

## 教室紹介

### 国立成育医療センター研究所母児感染研究部

藤原成悦

〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1

電話 03-3417-2457 FAX 03-3417-2419

e-mail: shige@nch.go.jp

国立成育医療センターは東京23区の西南端近く世田谷区大蔵にあります。東名高速を東京に向かって走ると、終点用賀インターの直前で左手の高台に見えるベージュ色の大きな建物です。都心とは違い周囲に高層ビルは見あたらず、砧公園、大蔵運動公園など緑豊かな公園に隣接して静かで落ち着いた一帯です。国立がんセンター、国立循環器病センター、国立精神・神経センター、国立国際医療センターに続く5番目の国立高度専門医療センターとして平成14年3月に設立されました。世田谷区太子堂にあった国立小児病院と大蔵に以前からあった国立大蔵病院が合併してできたものです。研究所の建物は病院よりやや遅れて平成16年9月に完成し、太子堂の旧研究所から引っ越してきました。残暑の季節に多くの冷凍サンプルを抱えての引っ越しは大変でしたが、レイアウトを自分で考えた新品の研究室で仕事ができるのは大変幸運なことでした。

成育医療という言葉は、まだ余り浸透していないように思われますが、赤ちゃんが生まれて成長・成熟し、自分もまた子供を持ち育てるというヒトのリプロダクションサイクルの全体を対象とする医療という意味です。小児科を中心として、産科、遺伝子診療科、思春期診療科など多くの関連分野が集まっています。病院の建物は子供達の目を楽しませるように工夫され、明るいい色合いを基調としてポップアート風の飾り付けがところどころにあります。建物の周囲には成育庭園という緑地が設けられ、人工の小川や花壇、あずまやなど、子供たちが遊んだり休憩したりする環境作りがされています。研究所には現在10の研究部がありますが、皆それぞれ成育医療と関係する研究分野です。研究所全体としては、ヒトES細胞株の樹立と慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療が主要プロジェクトになっています。また、成育医療に関する政策提言も重要な職務となっています。私たちの研究部は母児感染研究部という名称で、研究所で唯一ウイルスを主な研究対象としている研究部です。現在当研究部のスタッフでウイルス研究に携わっているのは、部長・藤原成悦、室長・中村浩幸、流動研究員・今留謙一、ヒューマンサイエンス流動研究員・矢島美彩子の4人です。この他に帝京科学大学の卒業研究生末廣正和君、東京バイオテクノロジー専門学校からのインターン山田恵理さん、実験補助員石井千尋さん、秘書麻生ゆかりさんが

研究を支えてくれています。総勢8人の小さな研究室です。

私は、北海道大学医学部を1980年に卒業し、同学部癌研究施設の大里外誉郎先生の教室で、大学院生としてEBウイルス(EBV)の研究を始めました。ヒトの癌ウイルスであることに惹かれて研究を始めましたが、次第にがん化のメカニズムに興味が湧いてきました。しかし、遺伝子が100近くもあるEBVでは研究が困難と考え、留学先のアメリカ国立がん研究所ではがん遺伝子の一つetsの研究を5年余り行いました。その後、日本大学医学部微生物学教室(現免疫学・微生物学教室、小野魁先生、高田賢蔵先生)にお世話になり、EBVの研究に復帰しました。日本大学では、組換えウイルスを用いたEBV持続感染T細胞株の作製、EBV蛋白質EBNA2の機能解析などを行いました。現在の成育医療センターには、2003年1月に着任しました。こちらでは、患者さんが常に身近にいますから、EBVその他のヘルペスウイルス感染症を対象として、そのなかで基礎的に面白い研究や患者さんにとって役立つ研究ができればと考えています。中村室長は、大分医大を卒業後長崎大学医学部などで内科医として研修した後、日本大学大学院医学研究科(微生物学教室)でウイルス学と細胞遺伝学を学びました。博士号を得てからハーバード大学付属ニューイングランド霊長類研究所Jae Jung博士のもとに留学し、4年間おもにカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)を研究しました。この間Flp-In/TRExシステムを駆使しKSHV複製のトリガーとなるRta遺伝子機能の解析などで多くの成果を得ました。2003年に当研究部小児感染症研究室長として着任し、現在はEBVによる免疫回避機構についての研究を進め、最近サイトメガロウイルス(CMV)研究にも取り組んでいます。今留流動研究員は、東京医科歯科大学大学院で故平井莞二教授の指導をうけ、EBV感染細胞におけるCD40シグナルの役割解析の研究で博士号を得ました。博士論文は東京医科歯科大学の最優秀博士論文賞を受賞しています。2003年に当研究部に参加し、CD40に関する研究を継続しています。矢島流動研究員は、EBVによる発がんやリンパ球不死化に重要な役割を果たす小分子RNAであるEBERの研究で北海道大学(高田賢蔵先生の研究室)より博士号を授与され、2005年に当研究室に参加しました。現在、東京医科歯科大学難治疾患研究所、国立感染症研究所、当研究部を飛びまわり、ヒトウイルス感染モデルマウスの作製を進めています。

