

教室紹介

大阪大学微生物病研究所・附属感染症国際研究センター

高病原性感染症研究部門・ウイルス研究グループ
中屋 隆明

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1

Tel : 06-6879-4251

Fax : 06-6879-4252

E-mail : tnakaya@biken.osaka-u.ac.jp

Home page : <http://www.biken.osaka-u.ac.jp/>

はじめに

私が所属している大阪大学・微生物病研究所（阪大・微研）附属感染症国際研究センターは、平成17年に阪大・微研と東大・医科研双方に共同で設置された感染症の研究拠点の1つであり、同研究拠点についてはこれまでに、この「教室紹介」コーナーにおいても東京大学・医科学研究所（東大・医科研）の俣野哲郎教授、川口寧准教授が触れられています。大阪府北部、千里丘陵（万博公園の近く）に位置する阪大・微研内に創設された当センターは、発足当初5グループでしたが本年度より新たに1グループが加わり、堀井俊宏センター長のもと、臨床感染症学、感染細胞生物学（細菌毒素学）、ゲノム病原細菌学、マラリア学、感染症学・免疫学融合研究グループ、そして私達のウイルス研究グループの計6グループで構成されています。当センターでウイルスを研究するのは現在のところ我々だけですが、微研には生田和良教授、松浦善治教授、塩田達雄教授の研究室があり、微研内では種々のウイルスに関する研究が活発に行われています。さらに、センターの発足とともに微研内のBSL3施設も3年をかけて改装され、より充実したウイルス研究環境が整いました。また、タイには「新興・再興感染症研究拠点形成プログラム」の阪大研究拠点であるタイ感染症国際研究センターが我々のセンターと同時期に発足しました。同センターには私の大学院の同期である亀岡正典准教授らが常駐し、タイNIH内に最先端の設備を持つ研究室を設置し、タイの研究グループとの連携のもと同地域ならではのウイルス研究を行っています。このような恵まれた環境において、私達はウイルスの病原性の分子機構に迫り、その知見をウイルス診断や治療法に活かすことを目標として日々研究を続けています。さらに上述した国内外の研究拠点と連携し、新たな技術的アプローチによる生体内のウイルス叢（Virome）の網羅的な解析に関する研究を行っています。

これまでの研究の流れ



今年の微研建物屋上で行われたセンター主催・お花見パーティーでの写真。

前列向かって左から、楊，中屋，大道寺
後列左から，吉岡，上田，アナリワ，柳本

私は北海道大学・農学部において四方英四郎・上田一郎両教授のもとで植物病理学（ウイルス学）を学んだ後、平成4年より北海道大学・免疫科学研究所（生田和良教授・現大阪大学）において大学院生としてヒト免疫不全ウイルス（HIV）の持続感染機構の研究を行いました。同研究室において助手として採用された後は、上記の研究と並行して、新たにボルナ病ウイルスの疫学調査を開始しました。その後平成10年より米国NY市マンハッタン北部のマウントサイナイ医科大学（Peter Palese教授）においてポストドクとしてマイナス鎖RNAウイルスであるインフルエンザウイルスおよびニューカッスル病ウイルス（NDV）の組換えウイルスの作出系（リバースジェネティクス）の開発およびワクチンベクターとしての応用に関する研究を行いました。平成14年に帰国し、京都府立医科大学・医学部（今西二郎教授）において助手、学内講師を経た後、平成17年に大阪大学・微生物病研究所に特任准教授（Principal Investigator）として赴任し、現在に至っています。

こうして振り返ってみると、学生時代よりずっと病原ウイルス、特にRNAウイルスを研究テーマとしてきたこととなります。私が大学に入学した80年代から、ウイルス学研究においても分子生物学的なアプローチが盛んになり、ウイルスゲノムを精製してから後のアプローチは植物ウイルスと動物ウイルスで共通することが多くあったことを記憶しています。その一方で博士課程に入学後、P3室においていきなりHIV研究を行うにはかなりの覚悟が必要であったことも間違いなく、生田先生のご指導のもとに、非感染

性のウイルスを扱う実験から始めて徐々にステップアップし、数カ月かけて感染試験が行えるようになったことは貴重な経験であり、現在、学生や院生を指導する上でも大変参考になっています。また、助手になって以降はウイルスの疫学研究にも参加する機会を得ました。ニューヨークに留学した直後にウェストナイルウイルスの発生があり（ついでに911テロと炭疽菌の事件にも遭遇しました）、都市型の感染症アウトブレイクを体験しました。京都府立医科大学に移った後は府内で発生した高病原性鳥インフルエンザウイルスの疫学調査に参加させていただき、これらの経験が今の私の研究に役立っていると思います。

研究内容

現在、当研究室では特任研究員（ポスドク）1名、博士課程大学院生2名、研究補助員1名の研究体制のもと、高病原性鳥インフルエンザ H5N1 ウイルス（H5N1-Flu）の病原性を解析し、有効な診断・治療法の開発を目指すとともに、次世代シーケンサーを用いたヒト臨床検体からの網羅的なウイルスゲノムの迅速同定システムを開発し、新規（未知）ウイルスによる感染症の発生やアウトブレイクに対応するために以下の研究を行っています。それぞれのテーマについて最新の成果をスタッフ紹介と併せて報告いたします。

