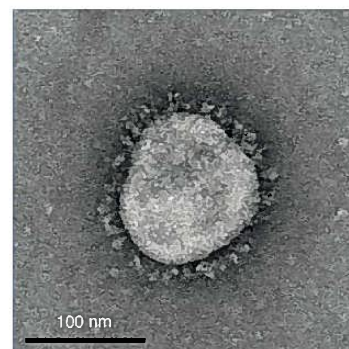


ウイルス学研究室 (旧細菌学教室)

はじめに

感染症は人類の大きな脅威であり続けている。かつては麻疹や天然痘、インフルエンザなどは正体不明の災厄であり、神仏に祈禱するようなことしかできなかった。現代では原因微生物の同定と抗微生物薬の開発、伝播経路への対策によって、感染症の被害は激減した。病原ウイルスの増殖や病原性発現機構、治療方法について研究することは、人類の感染症との戦いそのものである。このために、ウイルス研究の推進ならびに病原体を扱う専門性を身につけて、感染症がわかる医師として教育や院内感染対策に関わることも将来の進路として考えてほしい (Infection Control Doctor という資格がある)。



SARS-CoV-2/JP/Hiroshima-46059T/2020 (東浦撮影)

当研究室では、これまでパラミクソウイルス、インフルエンザウイルス、B型肝炎ウイルスを中心として多くのウイルスを研究してきた。ほぼすべてのウイルスで、cDNAに変異を導入して人工変異ウイルスを作出することが可能になり(図1)、ウイルス研究の方法論が成熟してきた。一方、ウイルス増殖の場である宿主(細胞・個体)の研究も進んでいる。例えば、最近では、ウイルスが宿主のインターフェロン系を阻害する機能をもっていることが詳細に研究されてきた。現在のウイルス学研究には、ウイルス学だけではなく分子生物学や細胞生物学、免疫学などの広い範囲にわたる知識と技術が必要である。

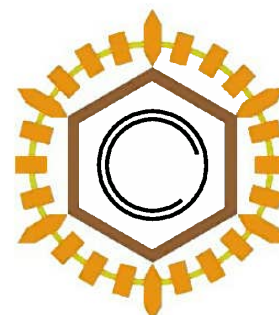
2019年末から新型コロナウイルスが中国で出現し、世界中に広がって、私たちの生活に大きな影響を与えている。再び新たな脅威(新興感染症)が出現したわけである。毎日PCR陽性者数が発表され、どんな変異をもつウイルス変異株が、どのように広がっているかがリアルタイムで明らかになっている。診断技術をはじめテクノロジーが進んだために可能になったことであるが、このようなことは人類始まって以来、初めてのことである。2021年6月現在、集団免疫を目指してワクチン接種が進められている状況である。

ウイルス学研究室にはP3実験施設があるので新型コロナウイルスの感染実験を行うことができる。2020年3月に国立感染症研究所から武漢株の分与を受け、その後は広島県で分離された欧州株を用いて感染実験を行ってきた。今後はさらに新しい変異株を導入する予定である。

研究室の沿革と研究施設

研究室の前身は、戦後まもなく広島大学医学部が設立された際に立ち上がった細菌学教室であり、占部薫教授、松尾吉恭教授が主宰され、主として抗酸菌(結核菌、非定型抗酸菌、癩菌)を研究されていた。1986年に吉田哲也教授が赴任され、ウイルス学の研究が始まった。その後、2009年から坂口が引き継いでいる。

研究棟の耐震改修に際して、2006年、基礎・社会医学研究棟6階に当ウイルス学研究室と細菌学研究室(歯学部細菌学教室)を配置して、ここを感染症研究のフロアとし、研究科付属のP3(物理的封じ込めレベル3)実験室を設けた。また、実験室は居室を除いてほとんどをBiosafety Level 2実験室として、さらに下限数量以下の放射性同位元素も扱えるようにした。別棟の動物実験施設



