

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

メタボローム解析を用いたウイルス性脳症の
新規バイオマーカー候補の探索

分担研究者 伊藤 嘉規 名古屋大学医学部小児科学・講師

研究要旨 小児期に発症頻度の高いウイルス性脳症における新規バイオマーカーを探索する目的で、ヒトヘルペス6型(HHV-6)脳症9例と熱性けいれん20例、神経学的合併症のない対照例7名において、急性期血清検体中の代謝物プロファイリングをメタボローム解析にて検討した。検出された物質の中で、HHV-6脳症群では、熱性けいれん群と比較して、11種類の代謝物質の平均値に有意な上昇が認められた。これらの中で、トリプトファン-キヌレニン代謝経路の代謝産物であるキヌレニン・キノリン酸は、対照群と比較しても有意な上昇を示し神経毒性が報告されている物質であることから、病態に関与するバイオマーカー候補と考えられた。昨年インフルエンザ脳症を対照に同様の検討を行った結果と比較して、キヌレニン・キノリン酸は2つの脳症に共通の血清中バイオマーカー候補であった。

A. 研究目的

B. 研究方法

1. HHV-6 脳症と診断した患者 9 名、熱性けいれん例 20 名、および神経学的合併症のない急性発熱性疾患患者 7 名(対照群)の急性期血清を採取し、比較検討した(計 36 検体)。
2. CE-TOFMS 装置(キャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析、Agilent Technologies)を用いてカチオンモード、アニオンモードによる測定を行った。
3. 検出されたピークは自動積分ソフトウェアを用いて、ピーク情報を得た後、代謝物質データベースに登録された物質との照合・検索を行った。
4. 主成分分析、階層クラスター分析、代謝経路の描出を行った。
5. 定量系のあるものでは定量値を算出し同様に比較を行った。
6. 解析結果を群間で比較し、バイオマーカー候補の検討を行った。

C. 研究結果

1. 血清 36 検体について、CE-TOFMS によるメタボローム解析を行い、159 ピークに候補物質が付与された。
2. 検出されたピークを用いて主成分分析を行った(Data not shown)。階層クラスターリングを行い、HeatMap 表示させた結果を得た。

3. 候補化合物について、解糖系/糖新生、ペントースリン酸経路、クエン酸回路、尿素回路、プリン代謝経路、ピリミジン代謝経路、ニコチン酸・ニコチンアミド代謝経路および各種アミノ酸代謝経路に描画した。
4. 56 の物質で定量が可能であった。これらのうち、HHV-6 脳症群では、熱性けいれん群と比較して、4 種類の代謝物質の平均値に有意な上昇がみられ、他方、7 種類で有意な低下が認められた(図 1)。
5. 上記の物質のなかで、キヌレニンおよびキノリン酸は、トリプトファン-キヌレニン代謝経路の代謝物質で、神経毒性が報告されており、この代謝経路における解析結果を図 2 に示す。

D. 考察

メタボローム解析の結果を検討したところ、トリプトファン-キヌレニン代謝経路の代謝物であるキヌレニン・キノリン酸が、病態に関係するバイオマーカー候補と考えられた。これらの代謝物は、私共が行ったインフルエンザ脳症を対象にした解析でもバイオマーカー候補として抽出されている。実験的に複数の作用機序による神経毒性も示されている。今後は、臨床的な応用の可能性についてさらに検討を加えていくことが重要と考えられる。

