

## 教室紹介

京都大学霊長類研究所 人類進化モデル研究センター 明里研究室

明里宏文

〒484-8506 愛知県犬山市官林 41-2

TEL: 0568-63-0440

FAX: 0568-63-0459

E-mail: akari.hirofumi.5z@kyoto-u.ac.jp

URL: <http://www.pri.kyoto-u.ac.jp/sections/chemr/akari-lab/pgl144.html>

### はじめに

京都大学霊長類研究所は1967年に国立大学共同利用研究所として設立され、社会生態学や遺伝学、行動生理学、脳神経科学、実験動物学、さらに私のようにウイルス学に至るまで様々な霊長類に関する総合的研究を行っています。当研究所には、必ずと言って良いほど間違えられることが2つあります。一つは所在地が京都ではなく愛知県犬山市であることです。当研究所の裏手には、サル類の動物園である日本モンキーセンターがありますが、こちらは日本モンキーパーク（名古屋では割と有名な遊園地）に付属する民間施設です。もう一つですが、おもしろいことに当研究所のことをご存じの地元の人でさえ、日本モンキーセンターと同じ組織だと誤解されていることが多いようです。同じ町にサルに特化したレアな施設が2つもあるのですから、さもありませんといったところでしょうか。

人類進化モデル研究センターは当研究所の1部門で、教員7名（特定助教2名含む）および技術・事務職員や研究員を合わせると総勢50名を超える大所帯です。当センターは13種、約1150頭ものサル類の飼育・繁殖育成から獣医学的な健康管理までを担うとともに、さまざまな実験動物学に関する研究を進めています。私は2009年4月に医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センターより赴任しましたが、赴任早々当研究所を揺るがす大事件が発生しました。すなわちニホンザルが出血症状を呈して次々と死亡したのです（計42頭死亡もしくは安楽殺）。マスコミ等でも大きく取り上げられたためご存じの方も多いためと思います。当初は原因もわからず非常に困惑しましたが、当センターの教職員および多くの関係研究機関が一丸となって鋭意解析を進めた結果、サルレトロウイルス4型（simian retrovirus type-4: SRV-4）がニホンザルに感染することにより血小板が激減し、これが原因となって出血症状を示したことが明らかとなりました。SRV-4は2010年になってカリフォルニアの研究グループによりそのゲノム配列が同



定されましたが、これまではあまり注目されていなかったウイルスです。自然宿主であるカニクイザルにはあまり顕著な病原性を示さず、通常は不顕性感染となることから、今回のような重篤な症状をニホンザルに呈したことは非常に驚きでした。このように、過去に報告のある致死性感染症とは全く異なる「想定外」の経過を辿った訳ですが、自然宿主において特段の影響を示さず共存しているウイルスが種の壁を越えて感染した際に想定外の（宿主にとってもウイルスにとってもですが）病気をおこしうる、といった教訓を我々に再認識させた事例でした。なお現在は、当研究所のサル類について抗体およびゲノム検査を実施し、全ての陽性個体を隔離・淘汰することにより全所的なSPF化にほぼ成功しました。その結果、1年以上新たな発症例は見られていません。さらに今後も同検査を継続し完全なSPF化を目指すとともに、発症メカニズムの解明に取り組んでいきたいと考えています。

### 研究内容

私たちの主な研究テーマはエイズやC型肝炎といったヒト難治性ウイルス感染症です。特にウイルス感染による病原性や免疫回避機構、ウイルスの宿主域などに焦点を当てて研究を行っています。このような、遺伝子や細胞を用いたin vitro研究だけでは必ずしも解決できないようなテーマでは、動物モデルは非常にパワフルなツールとなります。私たちは実験用霊長類を用いたウイルス感染・発症モデルにより「ウイルスと宿主の攻防」に迫るとともに、新規ワクチン・治療薬の有効性評価などへの応用研究（橋渡し研究：トランスレーショナルリサーチ）を進めたいと考えています。以下、現在の主な研究テーマについて簡単に紹介します。

