

## 教室紹介

熊本大学大学院医学薬学研究所  
感染症阻止学寄附講座

小原 恭子

〒 860-8556 熊本県熊本市本荘 1-1-1

TEL: 096-373-5560

FAX: 096-373-5562

E-mail: kkohara@kumamoto-u.ac.jp

### はじめに

当研究室は平成 17 年度（財）化学及血清療法研究所（化血研）の寄附講座として熊本大学大学院医学薬学研究所に設立されました。化血研は製薬・ワクチンメーカーとして知られておりますが、元を正せば熊本医科大学（現熊本大学医学部）の太田原豊一博士により昭和 20 年に設立された実験医学研究所を母体として始まっており、今で言うところのベンチャー企業先駆けの様な側面も持ちます。この様に化血研と熊本大学は伝統的に深いゆかりがありますが、寄附講座を設立する事により両者の連携を強化し、教育研究の豊富化・活発化を図る事を目指しております。さらには、感染症阻止を目指した研究を進展させ、人材を育成する使命も負っています。

当研究室では、血液媒介性の RNA ウイルスであり国民に重大な健康被害を及ぼす恐れが大きくその早急な対策が望まれている C 型肝炎ウイルスの制御を目的に研究を進めております。

### [C 型肝炎ウイルスの病原性解析]

肝炎の原因ウイルスは、1970 年代までに A 型および B 型肝炎ウイルスが発見されましたが、同時にこれらのウイルスでは引き起こされない血液媒介性の肝炎、いわゆる非 A 非 B 型肝炎の存在が明らかとなりました。非 A 非 B 型肝炎の病原体の分離には困難を極めましたが、唯一の動物実験系であるチンパンジーを用いた感染実験でフラビウイルスに近縁の RNA ウイルスである事が予測され、1989 年に米国カイロン社のホートン博士らが遺伝子クローニングに成功して C 型肝炎ウイルス（HCV）ゲノムの構造と塩基配列が同定されました。この遺伝子産物を抗原として世界中の患者血液が調べられた結果、現在全世界では約 1 億 2 千万人の抗体陽性者がいると推定されています。我が国でも抗体陽性者は 200 万人以上いると推定されておりますが、さらに問題となっているのは HCV が容易に持続感染を成立しやすく、肝硬変、肝癌へと進展する点で、日本の肝癌患者さんの多くは HCV 抗体陽性である事です。

HCV は RNA ウイルスであり細胞質で主に複製増殖する



と同時に、典型的な癌遺伝子は持たず宿主細胞の DNA に組み込まれる事もないと考えられています。さらに、ウイルス蛋白質はウイルスゲノムの 5'側に存在する非翻訳領域 (5'UTR) の内部をリボソームが認識して翻訳が開始される、いわゆるインターナルリニシエーションと呼ばれるユニークな翻訳開始機構を持つ事が明らかとなっております（筆者が、野本明男先生が主宰されていた（財）東京都臨床医学総合研究所の研究室に在籍していた 1992 年に報告しました）。このような HCV がいかに細胞を癌化するかを解析するためには感染系が必要で、2005 年に脇田隆字博士らのグループにより JFH-1 株で成功したものの、現在までのところ肝癌細胞以外には確立されておらず腫瘍原性解析は困難な状況です。これに対して我々は、HCV 全長遺伝子を Cre/loxP スwitching 発現システムを用いて任意の時期に発現できるユニットを構築し腫瘍原性解析を可能にしております。本ユニットで HCV 蛋白質をスイッチング発現しますと持続的に発現が維持されるので慢性感染時の肝細胞におけるウイルス産物の作用のモデル解析が可能になります。継代 44 日以降には細胞の腫瘍原性が亢進し、標的経路の 1 つは cdk-Rb-E2F 経路である事を明らかにしました。

さらに、この HCV 発現継代細胞に対する単クローン抗体を樹立し、HCV の新たな標的経路を解明しています。これら抗体の認識分子のうち 1 つは HCV 陽性の肝癌患者組織で高頻度に発現亢進する事を見いだしており、MALDI-TOF-MS 解析で 3-beta-hydroxysterol delta-24-reductase (DHCR24) と同定しています。HCV は、DHCR24 の発現を亢進しこれによって p53 の翻訳後修飾が変化し活性が抑制される事が明らかとなりました。p53 は癌抑制遺伝子として重要な分子であり、HCV が DHCR24 の発現亢進を通

じて肝細胞の酸化ストレス誘導性アポトーシス耐性の獲得や前癌状態への移行を促進している可能性が考えられます。そこで現在研究室では HCV が DHCR24 を発現誘導する分子機序と p53 活性を抑制する詳細なメカニズムを解明しようと日夜取り組んでおります。

