつくるためによく用いられる。脱髓疾患へ至るかどうかは、感染早期に產生される炎症性サイトカインのレベル、細胞性免疫の違いで説明さ

れている。EAE は抗炎症性サイトカインが欠如し炎症性サイトカイン産生が優位になることで発症し、逆に炎症性サイトカインが減少し抗炎症サイトカインが優位になることが回復に必要と考えられている (Kuchroo et al, 1993, Kennedy et al, 1992, Merrill et al, 1992)。その裏付けとして、TGF- β , IL-10, 抗 IL-12 抗体の投与は EAE の治療で良好な結果を得ている (Racke et al, 1991, Rott et al, 1994, Leonard et al, 1995)。

<持続感染>

様々なウイルス (measles virus, HIV, VSV, LCMV) の持続感染においても、急性感染同様 IL-1, TNF- α , IFN- α/β , IL-6 が髄液、血清中で上昇することが報告され (Frei et al, 1989, Moskophidis et al, 1991)，これらのサイトカインがウイルス感染に共通して產生され働くことが予想されている。IL-1 が慢性炎症を誘導することも報告されている (Martiney et al, 1992)。持続感染成立のメカニズムは未だ明らかではなく、どのサイトカインが持続感染を誘導するのか明らかではないが、宿主の遺伝的背景が大きく関与することが示唆されている。例えば、lymphocytic choriomeningitis virus のマウスモデルでは系によって髄液中の IL-6 の値が異なり、IL-6 が持続的に產生されることが持続感染の成立に重要であることが予想されている (Moskophidis et al, 1991)。IFN- α/β も IL-12, IFN- γ の產生を抑制し抗炎症作用を示すことで、持続感染に関与する可能性が示唆され (Cousens et al, 1997)、SSPE の患者の髄液中で上昇していることも報告されている (Joncas et al, 1976)。IL-1 β , TNF- α の両者もウイルスの持続感染の成立に深く関わっていることが予想されている (Schneider-Scaulies 1993)。また、sindbis virus 感染では局所で抗ウイルス抗体がウイルス除去に働くが、ウイルスの RNA はウイルスが除去されても残存し、抗体產生細胞も残る。その維持に IL-4, IL-10 が重要であるとされている (Bradley et al, 1993)。

<サイトカイン产生ウイルス>

ウイルスとサイトカインをめぐる関係はさらに複雑である。ウイルス感染におけるサイトカインの產生は生体における免疫反応の結果としてばかりではない。ウイルスの遺伝子産物の中にはサイトカインやサイトカインレセプターとして機能するものが知られている。例えば EB ウィルスはウイルス自身が IL-10 遺伝子を持っている。さらに、ウイルス自身の遺伝子発現制御のための転写因子が宿主細胞側の遺伝子にも作用することが報告されている。例えば HTLV-1 Tax は IL-2, IL-6 などのサイトカインレセプターの発現を誘導し、病態発現に関わる可能性が示唆されている。また、ヒトヒトパルボウイルス (B19) の転写因子 NS-1 が IL-6 の產生を誘導することも報告されている。この様に免疫反応を介さず、一見、ウイルスがサイトカインを作り出すというメカニズムも無視できない (菅村, 1997)。

<おわりに>

現在、サイトカインも interleukin-18 まで報告されており今後もさらに増えることが予想される。ウイルス感染時には、生体内で働くサイトカインの種類の多さもさることながら、たった1つのサイトカインでも多種多様な機能を持つこと、サイトカイン同士が相互に作用し合うサイトカインネットワークを形成すること、さらに中枢神経系では、その免疫機構の特異性から、全身感染以上に複雑な免疫反応が展開している。働くサイトカインの種類も侵入してきたウイルスの感染経路、時間経過、種類によって異なり、中枢神経系へのウイルス感染とサイトカインの関係はまだまだ多くの謎が残されている。