## 1. ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1)

生体における HIV-1 感染発症に関わるウイルス学、感染免疫学といった基礎的研究および新規ワクチン開発、有効性評価などの応用研究において、これまでサル免疫不全ウイルス (SIV) およびキメラウイルスである SHIV を用いた霊長類モデルが汎用されてきました。これは HIV-1 が実験用サル類に感染発症しないことによるもので、理想的にはサル類に感染する HIV-1 が出来ればそれに越したことはありません。2006 年、徳島大学の足立昭夫教授らのグループは、カニクイザル細胞で増殖可能なサル指向性 HIV-1 (macaque-tropic HIV-1; HIV-1mt) の開発に成功しました。HIV-1mt は、HIV-1 ゲノムをベースにサルエイズウイルスである SIVmac 由来 vif 遺伝子および gag 遺伝子の一部を組み込んだもので、遺伝子レベルで 93% が HIV-1 由来です。この結果からこれまで不可能とされてきた、HIV-1 を用いた実験用サル類を用いた感染モデル確立に新たな道が開かれました。私たちは最近の研究において、HIV-1 宿主域に係る宿主内因性因子及びウイルス蛋白機能発現を規定するアミノ酸領域の決定など生化学・構造科学的解析成果により、カニクイザル個体でかなり効率良く増殖するようになった馴化型 HIV-1mt クローンへの改変に成功しました。感染サルに慢性エイズを発症するまでもう一步のところまで至っています。現在、病原性 HIV-1mt の樹立を目指した研究を鋭意進めているところです。

ところで、HIV-1mt のカニクイザル感染実験で気付いたのですが、HIV-1mt 増殖の程度がカニクイザル個体によって顕著に異なっていました。この原因について調べたところ、宿主内因性因子の一つである TRIM5 遺伝子の多型がその主な規定要因であることを明らかにしました。すなわち TRIMCyp (TRIM5 $\alpha$  の一部領域に cyclophilin A の一部が挿入された変異型アリル) を有するカニクイザル個体では野生型である TRIM5 $\alpha$  アレルを持つ個体と比較して、HIV-1mt の増殖効率が約 50 倍も高かったのです。この結果より、今後は TRIM5 遺伝子型に基づき HIV-1mt 感受性個体を選択することで、より信頼性・再現性の高い霊長類モデル構築に寄与するでしょう。ところで、興味深いことに TRIM5 $\alpha$  /TRIMCyp 頻度はカニクイザルの原産地によって大きく異なっていました。すなわちフィリピン由来個体群における TRIMCyp アリル頻度 (>80%) は、インドネシアおよびマレーシア由来個体群のアリル頻度 (30-50%) と比較して有意に高いものでした。さらにその後の解析にて、複数の国内カニクイザル繁殖飼育施設の個体および野生由来個体でも同様の傾向が認められたことから、カニクイザルの TRIMCyp アリル頻度における地理的多様性が実証されました。このように同一サル種内での遺伝子多型において地理的多様性が見られた理由として、何らかの外的要因 (たとえば致死性のウイルスの流行) が選択圧に

なった可能性も考えられます。ちなみに同じアジア産マカクザルでもブタオザルは TRIMCyp アリル 100%、アカゲザルでは生息地により多少差がありますが TRIMCyp アリル 10% 程度と、サル種による違いも顕著です。今後、より詳細な検討を行い、こうした多様性を生み出した原因とその意義を明らかにしたいと考えています。

