

ヘルペスウイルスの分類

- ◆ **アルファヘルペスウイルス亜科**
 - ◆ イルトウイルス属 Iltovirus
 - ◆ マルディウイルス属 Mardivirus
 - ◆ スクーターウイルス属 Scutavirus
 - ◆ 単純ウイルス属 Simplexvirus
 - ◆ パリセロウイルス属 Varicellovirus
 - ◆ 属未割当
- ◆ ベータヘルペスウイルス亜科
- ◆ ガンマヘルペスウイルス亜科

アルファヘルペスウイルス亜科

- ◆ アルファヘルペスウイルス属 (Alpha herpesvirus 1)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 1)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 2)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 3)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 4)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 5)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 6)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 7)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 8)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 9)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 10)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 11)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 12)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 13)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 14)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 15)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 16)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 17)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 18)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 19)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 20)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 21)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 22)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 23)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 24)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 25)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 26)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 27)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 28)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 29)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 30)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 31)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 32)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 33)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 34)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 35)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 36)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 37)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 38)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 39)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 40)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 41)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 42)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 43)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 44)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 45)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 46)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 47)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 48)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 49)
- ◆ ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus 50)

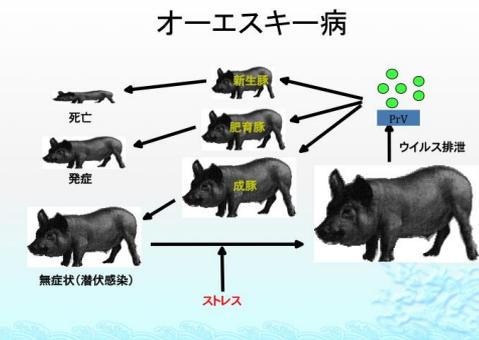
単純ウイルス属 Simplexvirus

- ◆ 単純ヘルペスウイルス1型 Human herpesvirus 1, Herpes simplex virus 1, HSV-1
- ◆ 単純ヘルペスウイルス2型 Human herpesvirus 2, Herpes simplex virus 2, HSV-2
- ◆ Bウイルス Macacine herpesvirus 1
- ◆ パリセロウイルス属 Varicellovirus
 - ◆ 水痘帯状疱疹ウイルス Human herpesvirus 3
 - ◆ フタヘルペスウイルス1型 Suid herpesvirus 1 (假性狂犬病ウイルス: Pseudorabies virus: オーエスキー病)

単純ヘルペスウイルス

単純ヘルペスウイルス1型 (口唇ヘルペス)
単純ヘルペスウイルス2型 (性器ヘルペス)
単純ヘルペスウイルス3型 (水痘・帯状疱疹)

単純ヘルペスウイルス1型 (仮性狂犬病ウイルス: Pseudorabies virus: オーエスキー病)



アルツハイマーにヘルペスが関係か、治療法の発見に期待

© 2018.06.25 Mon posted at 16:54 JST

アルツハイマー病の発症にはヘルペスウイルスが関係している可能性があるという

(CNN) アルツハイマー病の発症にはヘルペスウイルスが関係している可能性があるという研究結果が、このほど科学誌に発表された。原因の究明や治療法の確立に向けた手がかりになることが期待されている。

VZV: 初感染で水痘、回帰感染で帯状疱疹

水痘瘡

帯状疱疹

オーエスキー病ウイルス潜伏感染マウス

Balb/c → 1:128 純ウイルス血清 0.25ml 腹腔内投与 → 30分後 → 脳内ウイルス検出 (YS-B1 (100LD₅₀)) → アセチルコリン 3x10¹⁰M 0.5ml 腹腔内投与 → ウイルス潜伏感染マウス

ヘルペスウイルス感染がアルツハイマー病を悪化！

Establishment of an Alzheimer's disease model with latent herpesvirus infection using PS2 and Tg2576 double transgenic mice

Seichi TANAKA¹ and Hiroshi NAGASHIMA¹

¹Center for Experimental Animals, Fukuoka University, 7-45-1 Nanakida, Juman-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 816-0191, Japan