引用文献

- Aurelius E, Anderson B, Forsgren M et al. *J Inf Dis* 170:678. 1994
Awatsuji H, Furukawa Y, Hirota M et al. *J Neurosci Res* 34:539. 1993
Ben-Sasson SZ, Legros G et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:1421. 1990
Benveniste EN and Merrill JE. *Nature* 321:610. 1986
Benveniste EN. *Am J Physiol* 263:C1. 1992
Bi Z, Quandt P, Komatsu T et al. *J Immunol* 155:5684. 1995
Bradley LM, Duncan DD, Yoshimoto K et al. *J Immunol* 150:3119. 1993
Brosman CF. *J Neuroimmunol* 18:87. 1988
Cerny A, Sutter S, Bazin H et al. *J Virol* 62:1803. 1988
Chomarat P, Rissoan M-C, Banchereau J et al. *J Exp Med.* 177, 523. 1993
Chung IY and Benveniste EN. *J Immunol* 144:2999. 1990
Clatch RJ, Lipton HL and Miller SD. *J Immunol* 136:920. 1986
Constam DB. *J Immunol* 148:1404. 1992
Cousens LP, Orange JS, Su HC et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:634. 1997
da Chunha A and Vitkovic L. *J Neuroimmunol* 36:157. 1992
Dinarello CA. *Adv Immunol* 44:152. 1989
Doherty PC, Allan JE and Clark IA. *J Immunol* 142:3576. 1989
Frei K, Malipiero UV, Leist TP, et al. *Eur J Immunol* 19:689. 1989
Freidin M and Kessler JA. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:3200. 1991
Frohman EM, Frohman TC, Dustin Ml et al. *J Neuroimmunol* 23:117. 1989
Gamble JR, Bradley S et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15:949. 1995
Gates MC, Sheahan BJ, O'sullivan MA et al. *J Gen Virol* 2365:2373. 1985
Gillespie JS, Cavanagh HMA, Behan WMH et al. *J Gen Virol* 74:741. 1993
Giroir BP, Johson JH, Brown T et al. *J Clin Invest* 90:693. 1992
Griffin DE. *J Immunol* 126:27. 1981
Heinzel FP, Sadick MD et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:7011. 1991
Hiester AA, Metcalf DR and Campbell PA. *Cell Immunol* 139:72. 1992

- Ikemoto K, Pollard RB, Fukumoto T et al. *J Immunol* 155:1326. 1995
Joncas JH, Robillard LR, Boudreault A et al. *Can Med Assoc J* 115:309. 1976
Kishimoto T. *Blood*. 74:1. 1989
Kennedy MK, Torrance DS, Picha KS et al. *J Immunol* 149:2496. 1992.
Kuchroo VK, Martin CA, Greer JM et al. *J Immunol* 151:4371. 1993
Kundig TM. *J Immunol* 150:2316. 1993
Lavi E, Suzumura A, Murasako DM et al. *J Neuroimmunol* 18:245. 1988
Lamont AG and Adorini L. *Immunol Today* 17:214. 1996
Leonard JP, Waldburger KE and Goldman SJ. *J Exp Med* 181:381. 1995
Levine B, Hardwick JM, Trapp BD et al. *Science* 254:856. 1991
Lotz M, Vaughan HH and Carson DA. *Science* 241:1218. 1988
Lustig S, Danenberg HD, Kafri Y et al. *J Exp Med* 176:707. 1992
Mantovani A, Bussolino F and Dejana E. *FASEB J* 6:2591. 1992
Martiney JA, Berman JW and Brosnan CF. *J Neuroimmunol* 41:167. 1992
Massa PT , ter Meulen V, Fontana A. *Nature* 320:543. 1986
Merrill JE, Kono DH, Clayton J et al. *J Exp Med* 176:1355. 1992
Merrill JE and Benveniste EN. *Trends Neurosci* 19:331. 1996
Modlin RL and Nutman TB. *Cur Opin Immunol* 5:511. 1993
Mokhtarian F, Wesselingh SL, Choi S et al. *J. Neuroimmunol* 66:11. 1996
Moskophidis D, Frei K, Lohler J et al. *J Virol* 65:1365. 1991.
Norris JG, Tang LP, Sparacio SM et al. *J Immunol* 152:841. 1994
Orange JS and Biron CA. *J Immunol* 156:1138. 1996
Panek RB and Beveniste EN. *J Immunol* 154:2846. 1995
Persidsky Y, Stins M, Way D et al. *J Immunol* 158:3499. 1997
Pfister H-W, Frie K, Ottnad B et al. *J Exp Med* 176:265. 1992
Piccinni M-P, Macchida D et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8656. 1991.
Plata-Salaman CR. *Neurosci Biobehav Rev* 15:185. 1993
Quagliarello VJ, Wispelwey B, Long WJ Jr et al. *J Clin Invest.* 87:1360. 1991
Ransohoff RM, Devajyothi C, Estes ML et al. *J Neuroimmunol* 33:103. 1991
Racke MK, Dhib-Jalbut S, Cannella B et al. *J Immunol* 146:3012. 1991
Ramsay AJ, Ruby J and Ramshaw IA. *Immunol Today* 14:155. 1993
Rott O, Fleischer B, Cash E. *Eur J Immunol* 24:1434. 1994
Saad B, Constam DB, Ortmann R et al. *J Cell Biol* 115:473. 1991
Sadick MD, Heinzel FP, Holaday BJ et al. *J Exp Med* 171:115. 1990
Saneto RP, Altman A et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:9221. 1986
Schneider-Schaulies J, Scneider-Schaulies S et al. *Virology* 195:219. 1993
Selmaj KW. and Raine CS. *Ann Nurol* 23:339. 1988
Selmaj K. *J Immunol* 144:129. 1990
Selmaj K, Raine, C. S. A. and Cross, H. *Ann Neurol* 30:694. 1991a
Selmaj K. *J Clin Invest* 87:949. 1991b
Sharma DP, Ramsy AJ, Maguire DJ et al. *J Virol* 70:7103. 1996
Shrikant P, Weber E, Jilling T et al. *J Immunol* 155:1489. 1995
Silva JS, Twardzik DR and Reed SG. *J Exp Med* 174:539. 1991

