

教室紹介

広島大学大学院医歯薬学総合研究科ウイルス学 坂口剛正

〒734-8551 広島市南区霞 1-2-3

Tel: 082-257-5157, Fax: 082-257-5159

E-mail: tsaka@hiroshima-u.ac.jp

Home page: <http://home.hiroshima-u.ac.jp/isaikin/>

はじめに

広島大学は、1982年～1995年にかけて東広島キャンパスに移転しましたが、医学部などは市内の霞キャンパスに残りました。霞キャンパスは、広島市中心部がある太田川三角州の西の角あたりにあり、その中には大学病院・医学部・歯学部・薬学部などがあります。当ウイルス学研究室は、その中の基礎医学研究棟に位置します。

研究室の前身は、戦後まもなくできた広島大学医学部の細菌学教室であり、占部薫教授（初代）、松尾吉恭教授（二代）が主宰され、主として抗酸菌を研究されていました。昭和61年に名古屋大学から吉田哲也教授（三代）が赴任され、パラミクソウイルスを主な対象としてウイルス学の研究が始まりました。その後、大学院重点化によって改組され、大学院医歯薬学総合研究科創生医科学専攻探索医科学講座という長い名前の組織に位置づけられました。吉田先生の退任後、今年4月から坂口が教授を拝命しました。

私のことを書かせていただきます。大学卒業後に、名古屋大学大学院医学系研究科の永井美之先生の研究室に入り、当時のトレンドであったウイルス遺伝子（ニューカッスル病ウイルス）の塩基配列決定を行いました。目的としていた遺伝子について一番乗りは出来ませんでした。病原性の異なる10株あまりの配列を決めて分子進化系統樹を描きました。広島大学に移ってから、エンベロープウイルスの膜融合蛋白質前駆体を開裂活性化する細胞プロテアーゼを細胞分画によって探す研究を行いました。これは、エンベロープウイルスのトロピズムと病原性が膜融合蛋白質の前駆体の開裂性で決まるという、プロテアーゼ依存性トロピズムの概念にもとづいた実験でした。

その後、米国シカゴ近郊のノースウェスタン大学 Robert A. Lamb 先生の元でインフルエンザウイルス M2 イオンチャンネルを研究しました。帰国後は、ちょうど加藤篤、永井美之（当時東大医科研）らによって確立されたばかりの「センダイウイルスの cDNA からウイルス作製系」を用いて、特定の変異を入れたウイルスを人工的に作製して表



研究室のメンバー

現型を調べるという逆行遺伝学（reverse genetics）の手法を用いて研究を開始しました。ウイルスを作製して、培養細胞あるいは動物個体で増殖と病原性を検討するという、分子レベルから個体レベルまでのウイルス学が可能になりました。このようにしてパラミクソウイルスのアクセサリ―蛋白質の機能、強毒新鮮分離株の病原性発現に重要な変異の同定などの研究を行ってきました。

このような経緯で、留学を含めて20年あまり広島大学におりまして、一カ所に長くいるものだと思います。猫なら化けているでしょう。勝手がある程度わかっていますので、新たに研究室を立ち上げるような苦労はほとんどないという利点がありますが、一方でマンネリに陥ってしまうという危険があります。そうならないよう、この就任をきっかけにいろいろな点を変えたいと考えています。

研究室

現在の研究室の体制は、清谷克寛講師、入江崇助教と私の3名のスタッフに、博士課程2名、医学修士課程4名の計6名の大学院生です（休学の学生を除く）。院生のうち5名（博士課程2名、医学修士課程3名）は、この4月から入りましましたので、今ちょうど新研究室がスタートしたばかりという感じです。

設備ですが、数年前の研究棟の耐震改修の際に、基礎医学研究棟6階に当ウイルス学研究室と細菌学研究室（元歯学部細菌学教室、菅井基行教授）を配置して、ここを感染症研究のフロアとして、共通のP3実験室を設けていただ

きました。また、実験室は居室を除いてほとんどをP2の実験室にして、下限数量以下の放射性同位元素も扱えるようにしました。さらに別棟の動物実験施設に、P3レベルの動物感染実験ができる「感染区」があり、ここで遺伝子組換えセンダイウイルスのマウスへの感染実験を行うことができます。大きな機械（DNAシーケンサーなど）は共同実験施設が頼りですが、関係者の努力で使いやすい施設になっており、助かっています。

教育と研究

教育では、医学部微生物学（細菌学、ウイルス学）の講義と実習が主な使命です。隣の細菌学講座と連携を深めて、医学部生・歯学部生・歯科衛生士に対する微生物教育において、お互いの専門を相乗りして講義することを、今年度から部分的に始めております。これに加えて、大学院の講義（感染症やウイルスベクターなどの応用について話します）、教養部（総合科学部）の講義も行っています。大学院の演習・実習は研究と重なりますので、以下に当研究室の主な研究テーマについて記します。