²Animal Care Center, Ltd., 5-19-24 Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0022, Japan

Abstract: A relationship between Alzheimer's disease and herpes simplex virus infection has been pointed out. We established a model of Alzheimer's disease with a latent herpesvirus infection using a mouse model of Alzheimer's disease (PS2/Tg2576) and examined the changes in amyloid β (Aβ) in the brain. We crossed female PS2 mice with male Tg2576 mice and chose Tg2576 mice. After priming 5-week-old male mice with anti-pseudorabies virus serum, we challenged the mice with 100 LD₅₀ of YS-B1, a wild-type strain of pseudorabies virus. The viral DNA was detected in nasal swabs by a reaction test and in the trigeminal ganglia. At two months after infection, the Aβ40 and Aβ42 levels in the brains of the mice of the latently infected group were increased; the increase was greater than that observed in the noninfected group. Latent pseudorabies virus infection was established in PS2/Tg2576 mice and the level of Aβ increased with the reactivation of the latent virus.

Key words: Alzheimer's disease, herpesvirus, latent infection, pseudorabies virus

Bウイルスの伝播

- ◆ 自然宿主: マカ科サル(アカゲザル、カンクイザルなど)
- ◆ 感染経路: サル → サル; 接触感染 (交尾、咬傷など)、水平感染、垂直感染
- ◆ サル → ヒト; 接触感染 (咬傷、創傷、飛沫など)
- ◆ ヒト → ヒト; 創傷への接触感染(1症例のみ)

感染 → 潜伏感染; 神経節 → 再活性化

咬傷・創傷などを介した感染

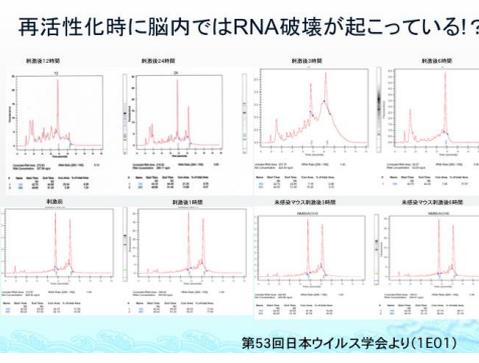
ヒトにおけるBウイルス感染

- ◆ 無症状あるいは軽症(水疱、潰瘍形成)
- ◆ 上行性脳脊髄炎を発症
- ◆ 死亡率: 約50%
- ◆ 再活性化による死亡例1例

・抗体陽性率; 加齢とともに上昇(成体: 70%以上)

・三叉神経節等にウイルス潜伏

・再活性化により唾液、涙液に感染性ウイルス排出



試験管内潜伏ウイルス再活性化抑制試験

三叉神経節

siRNA: CUUGUGAACGUCUUGUACACC, USUACAUAGACGUUCACAGGU

TransIT-Neural (Mirus-Takara)

37°C 一晩培養

豚腎細胞

ウイルス増殖の有無

潜伏ウイルス再活性化抑制(試験管内)

| siRNA | ウイルス出現率 | | | | |
|-------|-----------|----------|------|----|---------|
| | マウス(%) | 培養ウェル(%) | | | |
| + | 0 0 3 0 1 | 2 | 4 | | |
| | 4 5 4 5 5 | 5 | (40) | 22 | (18.19) |
| | 2 3 2 2 0 | 4 | 9 | | |
| - | 4 4 4 4 5 | 5 | (80) | 20 | (45.00) |