- Soliven B and Albert J. *J Neurosci* 12:2665. 1992
Stitz L, Planz O, Bilzer T, Frei K and Fontana A. *J Immunol* 147:3581. 1991
Suzumura A, Sawada M, Yamamoto H et al. *J Immunol* 151:2150. 1993
Tracey KJ, Morgello S, Koplin B et al. *J. Clin Invest* 86:2014. 1990
Tracey KJ and Cerami, A. *Annu Rev Cell Biol* 9:317. 1993
Tyor WR, Moench, T.R. and Griffuin, D.E. *J Neuroimmunol* 24:207. 1989
Tyor WR, Stoll G. and Griffin, D.E. *J Neurol Exp Neuropathol* 49:21. 1990
Tyor WR, Glass JD, Griffin JW et al. *Ann Neurol* 31:349. 1992
Vidovic M, Sparacio SM, Elovitz M et al. *J Neuroimmunol* 30:189. 1990
Wahl SM. *J. Exp. Med.* 180:1587. 1994
Ward BJ, Johnson RT et al. *Clin Immunol Immunopathol* 61:236. 1991
Webb HE and Fazakerley JK. *Neuropath Appl Neurobiol* 10:1. 1984
Wesselingh SL, Levine B, Fax RJ et al. *J Immunol* 152:1289. 1994
Wilbanks GA and Streilein JW. *Eur J Immunol* 22:1031. 1992
Williams K, Dooley N et al. *Neurochemistry International* 29:55. 1996
Wong GHW and Goeddel DV. *Nature* 323:819. 1986
菅村和夫. Molecular Medicine. 増刊 33:220. 1996
錫村明生. 臨床免疫 27 (suppl 16):376. 1995

編集後記

本誌1巻1号の初めに記したように神経感染症が神経病学と病原体学と媒介動物学の学際的な研究対象であることから、これら三領域の新しい知識がくり返し会員に提示されることは神経感染症の研究を深めるという会の目的に適うものである。

今回ウイルスに関連した総説の特別寄稿を当初6名の方々に依頼したところ4名の方に執筆して頂くことができた。あとの2名の方も別の機会に執筆して頂けるとのことである。

幹事 糸山泰人

森島恒雄

塩澤全司

庄司紘史

高須俊明(今回担当)

