

教室紹介

滋賀医科大学病理学講座微生物感染症学部門

後藤 敏

〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町

Tel&Fax:077-548-2176

E-mail:bing@belle.shiga-med.ac.jp

はじめに

琵琶湖と比叡山を望む湖南丘陵地域に新設医科大学として開学した滋賀医科大学も、今年で32年目を迎えました。大学を含むこの一帯は、「びわ湖文化公園都市」と呼ばれています。立命館大学、龍谷大学、県立図書館、県立近代美術館などの教育文化施設が集まり、学問研究するのに相応しい静かで落ち着いた環境をつくっています。本大学の動物生命科学研究センター内には、サルに特化した研究施設があり、P3レベルの感染実験も可能な最新の設備が整っています。霊長類を対象としたこのような施設は、国内でも少なく、本学の大きな特色となっています。私の所属する病理学講座微生物感染症学部門（旧微生物学講座）は、初代がヘルペスウイルスを研究されていた尾崎良克教授、2代目は近交系ウサギの作製とHTLV1などのレトロウイルスの研究をされていた瀬戸昭教授で、そのあとを私が引き継ぐことになりました（2006年4月赴任）。

現在、私達は、ウイルス研究と癌研究の2つを並行して進めています。ウイルス研究は、この8月から加わることになった北川善紀助手と私が担当しています。新しく発見されたパラミクソウイルスであるヒトメタニューモウイルスとニパウイルスを対象とした研究を開始しました。癌研究は、井上寛一助教授と旦部幸博講師が担当しています。癌抑制遺伝子Drsを中心とした研究を活発に行っています。さらに、技術補佐員の喜多ひろこさんが、研究教育の両面で本部門を支え、大きな力になってくれています。

自己紹介とこれまでの研究経過

私は、1985年に名古屋大学医学部を卒業しました。その後1年弱の臨床研修の後、病態制御研究施設分子病態学研究部門永井美之教授（現、理化学研究所感染症研究ネットワーク支援センター長）の指導のもとでウイルス研究を始めました。名古屋での最も重要な仕事は、被膜ウイルスの膜融合蛋白質活性化プロテアーゼの研究です。被膜ウイルスが、自身のゲノムを細胞内に送り込むには、細胞膜とウイルス被膜の膜融合の過程が必須です。膜融合に関わるウイルス蛋白質は、多くの場合、非活性化型前駆体として合成され、宿主プロテアーゼによって切断を受け初めて活性化されます。したがって、宿主プロテアーゼは、ウイルスの



微生物感染症学部門のメンバー

後列左から北川・旦部・喜多，前列左から後藤・井上

感染拡大に欠かせない宿主因子です。しかしながら、当時、そのプロテアーゼの実体は、全く明らかになっていませんでした。ヒトインフルエンザウイルス、センドライウイルス（SeV）（パラインフルエンザ1型ウイルス）等の膜融合蛋白質を活性化するプロテアーゼを発育鶏卵尿液、羊水から単離し、それが異所性発現の活性型血液凝固第十因子であることを突き止めました。この研究に始まる一連の研究は、プロテアーゼ依存性ウイルストロピズムのコンセプトの実証化に大きく貢献しました。

その後、英国オックスフォード大学 Brownlee 博士の指導のもとで、細胞傷害性T細胞に対する抗原提示の機構の研究に従事した後、福井医科大学（現、福井大学医学部）に移りました。プロモータ欠損レトロウイルスによる挿入変異を利用して、インフルエンザウイルスの増殖に関わる宿主因子の網羅的分離を試みました。この研究には、3年間ほど没頭しましたが、残念ながら望むような結果は得られませんでした。一方、当時、私達の研究グループ（小松孝行助手、竹内健司助手、横尾順子技官）は、SeV持続感染細胞をインターフェロン（IFN）処理しても抗ウイルス状態が成立しないという現象に注目していました。紫外線照射してウイルス複製能を喪失させても、このIFN耐性能は比較的よく保存されることから、ゲノム3'端に由来するウイルス因子が関わっていると推定しました。Garcin, Kolakofsky 博士（ジュネーブ大学）からリーダーRNAに変異をもつウイルス、また、加藤、永井博士（東大医科研）からアクセサリ蛋白質ノックアウトウイルスを分与していただき、それらのウイルスのIFN応答阻害能を検討した

結果, アクセサリー蛋白質のひとつであるC蛋白質が抗ウイルス状態の成立を妨げていることを突き止めました(1999年). Didcock, Randall 博士ら(英国)や Garcin, Kolakofsky 博士ら(スイス)も, ほぼ同時期に, アクセサリー蛋白質の抗IFN能を明らかにし, この1999年は, パラミクソウイルスのIFN回避機構研究の出発点となりました. その後は, 本研究テーマを継続して追求しています.