ヘルペスウイルスの持つRNA分解酵素活性

- ◆ UL41遺伝子産物=Virion host shutoff protein
- ◆ 細胞内mRNA崩壊により宿主蛋白合成を阻害
- ◆ αヘルペスウイルス内で広く保存

siRNA脳室内投与による潜伏ウイルス再活性化抑制試験

潜伏感染マウス

鼻腔洗浄液

アセチルコリン

siRNA

TransIT-Neural

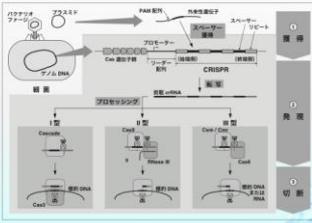
PCR法によるウイルスDNA検出

* マウスカラーアトラスと写真で見る脳髄液マニュアル(羊土社)より引用

潜伏ウイルス再活性化抑制(マウス)

| 刺激後日数 | -1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
|---------------|----|----|----|---|----|
| 対照 | 陽性 | ND | 0 | 1 | 0 |
| | 陰性 | ND | 2 | 2 | 2 |
| siRNA(0.75ug) | 陽性 | ND | ND | 1 | ND |
| | 陰性 | ND | ND | 4 | ND |
| siRNA(1.5ug) | 陽性 | ND | 0 | 0 | 0 |
| | 陰性 | ND | 2 | 5 | 4 |

CRISPRの構造と獲得免疫機構



真田ら, 化学と生物 Vol.51, No.7, 2013.2(中)引用

pGuide-it-ZsGreen1-YS vhs

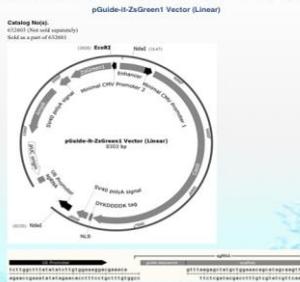
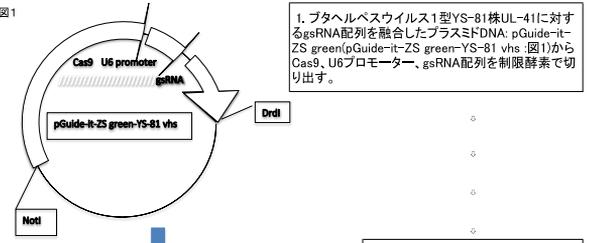
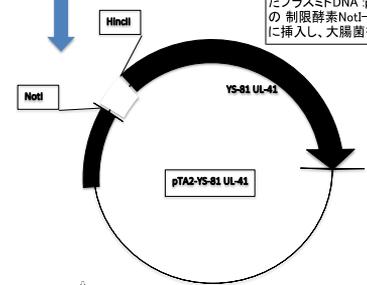


図1



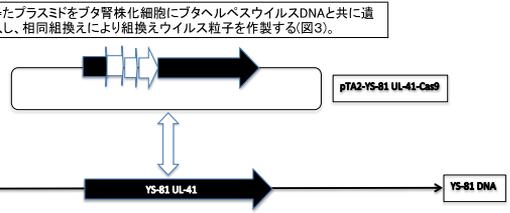
1. プタヘルペスウイルス1型YS-81株UL-41に対するgsRNA配列を融合したプラスミドDNA: pGuide-it-ZS green(pGuide-it-ZS green-YS-81 vhs: 図1)からCas9, U6プロモーター, gsRNA配列を制限酵素で切り出す。

図2



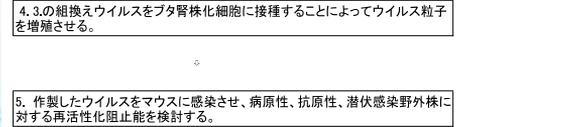
2. UL-41の相補DNAをクローニングしたプラスミドDNA pTA2-YS-81 UL-41の制限酵素NotI-HincII切断部位(図2)に挿入し、大腸菌を用いて増殖する。