### 研究内容について

研究対象はEBウイルス(EBV)とサイトメガロウイルス(CMV)です。



国立成育医療センター全景



研究室のメンバー

EBVはバーキットリンパ腫から初めて見つかったヘルペスウイルスの一種です。ヒト腫瘍ウイルスの第一号として知られていますが、世界中の大部分の人が成人するまでに感染する極めて普遍的なウイルスでもあります。バーキットリンパ腫以外にも、上咽頭がん、ホジキン病、胃がんなど様々なヒト腫瘍の発症に関わり、さらに伝染性単核症などの急性感染症、日和見感染症など、多様な疾患と関わる極めて興味深いウイルスです。EBV関連疾患の病態を調べてみると、ウイルスが増殖することに起因するものは例外的で、多くの場合、ウイルス感染細胞の増殖や、サイトカイン産生などの生物活性、あるいはEBVに対する免疫応答が病態形成に中心的な役割を果たしています。そこで、EBV感染細胞の増殖や生物活性発現のメカニズムを調べ、それに基づいてEBV関連疾患の治療法を考えるという方向性で研究を進めています。

### 1. EBV感染細胞の生存におけるCD40シグナルの役割

細胞表面分子CD40はB細胞や樹状細胞などの抗原提示細胞に発現され、そのリガンドであるCD40Lは主に活性化T細胞の表面に発現されます。今留流動研究員らが東京医科歯科大学で行った研究により、EBV感染によりB細胞にCD40Lの発現が誘導されること、CD40LからCD40(B細胞には元来発現されている)へのシグナルがアポトーシスを抑制し、EBVによるBリンパ球不死化に重要な役割を果たすことなどが分かりました。そこで、当研究室では、EBV感染T、NK細胞においても同様な機構が働いているかどうかを調べました。すると、慢性活動性EBV感染症や鼻性NK/T細胞リンパ腫由来のEBV感染TおよびNK細胞では、その細胞表面にCD40とCD40Lが両方とも発現されており、両者の相互作用を阻害すると、これらの細胞のアポトーシスが亢進することが分かりました。また、ヒトT細胞株にEBVを感染させるとCD40の発現が誘導されることも分かりました。これらの結果は恐らくEBV感

染の結果としてT/NK細胞がCD40およびCD40Lの両者を発現するようになり、その相互作用によるシグナルがアポトーシスを抑制することを示唆しています。これまでほとんど分かっていなかったT/NK細胞の増殖におけるEBVの役割の一端を明らかにする成果と考えています。また、B細胞のみでなくT/NK細胞においてもCD40シグナルがアポトーシスを抑制することを初めて示す結果です。