B型肝炎ウイルス

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ウイルス等の動物への感染実験を行っている。DNAシーケンサー、レーザー共焦点顕微鏡などは自然科学研究開発支援センターのものを使用している。

メンバー(2021年4月現在)

教授 坂口 剛正

准教授 入江 崇

助教 福士 雅也、小田 康祐
東浦 彰史

技術員 川端 涼子、吉元 玲子
山本 旭麻、森田 智子

秘書 柗木 知佳

研究生等 惠木 慶子

大学院生 Tanuza Nazmul (D2)

Lawal-Ayinde Basirat Mojisola (D1)

榎本 耀太(M2)、佐々木 泰知(M2)

狭間 美沙(M2)

感染症科助教 野村 俊仁

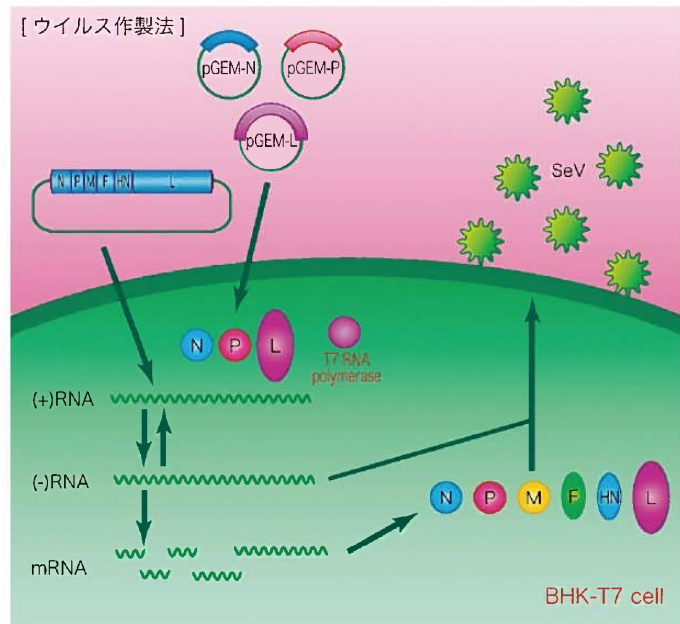


図1 パラミクソウイルスの人工合成
ゲノム RNA と N, P, L タンパク質を培養細胞内で合成すると、自己増殖するウイルスが生成する

研究の内容

(1) パラミクソウイルスのアクセサリータンパク質(C, V)の機能: 自然免疫から逃れる分子機構

パラミクソウイルスのアクセサリータンパク質である C, V と呼ばれるタンパク質は、それ自体は増殖に必須ではないものの、これが存在することでウイルス増殖の効率を上げ、病原性を増強する。この研究の一環として、インターフェロンのシグナル伝達に重要な転写因子 STAT1 と C タンパク質の結合複合体を結晶化して立体構造を決定した(図2)。これによって、C タンパク質が STAT1 の機能を阻害して、ウイルスに対する自然免疫のインターフェロン系を無力化する分子機構を明らかにした(図3)。インターフェロンが仮に分泌されても、センダイウイルスはその影響を受けず、増殖することができる。

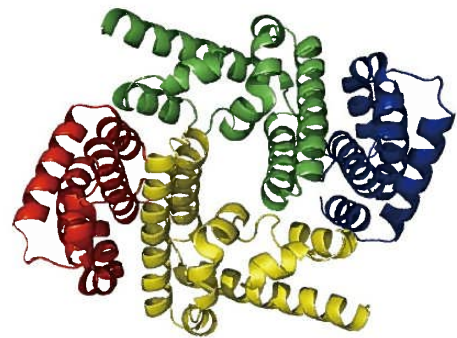


図2 STAT1 N 末端ドメインと C タンパク質 (C 末端側 Y3) 複合体の立体構造

(2) ウイルス RNA 合成の機構

ウイルス感染によって、通常は存在しない異常な RNA, DNA が生じると、RIG-I, MDA5, cGAS, Sting などの細胞内受容体を介して、ウイルス感染を感知する。ウイルスとしては異常な RNA を作らないようにする、あるいは細胞内受容体から隠すというステルス機能で感知されないようにしている。センダイウイルスでは、C タンパク質がポリメラーゼ L タンパク質と相互作用して、異常な RNA 合成を最小化するように RNA