(1) エンベロープウイルス粒子形成

エンベロープウイルスの粒子形成と出芽には、マトリックス蛋白質などのウイルス蛋白質と宿主の機能が関与します。ウイルス蛋白質の作用に関しては、センダイウイルスで、いくつかの構造蛋白質を組み合わせて通常のウイルスに近い性質をもつウイルス様粒子ができることがわかり、蛋白質発現でウイルス出芽を再現する系を確立することができました。これで個別のウイルス蛋白質の出芽に対する影響を調べました。宿主因子に関しては、レトロウイルスなどで明らかになったLドメインとESCRT（小胞体膜輸送系）の関連について、これらが他のエンベロープウイルスの出芽に当てはまるか。また、ESCRT以外の他の宿主機能はどういうものがあるかということの研究をしています。

この研究テーマに関連して、当研究室の入江崇助教が「エンベロープウイルスの粒子形成・出芽機構の解析」というタイトルで今年度の杉浦奨励賞を受賞しました。入江さんは水疱性口内炎ウイルス・ヒト免疫不全ウイルス・エボラウイルスのLドメインの解析を行ってきましたが、さらにセンダイウイルスのM蛋白質に、出芽のために重要なモチーフ配列を同定し、これを介してM蛋白質が宿主因子Alixと相互作用していることを示しました。一方で、一見して出芽に無関係と思われるアクセサリーC蛋白質が、M蛋白質とは別にAlixを膜にリクルートしてウイルス粒子出芽を促進することを示して、エンベロープウイルス出芽の新しい分子機構を明らかにしました。

(2) アクセサリー蛋白質

パラミクソウイルスのアクセサリー蛋白質であるV、Cと呼ばれる蛋白質は、それ自体は増殖に必須ではありませんが、これがあることでウイルス増殖の効率を上げ、病原性を増強します。それぞれウイルスRNAポリメラーゼのサブユニットをコードするP遺伝子から、転写時のRNA編集によって部分的に異なるフレームで(V)、あるいは、重複する異なるフレームから合成されます(C)。重要な機能として、インターフェロンのシグナル伝達を阻害することが知られており、麻疹ウイルスなどの多くのパラミクソウイルスではV蛋白質（あるいはアミノ酸配列を共有するP蛋白質）がこの役割を果たしていますが、センダイウイルスなどでは、C蛋白質がそれを行っています。C蛋白質は、他にも自然免疫系を阻害することが示唆されていて、インターフェロン β の誘導阻害をおこしたり、感染細胞のアポトーシス誘導阻害を起こすことが知られています。また、前述のようにC蛋白質はウイルス出芽にも関係しており、さらにC蛋白質がRNA合成を調節して子孫ウイルスがRNAゲノムのマイナス鎖をもつことに重要な働きをしていることを、最近示しました。まさに「ネガティブ・ストランド・ウイルス」が陰性鎖をゲノムにもつ機構を示した訳です。この多機能なアクセサリー蛋白質の性質をウイルスレベルでさらに解析するために、C蛋白質のいろいろな点変異を導入した一群の組換えセンダイウイルスを作製して、その表現型を解析してまとめつつあります。

一方、センダイウイルスV蛋白質ノックアウトウイルスはマウス肺から早期に排除され、何らかの自然免疫を阻害する働きがあると考えられます。このV蛋白質が阻害する自然免疫は、IRF-3によって活性化されるもののインターフェロンではないことまでわかっていますが、正体は不明です。自然免疫系のいろいろな分子のノックアウトマウスで感染実験を行うなどして、この自然免疫の探求を行っています。

以上のような研究において、呼吸器感染症のモデルとしてのセンダイウイルスを主に使ってきましたが、今後はヘニパウイルス、メタニューモウイルスといった他のパラミクソウイルス、インフルエンザウイルスにも研究の対象を広げる予定です。そして、今後はウイルスの病原性という高次の概念を分子・細胞・個体のレベルから解きほぐすということを基本的な研究方針として、これらの病原ウイルスについて、ウイルス増殖と病原性発現、さらに関連する宿主因子の研究を行いたいと考えています。

(3) ウイルス不活化剤

複数の企業と共同で抗ウイルス剤（ウイルス消毒剤）の研究を行っています。社会貢献の意味合いが強い研究です

が、各方面からいろいろなウイルスを分与していただいて（その節はお世話になりました）、結果を出しつつあり、一部のものに関して特許を出願中です。

おわりに

大学院生はいろいろなバックグラウンドをもって入ってきますので、中にはピペットをあまり持ったことがない人もいます。現在は、修士の学生と一緒に実験しながら、実験を教えています。数ヶ月後には技術的には独立して実験してくれるように、さらに与えられたテーマについて自分で実験を考えて研究できるように育ててほしいと思います。そのための研究室の雰囲気作り、抄読会、データ検討会などを行っています。彼等にとっては質の高い修士論文、博士論文を書くことが目標です。研究室としては、数年後に各方面で論文を出すことを目標に掲げたいと思います。今後とも皆様のご指導ご鞭撻を賜りたくお願い申し上げます。（大学院に興味ある方は遠慮なく連絡して下さい。）