### 2. EBVによる免疫回避の分子機構

EBVはヘルペスウイルス科に属し、他のヘルペスウイルスと同様に一度感染すると生涯の潜伏感染になります。この潜伏感染状態は、宿主側からの免疫応答とウイルス側からの免疫回避の微妙なバランスの上に成り立っていると考えられます。CMVでは、このような免疫回避に関わる遺伝子が数多く同定され、その機能もよく調べられていますが、EBVの免疫回避機構に関しては分からないことが比較的多いように思われます。そこで、自然免疫の重要な担い手の一つであるインターフェロン(IFN)の生物活性に対するEBVの影響に注目し、EBVの病原性発現に関与すると思われるEBV遺伝子を培養細胞に導入し、IFNに対して応答性を示すIFN- $\gamma$ -activated sequence (GAS)あるいはIFN-stimulated response element (ISRE)を含むプロモーターの活性化を指標としたルシフェラーゼアッセイを手がかりとして、IFN応答性に対する個々のEBV遺伝子産物の影響を解析しています。

### 3. EBV感染モデルマウスの作製

EBVには使いやすい動物感染モデルがありません。そのためin vivoにおいて発症メカニズムを解析する場合や、新しい治療法を評価する時に支障をきたします。そこで、国立感染症研究所や東京医科歯科大学との共同研究により、EBV感染モデルマウスの作製を進めています。NOD/SCID/IL-2R $\gamma^{-/-}$ マウス(NOGマウス)という免疫不全マウスでは、ヒト臍帯血に含まれる造血幹細胞を移植

するとヒトの血液系・免疫系の細胞がほぼ完全に再構成されます。この中にはEBV感染における主たる標的細胞のB細胞と免疫応答の主役T細胞が含まれますので、この状態のマウスにEBVを感染させるとT細胞の応答を含めてEBVの潜伏感染状態が再現されることが期待されます。このマウスの脾臓や骨髄で分化したヒトB細胞にEBV感受性がありLCLが樹立されることをすでに確かめており、現在in vivoの感染実験を始めたところです。モデルマウスが作製された後は、活性化T細胞輸注療法などのEBV感染症治療法を評価する場として利用する計画です。

#### 4. CMVの研究

CMVはEBVと同じくヘルペスウイルス科に属し、EBV同様成人では大部分の人がすでに潜伏感染状態となっています。ところが、最近になって我が国の妊婦さんのCMV抗体陽性率が急激に低下している、つまり、CMV未感染の妊婦さんが急増しているという報告が相次いでいます。そうすると、妊娠中にCMV初感染を受けて先天性CMV感染症の赤ちゃんが増える恐れがあります。成育医療センターでは毎年1,000人を超える赤ちゃんが生まれます。国立感染症研究所の井上直樹博士らが開発した紙おむつに装着したフィルターに新生児尿を回収し、そこからPCRによりCMVを検出する方法を用いて、当センターの病院でも先

天性CMV感染の新生児マススクリーニングのパイロット研究を始めています。そして、見出された無症候性先天性CMV感染症児をウイルス学・免疫学・臨床的にフォローアップする計画です。また基礎研究として、機能不明のCMV遺伝子の機能解析にも着手しました。

#### 5. その他

CMVと同様にEBVについても初感染が遅延している可能性が高いので、札幌医科大学、高知大学医学部などと共同で血清疫学調査を進めています。また、一昨年風疹の流行が幾つかの地域で認められ、先天性風疹症候群の患者が一過性に増加した際には、緊急提言の策定にも加わりました。

私が着任して3年余りが経ち、スタッフの懸命な努力のおかげでこの研究部で新たに立ち上げたプロジェクトにも成果が出始めています。また、病院の患者さんの診断や治療効果判定に関わっていると、全く予想しなかった結果に驚き、自分の考えの足りなさを痛感することがあります。興味とは別次元の“必要”な研究課題というものも見えてきました。若い研究者にどんどん参加してもらおうと同時に、先輩方のご支援をいただいて研究の成果をあげていきたいと願っております。