合成を制御していると考えられる。一方、逆にインターフェロンを強く誘導する特殊な株も存在している。この機構を解明する研究とともに、これをアジュバントとして利用する研究も行っている。

(3) ウイルスの集合・粒子形成

エンベロープウイルスの粒子形成と出芽には、Mタンパク質などのウイルスタンパク質と宿主の機能が関与する。ウイルスタンパク質に関しては、センダイウイルスで、いくつかの構造タンパク質を組み合わせることで通常のウイルスに近い性質をもつウイルス様粒子を再現する系を確立した(図4)。現在はB型肝炎ウイルスでも同様の実験を行い、ウイルス粒子形成の機構を研究している。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ESCRT(小胞体輸送系)およびtetherin/CD317/BST2、Alixなどを検討している。これに関して、入江 崇 准教授が「エンベロープウイルスの粒子形成・出芽機構の解析」というテーマで2009年度の日本ウイルス学会 杉浦奨励賞を受賞した。

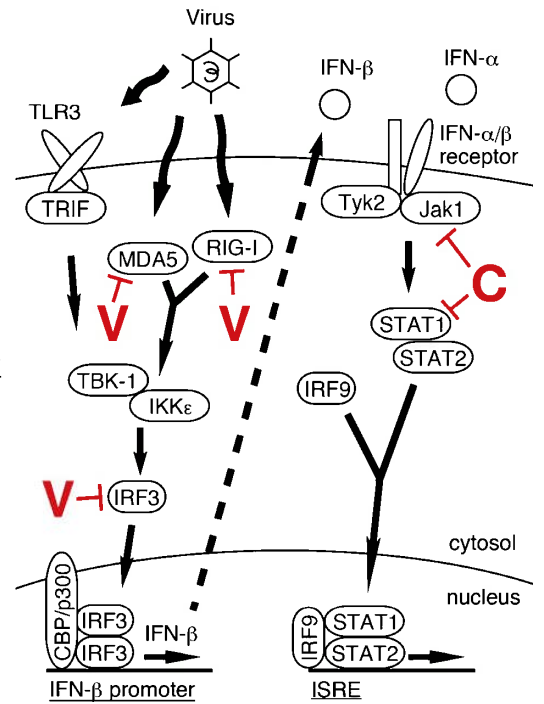


図3 RNAウイルスによるインターフェロンの誘導とウイルスタンパク質(C, V)による阻害

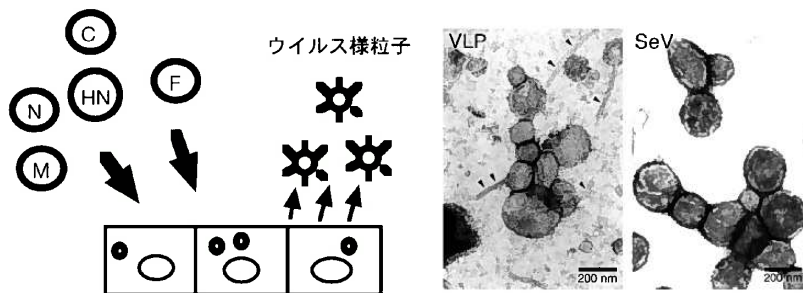


図4 ウイルスタンパク質導入によるウイルス様粒子(VLP)の形成

(4) 抗ウイルス物質の探索

複数の企業・団体と共同で、ウイルス消毒剤の研究を行っている。特に「柿渋」に広いスペクトラムの抗ウイルス活性を見だし、特許取得と商品化に至った。また、脂肪酸カリウム塩(天然液体石けんの主成分)にも抗ウイルス活性を見だし、シャボン玉石けん株式会社(北九州市)との共同研究で、抗ウイルス能の高いハンドソープ(バブルガード)を開発した。その中のオレイン酸カリウム(C18:1)はインフルエンザウイルスのエンベロープ膜ではなく、HAタンパク質と作用してウイルスを不活化することを明らかにした(図5)。