E. 結論

HHV-6 脳症の患者血清を用いた代謝物プロファイリングを行い、脳症群で有意な変動を示した代謝物は、新しいバイオマーカー候補と考えられた。今後、より詳細な解析を行い、その意義を確認する予定である。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Kato T, Nishida T, Ito Y, Murase M, Murata M, Naoe T. Correlations of programmed death 1 expression and serum IL-6 level with exhaustion of cytomegalovirus-specific T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cell Immunol*, 288(1-2):53-59, 2014.
 - 2) Hara S, Kawada J, Kawano Y, Yamashita T, Minagawa H, Okumura N, Ito Y. Hyperferritinemia in Neonatal and Infantile Human Parechovirus-3 Infection in Comparison with Other Infectious Diseases. *J Infect Chemothe*, 20(1):15-9, 2014.
 - 3) Yamashita Y, Ito Y, Isomura H, Takemura N, Okamoto A, Motomura K, Tsujiuchi T, Natsume A, Wakabayashi T, Toyokuni S, Tsurumi T. Lack of presence of the human cytomegalovirus in human glioblastoma. *Modern Pathol*, 27(7):922-9, 2014.
 - 4) Kawano Y, Kawada J, Ito Y. Epstein-Barr Virus MicroRNAs in Plasma as Potential Biomarkers for Chronic Infections. *J Infect Dis* 209:1298-1300, 2014.
 - 5) Kanazawa T, Hiramatsu Y, Iwata S, Siddiquey M, Sato Y, Suzuki M, Ito Y, Goshima F, Murata T, Kimura H. Anti-CCR4 Monoclonal Antibody Mogamulizumab for the Treatment of EBV-Associated T- and NK-Cell Lymphoproliferative Diseases. *Clin Cancer Res*, 20(19); 5075-84, 2014.
- ### 2 . 学会発表
- 1) 伊藤嘉規、単純ヘルペスウイルスによる母子感染、第 117 回日本小児科学会学術集会、名古屋、2014.4.11-13.
 - 2) 伊藤嘉規、河野好彦、鳥居ゆか、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、木村宏、国際標準物質を用いた Epstein-Barr ウイルス・サイトメガロウイルス定量 PCR 系の標準化、第 88 回日本感染症学会学術講演会、福岡、2014.6.18-20.
 - 3) Yoshinori Ito, Yoshihiko Kawano, Yuka Torii, Hajime Sato, Kazunori Sasaki, Tamaki Fujimori, Metabolome analysis reveals involvement of the tryptophan-kynurenine pathway in human herpesvirus 6 encephalopathy, IHW 2014, Kobe, 2014.7.19-23.
 - 4) Michio Suzuki, Tadashi Takeda, Hikaru Nakagawa, Seiko Iwata, Mohammed NA Siddiquey, Fumi Goshima, Yoshinori Ito, Takayuki Murata, Tatsuya Tsurumi, Hiroshi Kimura, Inhibitor B11B021 suppresses cell growth of EBV-associated T and natural killer cell lymphoma, IHW 2014, Kobe, 2014.7.19-23.
 - 5) Jun-ichi Kawada, Michio Suzuki, Yuka Torii, Yoshihiko Kawano, Tomomi Kotani, Fumitaka Kikkawa, Hiroshi Kimura, Yoshinori Ito, IHW 2014, Kobe, 2014.7.19-23.
 - 6) 鈴木道雄、河野好彦、鳥居ゆか、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、川田潤一、木村宏、伊藤嘉規、小児期生体肝移植例に対する移植後ワクチン接種の検討、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014.10.18-19.
 - 7) 河野好彦、川田潤一、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、伊藤嘉規、先天性サイトメガロウイルス感染症におけるバイオマーカーとしての血漿中ウイルス由来・ヒト由来 miRNA の解析、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014.10.18-19
 - 8) 川田潤一、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、木村宏、伊藤嘉規、バルガンシクロビルで治療した先天性サイトメガロウイルス感染症でのウイルス量の検討、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014.10.18-19.
 - 9) 鳥居ゆか、川田潤一、村田貴之、吉山裕規、鈴木道雄、木村宏、伊藤嘉規、EB ウイルスの単球細胞における Inflammasome 活性化の解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014.11.10-12.
 - 10) 鈴木道雄、岩田誠子、Mohammed NA Siddiquey, 佐藤好隆、伊藤嘉規、五島典、村田貴之、木村宏、EBV 関連 T/NK リンパ腫・リンパ増殖性疾患に対するヒト化抗 CCR4 抗体の効果の解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014.11.10-12.

G . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得
特になし

2 . 実用新案登録
特になし

3 . その他
特になし