研究の現在と今後

以下に, 当教室で行われているウイルス研究と癌研究について, その内容を紹介したいと思います.

I. ウイルスと宿主免疫応答

ウイルスの抗IFN蛋白質を同定し, そのノックアウトウイルスを作製すれば, 多くの場合, ウイルスは弱毒化するので弱毒生ワクチンの候補となります. また, ウイルスによっては, ノックアウトウイルスが癌細胞を特異的に破壊するため, 癌治療への応用も考えられます. 多くの癌細胞ではIFNシステムに異常があり, 通常の細胞では増えられないノックアウトウイルスでも癌細胞では増殖し細胞を死滅させるためです. さらに, 抗IFN機構の分子レベルでの解明は, 抗IFN蛋白質を標的とした薬剤の開発に役立つ基礎的情報を提供します. 私達は, 以上のような臨床応用上の観点だけでなく, ウイルスの抗IFN機構の進化を明らかにすることは, 宿主IFNシステムの進化を理解する一助になると考えており, 対象ウイルスを広げて研究を進めています.

1) パラインフルエンザウイルス

IFNシステムに対するSeV C蛋白質の機能は, 極めて多彩です. 最初に見つかったJAK-STAT経路の阻害による抗ウイルス蛋白質の誘導抑制以外に, ウイルス感染に应答して細胞が産生するIFN- β を負に制御する能力も見いだされました. さらに, 私達は, 最近, 抗ウイルス蛋白質であるPKRの活性化抑制因子としても機能していることを発見しました. C蛋白質には, 感染細胞が早期にアポトーシスに陥らないようにする機能もあります. 一方, もう一つのアクセサリー蛋白質であるV蛋白質には, MDA5に結合してIFN- β 産生を抑制する機能があります. これらの活性は, ウイルスが生体内で効率よく増殖できる状況を作り出していると考えられ, その分子機構についての解明を進めるとともに, 新たな宿主防御機構対抗機能の発見に努めています.

2) 新しく発見されたパラミクソウイルス

① ニパウイルス

1998年から1999年にかけてマレーシアで極めて致死率の高い(40~75%)脳炎が発生し, その原因ウイルスとして, ニパウイルス(NiV)が分離されました. 本ウイルスの致死性には, 宿主防御機構からの回避機構が強く関わっていると推測されます. NiVのV蛋白質には, すでにJAK-

STAT経路の阻害能やIFN- β 誘導抑制能が存在することが明らかにされています. その一方, C蛋白質の働きはほとんどわかっておらず, その機能の解明を目指して研究を開始しました.

② ヒトメタニューモウイルス

ヒトを宿主とする呼吸器ウイルスとしてヒトメタニューモウイルス(hMPV)が2001年に同定されました. ニューモウイルス亜科に属するhMPVは, 近縁のヒトRSウイルスに見られるNS1, NS2遺伝子(抗IFN蛋白質をコード)を持たず, VやC蛋白質も産生しません. したがって, hMPVの抗IFN蛋白質は, パラミクソウイルスの中では, 独特な蛋白質であることが予想されます. 現在, その同定と機能の解明を進めています. 将来, 抗IFN蛋白質ノックアウトウイルスを作製し, ワクチンとしての可能性も検討していきたいと考えています.

3) IFN産生誘導シグナル分子MDA5, RIG-Iの認識するウイルス因子

ウイルス複製から生じる二重鎖RNAを認識する宿主分子として, 近年, IFN- β 誘導に関わるMDA5やRIG-Iが同定されました. しかしながら, マイナス鎖RNAウイルスでは感染細胞内に二重鎖RNAが検出できないという報告(J. Virol. 80, 5059-5064, 2006)もあり, 実際には, どのようなウイルス因子が認識されているのかはなぞです. 宿主免疫応答の開始ステップとして重要なこの問題に取り組み始めました.

