

Title	Effect of Immunosuppression of Gene Expression in the HSV-1 Latently Infected Mouse Trigeminal Ganglion
Author(s)	檜垣, 史郎
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44432">https://hdl.handle.net/11094/44432</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	檜 垣 史 郎
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17431 号
学位授与年月日	平成 15 年 1 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Effect of Immunosuppression of Gene Expression in the HSV-1 Latently Infected Mouse Trigeminal Ganglion (免疫抑制が HSV-1 潜伏感染マウス三叉神経節における遺伝子発現に及ぼす影響)
論文審査委員	(主査) 教授 田野 保雄  (副査) 教授 不二門 尚 教授 山西 弘一

#### 論文内容の要旨

[目的] Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) の再活性化時の宿主側の重要因子として、これまでに約 30 の遺伝子、たんぱく質が報告されている。これらは RT-PCR 法、Northern blotting、Western blotting 法により検討されてきた。一方、マイクロアレイ法では、一度にたくさんの遺伝子に関して検討することが可能である。マイクロアレイ法によりマウス HSV-1 潜伏感染 *in vivo* モデルに対する検討は、我々が以前に 149 遺伝子について調べることのできる mouse stress array を使って、熱ショックによるストレス時における発現変化を調べた報告のみである。今回我々は、HSV-1 潜伏感染マウス三叉神経節における、免疫抑制剤投与による再活性化時の遺伝子発現の変化を、1185 遺伝子を含むアレイ膜を使って調べた。

[方法] BALB/c マウス角膜を HSV-1 McKrae 株にて感染し、潜伏感染が成立したと考えられる 4 週間後に、cyclophosphamide 5 mg とその 24 時間後に dexamethasone 0.2 mg を静注し HSV-1 を再活性化した。非感染マウスも同様に免疫抑制し、1) 非感染、免疫抑制なし、2) 非感染、免疫抑制、3) 潜伏感染、免疫抑制なし、4) 潜伏感染、免疫抑制、の計 4 グループを調べた。各グループともに 22 マウス、44 三叉神経節を用いた。dexamethasone 静注 1 時間後に各グループマウスの三叉神経節を摘出した。poly A<sup>+</sup> mRNA を抽出し逆転写後、<sup>32</sup>P にてラベリングし、1185 遺伝子を含むアレイ膜 (Clontech Atlas mouse 1.2 array) にインキュベート後、フォスフォイメージャーにて解析後、免疫抑制なしと免疫抑制のグループ間でシグナルインテンシティを比較した。すなわちグループ 1) と 2) を比較し、グループ 3) と 4) を比較した。免疫抑制剤投与により 1.4 倍以上遺伝子発現が増大または減少し、かつ ANOVA 法により統計学的に有意に変化した遺伝子を求めた。一部遺伝子に関しては semiquantitative RT-PCR 法にて、マイクロアレイの結果を確認した。

[成績] マウス HSV-1 潜伏感染三叉神経節において、10 遺伝子の発現が統計学的に有意に増加 (prostaglandin E2 receptor EP4 subtype, insulin promoter factor 1, glutathione S-transferase mu 2, cyclin D2, peripherin, plasma glutathione peroxidase, methyl CpG-binding protein 2, retinal S-antigen, ErbB2 proto-oncogene, guanine nucleotide-binding protein alpha stimulating activity polypeptide)、8 遺伝子の発現が有意に減少 (peripheral myelin protein 22, decorin, transcription factor AP-1, dystroglycan 1, myelin protein zero, mitogen-activated protein kinase 3, prothymosin beta 4, brain lipid-binding protein) した。semiquantitative RT-PCR 法でも、検

討した5遺伝子に関して同様の結果であった。

[総括] プロスタグランジン経路、トランスクリプション因子、細胞周期に関わる酵素は、HSV-1の再活性化において、重要な役割を果たしている可能性がある。これらの遺伝子発現が変化した機序として、免疫抑制自体によるもの、再活性化によるウイルス複製によるものが考えられるが、これを判別するためには、ウイルスまたは宿主側遺伝子がいつ変化するのかを調べる必要がある。今回有意に変化した18遺伝子を制御することの可能な薬剤、物質がHSV-1再活性化を抑制することができれば、新しい治療法となりうる。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) 潜伏感染マウス三叉神経節における、免疫抑制時の遺伝子発現変化についてマイクロアレイ法により検討した。

HSV-1再活性化時には、免疫抑制、ストレスなどの誘因により、宿主側の遺伝子発現が変化し、潜伏感染状態であったウイルス遺伝子が発現し、角膜ヘルペスなどの病変が再発する。活性化時の宿主側の重要因子がこれまでに報告されているが、これらは *in vitro*、*ex vivo* のモデルで、また RT-PCR 法、Northern blotting 法、Western blotting 法による検討のため、一実験系につき1から3の因子についての検討のみであった。そこで、本論文ではマウス HSV-1 潜伏感染 *in vivo* モデルで、cyclophosphamide と dexamethasone による免疫抑制時の遺伝子発現変化を、1185 遺伝子を含むアレイ膜 (Clontech Atlas mouse 1.2 array) を使用してマイクロアレイ法により検討した。

本論文では、マウス HSV-1 潜伏感染三叉神経節において免疫抑制により、prostaglandin E2 receptor EP4 subtype、insulin promoter factor 1、glutathione S-transferase mu 2、cyclin D2、peripherin、methyl CpG-binding protein 2、retinal S-antigen、ErbB2 proto-oncogene、guanine nucleotide-binding protein alpha stimulating activity polypeptide などが、統計学的に有意に発現が上昇することを見出した。また、peripheral myelin protein 22、decorin、transcription factor AP-1、mitogen-activated protein kinase 3 などが、有意に減少した。これらの遺伝子の一部は、semiquantitative RT-PCR 法によりマイクロアレイ法の結果を確認し、同様の結果を得た。

また、過去に *in vitro*、*ex vivo* のモデルによる検討で、HSV-1 再活性化時の宿主側の重要因子であると知られている Interferon regulatory factor-1、IFN- $\beta$ 、IL-6、Protein kinase C、Octamer-binding transcription factor 1 は、*in vivo* モデルでも過去の報告同様に発現が上昇した。

本論文では、プロスタグランジン経路、トランスクリプション因子、細胞周期に関わる酵素が、HSV-1の再活性化において、重要な役割を果たしている可能性があると考えている。角膜ヘルペスの再発抑制は、眼科臨床的に非常に重要なテーマであり、そのメカニズム解明、また、薬剤による再発抑制のために、本論文は貴重な知見を得たと考えられる。よって本論文は学位に相当すると考える。