### [HCV 制御法の確立]

HCV 感染を排除あるいは予防するための薬剤やワクチン、診断システム開発を目指した基礎研究も行っています。HCV が慢性感染している患者さんの体内からウイルスを選択的に排除する試みとして特異性の高い抗ウイルス作用を持つ抗体を樹立し、さらには抗体作用を担う低分子化合物を得る事を目的に HCV レプリコン細胞や持続感染細胞を用いてスクリーニングしております。HCV は変異し易いため薬やワクチン開発が難しい事が知られていますが、宿主因子を標的にする事によりこの問題を解決したいと考えています。また、宿主因子を標的にした場合の問題点は細胞毒性が出やすい事ですが、多数の抗体を作成する事により様々な宿主因子に特異的にアプローチし、毒性の少なく HCV 複製抑制活性が高い標的を見つける事を目指しています。この研究は高親和性抗体樹立系を開発している熊本大学の免疫学分野（阪口薫雄教授）や東京都医学研究機構（小原道法博士）との共同研究としても行っております。さらにはワクチン開発の基礎検討を行うため、組み換え麻疹ウイルスベクターを用いたヒトでの免疫誘導能の解析を NOD-SCID マウスシステムを用いて確立を目指しております（東大医科研 甲斐知恵子教授・熊本大学 予防開発分野 岡田誠治教授との共同研究）。

HCV 感染症は全世界でも抗体陽性者が 1 億 7 千万人に上るとされます。特にエジプトにおける抗体陽性率は高く 15% に上るとの報告 (2007 年) があります。これは、ナイル川の治水を目的としたアスワン・ハイ・ダムの設置の結果住血吸虫の中間宿主となる貝類 (*Biomphalaria alexandria*, *Buini truncates*) が増殖し住血吸虫症が急増した際に投与された酒石酸アンチモンカリウム接種用注射器の使い回しにより、感染が拡大したためとされています。また、熊本大学はエジプト・スエズ運河大学と大学間協定を締結しており本研究室でもこの交流の一環として共同研究を開始しています。現在中心に行っているのは El-Gohary 教授（前スエズ運河大学副学長、現ファユム大学学長）との HCV 病態診断法の確立に関する研究で、肝癌で発現してくる抗原を見だし、これを用いた ELISA 診断系の確立を目指しております。最近スエズ運河大学からの留学生も参加され、本診断系の確立やエジプトで感染の多い IV 型 HCV の感染性クローン確立を行っていく予定です。

### [HCV モデル動物の樹立]

HCV の病原性解析と治療法確立のための基礎研究には実験モデル動物が有効です。しかしながら HCV が感染する動物はチンパンジーかヒト肝臓キメラマウスに限られているのが現状です。HCV は主に肝臓細胞に感染し病原性を発揮しますが、肝臓以外にも障害を起こす、いわゆる肝外病変（クリオグロブリン血症、膜性増殖性糸球体腎炎、シェーグレン症候群、悪性 B リンパ腫他）も多いという事はあまり知られておりません（40～70% の HCV 感染例に併発するという報告もあります）。また、肝外病変では肝癌と同様老化も重要な発病要因と考えられています。チンパンジーなどで加齢要因を考慮した研究を行うのは事実上不可能であり、寿命が 2 年程度のマウスを使ったモデル実験系が有効と考えられます。当研究室では HCV による B リンパ腫発生機序に関して、HCV トランスジェニックマウスを用いて解析しています。また、HCV トランスジェニックマウスは Cre/loxP システムを用いて小原道法博士らにより樹立され、Cre 酵素の導入によって任意の時期に外来遺伝子を発現できます。我々は、IRF-1 遺伝子を欠損させ、HCV 遺伝子を持続発現させたマウスや B 細胞マーカーである CD19 遺伝子座に Cre 酵素を導入したマウスと交配させてモデルマウスの樹立を試みています。その結果現在までに、マウスでのリンパ腫の発生にサイトカインの産生異常が関与している可能性を見いだしています。今後さらに HCV によるリンパ腫発生機序の解析を進展させる予定です。

### [おわりに]

HCV はフラビウイルス科の RNA ウイルスで細胞質で主に複製し癌遺伝子も持っていません。それにも関わらず高率に持続感染を成立させ肝癌やリンパ腫発症にも深く関連しています。恐らく HCV が宿主と巧みに関わり合いながら持続感染し、その間にこれらの病原性が発揮されてくるのではないかと考えられます。従って HCV 研究から新たな生命現象が次々に見つかることも想定に入れながら私たちは研究に取り組んでいます。また、エジプトの様に非常に HCV 抗体陽性率が高い地域も世界にはまだ数多くあるため、私たちの研究の中から少しでもこれらの地域での HCV 感染の征圧に貢献できればと考えて共同研究を進めております。HCV や私たちの研究に興味のある方はお気軽にお尋ね下さい。また、下記のホームページも参照していただけますと幸いです。

(HP: <http://srv02.medic.kumamoto-u.ac.jp/dept/centlab/ExpPhy/index.html>)