II. 腫瘍ウイルスによる発癌の分子機構

主要な研究テーマは癌の発生に関わっている腫瘍ウイルスによる発癌の分子機構を明らかにすることです. これまでに, ラウス肉腫ウイルスのv-src遺伝子や実際にヒト癌の発生に関わっているヒトパピローマウイルスやヒトT細胞白血病ウイルスの癌遺伝子(E6E7やTax)の機能と細胞側標的分子の解析を行ってきましたが, これらの研究の過程で, 実際のヒトのウイルス発癌ではウイルス癌遺伝子の発現は癌進行の初期には必要であるが, 悪性癌になるにはそれに加えて細胞側遺伝子の変化が必要であることがわかってきました. そこで, 私達はウイルス癌遺伝子の機能解析に加えて, ウイルス遺伝子によって制御される細胞側遺伝子や, ウイルス癌遺伝子による癌化に対する抑制遺伝子を分離し, その機能解析からウイルス発癌の全体像を明らかにしようと試みてきました. これまでにDrs, Periostin, Lumicanなど複数の新規抑制遺伝子を分離することに成功し, その機能解析を進めてきましたが, その中でも特に集中して研究をすすめてきたのはDrs遺伝子です. Drsはv-src遺伝子による癌化を抑制する遺伝子として分離し, v-srcなどレトロウイルス癌遺伝子によってそのmRNA発現が抑制されることがわかっていたことがわかっていたが, 最近, HTLV-1のTax, 活性化H-ras, 活性化 β -カテニンなどの遺伝子が

Drs mRNA の発現を抑制することがわかり、ウイルス発癌を含むヒト癌発生にも重要な役割を果たしていることがわかってきました。臨床や病理の先生方との共同研究によって、実際に、大腸腺癌、肺腺癌、前立腺癌、膀胱癌、子宮癌そして ATL リンパ腫など様々なヒト癌組織や癌細胞株において高頻度で Drs mRNA の発現抑制が起こっていることも見出しました。Drs の癌化抑制機構として、私達は Drs が小胞体においてアポトーシス誘導因子 ASY/NogoB と結合し、caspase-12, -9, -3 を活性化する新規の経路でヒト癌細胞株に対してアポトーシスを誘導することも明らかにしました。また、私達が滋賀医大において作製に成功した Drs ノックアウトマウスではその約 30% に T 細胞リンパ腫、肺腺癌、肝癌などの悪性腫瘍が発生することから、確かに Drs が癌発生において癌抑制遺伝子として働くこともわかってきました。また、Drs 遺伝子を様々な癌細胞に導入し高発現させるとアポトーシスが亢進し腫瘍形成を抑制できることも見出しており、レトロウイルスやレンチウイルスベクターによる遺伝子導入システムを使って遺伝子治療などにも応用可能であると考えています。今後、ウイルス遺伝子による Drs の発現抑制機構、および Drs によるアポトーシス誘導と癌化抑制の分子機構を解明してゆくとともに、Drs が癌だけでなく免疫や感染防御など他の様々な生体防御機構にも関わっている可能性も

KO マウスを使って追求してゆきたいと考えています。

また、最近私達は Drs がストレス応答に関わる GADD34 と結合することを見出したことから、ウイルス感染によって発現誘導される GADD34 遺伝子によるウイルス増殖抑制機構についても解析を行なっています。GADD34 は DNA 傷害や、栄養飢餓、小胞体ストレスなどによって誘導され、細胞増殖抑制やアポトーシス誘導に関わると考えられてきましたが、この遺伝子はまた、ウイルス感染時に PKR によってリン酸化される eIF2 α によって誘導されることも報告されています。私達は GADD34 欠損マウス胎児繊維芽細胞 (MEF) を用いてウイルス感染におけるこの遺伝子の役割を解析していくなかで、GADD34 から蛋白合成を制御する mTOR 経路を介してウイルス増殖を抑制する経路が存在することを見出しており、この新しいウイルス感染防御経路の分子機構の解明にも取り組んでいます。

(II の文責：井上寛一)

おわりに

ウイルス研究も癌研究も分子レベルで追求すれば、その手法はほぼ共通しています。現在、当教室では、大学院生を募集しています。研究に興味をもたれた方は、ぜひ御連絡ください。丁寧な研究指導を心がけています。