## 2. C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV)

本邦における HCV キャリアは約 200 万人とされています。HCV 感染により引き起こされる慢性 C 型肝炎の多くが肝硬変・肝細胞癌へと移行し、年死亡者は 3 万人を数えるほどです。これに対して、PEG インターフェロン・リバビリンを基軸とした現行治療法ではそのウイルス排除率は 50% 程度であり、半数の治療無効患者は肝癌発症のリスクから逃れることはできないことから、新規抗ウイルス薬の開発が長年進められてきました。その成果として、昨年になって新たな抗 HCV 薬であるプロテアーゼ阻害薬 (テラプレビル) が承認され、インターフェロン治療無効患者にとって希望が見えてきました。しかし反面、薬による副作用の影響や耐性変異株の出現などが危惧されています。一方 WHO の調査では、世界における HCV 感染者は 1 億 7 千万人とされ、HIV と同様にアジア・アフリカ諸国を中心として今も感染拡大が進んでいる状況です。こうした国々の C 型肝炎患者は、経済的な背景から上記のような多額の費用が必要な医療を受けることが困難な場合が多いことから、有効な予防ワクチンの開発が求められています。こうした新規治療薬や予防ワクチンの開発に当たり、実験室レベルの基礎的研究結果を臨床医学の現場に反映させるためには、その有効性や安全性を評価するためのモデル動物が不可欠となります。しかし HCV に感染し C 型肝炎を発症する唯一の動物であるとされるチンパンジーは、絶滅が危惧されている類人猿であることなどから実験動物としての使用がほぼ不可能な状況にあります。このことは C 型肝炎研究における大きな障害となっています。

GB virus-B (GBV-B) は新世界ザル的一种であるタマリンから分離されたウイルスです。GBV-B は HCV に最も近縁なウイルスであり、GBV-B, HCV 共にフラビウイルス科のヘパチウイルス属に分類されています。タマリンへの GBV-B 実験接種では、急性肝炎を起こすものの慢性化には至らずクリアランスされます。従って HCV 感染により引き起こされる慢性 C 型肝炎のモデルとしては不相当とされてきました。最近我々は、世界で初めてコモンマーモセットへの GBV-B 感染により慢性 C 型肝炎様症状を起こすことを見出しました。すなわち、マーモセットへの GBV-B 接種後 3-4 年にわたって血中ウイルス RNA が徐々に増加し、これと平行して肝炎マーカーである ALT の間歇的上昇が認められました。さらに病理解析の結果、多数のウイルス抗原陽性細胞とともに肝線維化および炎症性リ

ンパ球浸潤が確認されました。これらの所見はヒト慢性活動性C型肝炎像に非常に近似しているものです。さらに経時的なウイルスゲノム解析の結果、抗ウイルス免疫応答からのエスケープ変異を示唆するアミノ酸復帰・連続変異が認められるなど、今後のC型肝炎研究においてきわめて貴重な動物モデルとなることが期待されます。今後は、ヒトでの解析が難しい感染初期から慢性化移行に至る抗ウイルス免疫応答やそのエスケープ機構などについて研究を進めたいと考えています。

他方、もう一つのテーマとしてHCV予防治療ワクチンの開発研究に取り組んでいます。これは国立感染症研究所の脇田先生らのグループにより初めて開発されたHCV培養システムを応用して得られた不活化HCVを大量精製しワクチンとするものです。現在この安全性、免疫原性について検証するとともに、その感染防御能を評価可能なHCV/GBV-Bキメラウイルスの開発を進めているところで

## おわりに

以上、当研究室における研究概要について紹介しました。これまで一緒に研究を進めてくれた研究員、大学院生、技術補助の方々、さらに諸研究機関の共同研究者の方々のおかげで、これまで研究を行うことが出来ました。ここに心よりお礼申し上げます。今後も霊長類研究所という地の利を生かしたユニークな（私たちにしか出来ないような）ウイルス研究を目指していきたいと思えます。私たちの研究に興味を持ってくださり、一緒に研究してみたいと思われる方はお気軽にご連絡頂ければ幸いです。これまでの研究分野は問いません（これまでの在籍者の出身分野は医学部、農学部、理学部など多岐に渡ります）。大学院入学希望者は理学研究科のウェブサイト (<http://www.biol.sci.kyoto-u.ac.jp>) をご覧下さい。