◆ 高病原性鳥インフルエンザウイルス病原性の機構解明

H5N1-Flu の感染・増殖と細胞傷害性との関係については今なお不明な点が多く残されています。特任研究員の大道寺智君を中心に、大量かつ組織毎の細胞調製が可能な、ブタ呼吸器上皮由来の初代細胞による感染実験系を確立しました。そのシステムを用いて、高病原性株 H5N1-Flu の感染試験を行い、H5N1-Flu による細胞傷害性はカスパーゼ（3, 8, 9）依存的なアポトーシス誘導が主たるカスケードであることを見出しました。さらに、ヒト呼吸器由来の初代細胞でも上記と同様な結果が確認され、同システムがヒトにおける H5N1 ウイルス（呼吸器）感染の病原性を反映する可能性を示唆することができました。また、細胞死誘導のウイルス側要因として外被糖タンパク質であるヘマグルチニン（HA）が重要な働きをしていることを明らかにしました（Daidoji T. et al. JVI, 2008）。

現在、上記の細胞傷害に関与する HA タンパク質のアミノ酸の同定を試みるとともに、動物実験も含め、HA による細胞傷害機構の解明に向けた研究を行っています。また、昨年度より日本学術振興会の特別研究員に採用された上田真世さんはアヒル由来の初代細胞を用いて様々な H5-Flu の感染試験を行い、H5N1-Flu の細胞傷害性の宿主側要因について検討しています。これまでに行った Flu のメンブレントラフィックの知見をもとに（Ueda M. et al. Virus Res. 2008）研究を進めており、インフルエンザ感染に伴う細胞

内のオルガネラ間の相互作用の変化について興味深い知見が集積されています。

◆ H5N1-Flu 迅速診断キットの開発

今年学位を取得したドウ アナリワさんや大道寺君を中心に H5N1-Flu に対するマウスモノクローナル抗体（MAb）を作製し、企業との共同研究により、これらの中の抗 HA-MAb を用いて、アジア由来 H5N1-Flu を 10 分程度で特異的に検出できる迅速診断キット（イムノクロマト）を開発しました。エピトープ解析から、このキットで使用されている抗 HA 抗体は現在流行しているアジア由来 H5N1-Flu のほぼ全て（97%）を特異的に検出すること（Du Anariwa et al. BBRC 2009）が示唆されています。

◆ ニューカッスル病ウイルスを基盤としたウイルスベクター開発

留学時に開発した NDV リバースジェネティックスシステムを用いて外来遺伝子の導入あるいは変異導入による組換えウイルスの複製・増殖能の調節を行い、ワクチン開発など種々の目的に応じたウイルスベクターを作製しています。本研究に関しては、酪農学園大学の萩原克郎先生や動物衛生研究所の西藤岳彦先生と共同研究も行っています。

◆ 次世代シーケンサーを用いた病原ウイルス迅速同定システムの開発

私達は 10 時間以内に 80 万クローン（クローンあたり平均 300-400 塩基配列）が解読でき、1 回の解析で 100Mb から数 Gb の塩基配列データを得られる次世代シーケンサーを用い、種々の病原ウイルスに対して、迅速かつ網羅的にウイルスゲノムを同定することを目標とした「ハイスループットな塩基配列決定による（新規）病原体の同定システム：Robotics-assisted pathogen identification (RAPID) system」の確立を目指しています。これは理化学研究所・感染症研究ネットワーク支援センターの永井美之先生、岡本仁子先生、同・オミックス基盤研究領域の林崎良英先生らと連携した共同プロジェクト研究であり、当センターの堀井センター長を中心に細菌学（飯田哲也先生）、バイオインフォマティクス（中村昇太先生）、および我々ウイルス学の各領域の専門家が微研内にプロジェクトチームを作り、上記の目標に向かって一致団結してその基盤作りを進めています。当研究室からは前述した上田さんや大学院生の楊成松君が参加しています。

これまでに大阪府立公衆衛生研究所の高橋和郎先生、左近直美先生、国立感染症研究所の水谷哲也先生らのご協力を得て、種々のヒト臨床検体から病原微生物ゲノムの検出に成功し、得られた結果について報告してきました（Nakamura, et al. EID, 2008, Nakamura, Yang et al. PLoS ONE, 2009）。今後は「新興・再興感染症研究拠点形成プ

ログラム」を中心とした各海外拠点とも連携し、国内外において従来の診断方法では原因が特定できない感染症の原因解明に寄与したいと考えています（紙面の関係上お名前を挙げられなかった同プロジェクト参加の先生方申し訳ありません）。

また、当研究室では上述した RAPID プロジェクトと連動して呼吸器疾患、消化器疾患や神経疾患等の各種疾患患者と健常者由来の試料を比較することにより、体内のウイルス叢（Virome：持続、慢性感染したウイルスも含む）と疾患・病態との関連性について研究することも計画しています。将来的にはシーケンスより得られるヒト遺伝子（数十万クローン）のトランスクリプトーム解析も併せて、ウイルス感染と生体(防御)反応との関連性について総合的な解析を行うことにより、ウイルス感染と各疾患との新たな関連性を解明できれば、と願っています。

おわりに

拙い文章をお読みいただき感謝申し上げます。ラボをスタートさせて3年余りが過ぎました。この間、研究室の設計に始まり、研究機器・研究費の調達、学会発表や論文作製とその場その場の課題を必死でやってきた、というのが偽らざる感想です。その中でこれまで指導していただいた先生方にも折にふれ様々な形で駆け出しの私をサポートしていただきました。この場を借りて御礼申し上げます。また、微研に赴任後は先輩である教授の諸先生方、年齢の近い仲間と言える先生方、そして後輩、あるいは学生の方々に恵まれ、充実した研究生活を送れていることに対し、心より感謝しています。私達の研究について、少しでも興味がある方、内容についてもっと詳しいことが知りたいという方はいつでもご連絡ください。また一緒に研究する院生や研究員も募っています。やる気のある方のご参加をお待ちしていますので、お気軽にご連絡ください。