図3



3. 2. で得たプラスミドをブタ腎株化細胞にプタヘルペスウイルスDNAと共に遺伝子導入し、相同組換えにより組換えウイルス粒子を複製する(図3)。

図4

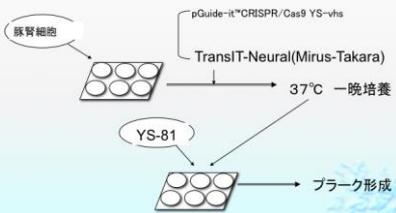


4. 3. の組換えウイルスをブタ腎株化細胞に接種することによってウイルス粒子を増殖させる。

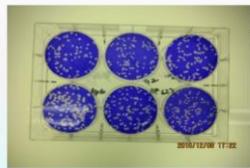
図5

5. 複製したウイルスをマウスに感染させ、病原性、抗原性、潜伏感染野株に対する再活性化阻止能を検討する。

試験管内ウイルス抑制試験

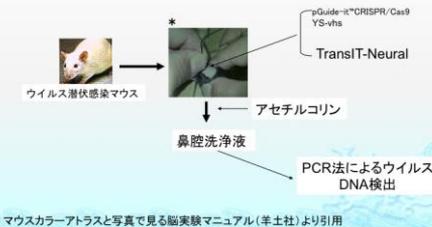


プラークアッセイに対する効果



| | YS-vhs | 対照 |
|------|--------|-------|
| | 80 | 146 |
| | 92 | 114 |
| | 102 | 127 |
| 平均 | 91.33 | 129 |
| 標準偏差 | 8.99 | 13.14 |
| 有意差 | | 0.028 |

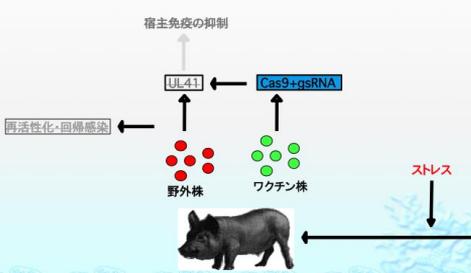
pGuide-it™CRISPR/Cas9 YS-vhs脳室内投与による潜伏ウイルス再活性化抑制試験



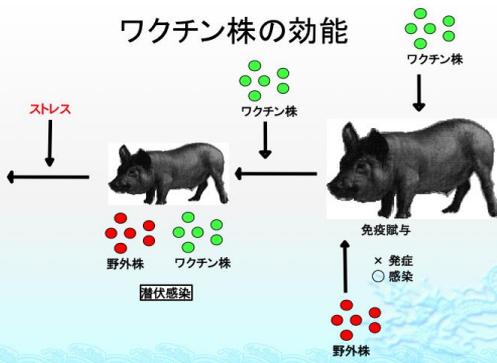
潜伏ウイルス再活性化におけるpGuide-it™CRISPR/Cas9 YSvhs脳内接種の影響

| | ウイルス検出 | | | 総計 | | χ ² |
|----------|--------|-----|-----|-----|-----|----------------|
| | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 陽性数 | 陰性数 | |
| プラスミド投与群 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0.005613 |
| 非投与群 | 3 | 0 | 2 | 5 | 7 | |
| Mock | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | |

ワクチン株の効能



ワクチン株の効能



新技術の特徴・従来技術との比較

- ヘルペスウイルス初感染による症状緩和だけでなく、潜伏ウイルスの再活性化を抑制し、再起感染症や感染拡大を防ぐ
- 潜伏ウイルスの再活性化に伴って増悪すると考えられるアルツハイマー病などの発症抑制

実用化に向けた課題

増殖性を維持した遺伝子組換えウイルスの使用を伴うので、研究実施には組換え実験における文部科学大臣の確認が必要となる。

また、国内での実用化には法改正を伴うかも知れない。まずは海外での実用化が先行することになると思われる。

想定される用途

- ブタ・オーエスキー病ワクチンの改良
- サル・Bウイルスに対する新規ワクチン
- ヒト・単純ヘルペスに対する新規ワクチン
- 水痘・帯状疱疹ワクチンの改良
- アルツハイマー病発症抑制を目的とした抗ヘルペスワクチン

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称: αヘルペスウイルス感染を処置する方法及び医薬組成物
- 出願人: 学校法人福岡大学
- 発明者: 田中 聖一
- 出願日: 2018年2月6日
- 出願番号: 特願 2018-019505