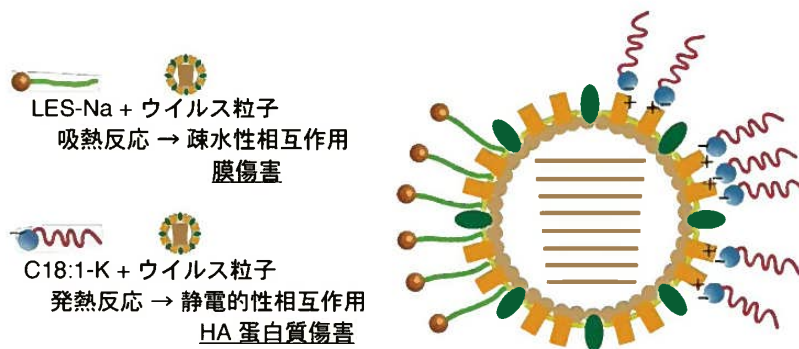


図5 界面活性剤によるインフルエンザウイルスに対する攻撃

抗ウイルス剤にはウイルス粒子に作用して、ウイルスを不活化する(ウイルス感染を中和する)ものと、ウイルス感染細胞に作用してウイルス増殖を抑えるもの、さらにはウイルスの細胞からの放出あるいは細胞への侵入を防いで、ウイルスの広がりを抑えるものがある。主に共同研究によって、このような抗ウイルス物質を探索している。このために漢方薬、生薬、植物抽出物ライブラリーも用いている。

(5)立体構造の解明

タンパク質・ウイルスの立体構造解析の技法をもつ教員(小田、東浦)を中心に、サイズが大きいこともあり、未解明であるパラミクソウイルスのポリメラーゼの立体構造を解析する。また、クロレラウイルスなどの巨大ウイルスの構造を解明する。このためには大型放射光施設(SPring-8, 兵庫県佐用郡)の積極的な利用も考慮する。単に構造を解くだけではなく、構造解明によって生物学的な機能を発揮するためのメカニズムを明らかにし、さらにポリメラーゼ阻害剤等の開発のような応用につなげることを目指している。

(6)新型コロナウイルスの研究

2020年から新型コロナウイルス SARS-CoV-2の研究を急遽開始した。PCR検査(野村)(行政からの委託試験を含む)、ウイルス培養(野村、坂口)の他に、SARS-CoV-2タンパク質発現と立体構造の解析(東浦)、電子顕微鏡観察(東浦)、Sタンパク質を発現するセンダイウイルスベクターの作製(入江)、ゲノムDNAから新たなウイルスを作製するリバースジェネティクス法の開発(入江)、原医研(神沼研)で作製されたACE2ノックインマウスを用いた動物感染実験(福士)等を行っている。

広島大学では、霞キャンパスの研究室で共同して新型コロナウイルス感染症(COVID-19)を研究する体制を整えている。その中でウイルス学研究室では、疫学疾病制御学(田中研)を中心に収集されている広島県及び広島市の臨床検体からのウイルス分離培養を行い、薬学分子細胞学(田原研)でゲノム塩基配列を解析して分子疫学的解析を行っている。医化学(浅野研)、移植外科学(大段研)、原医研(谷本先生)との共同で薬剤の開発、免疫学(保田研)と治療用中和抗体の開発、東広島統合生命科学研究科(堀先生)と検査法の開発を進めている。他にいくつかの企業とウイルス制御法について共同研究を行っている。

研究室のスケジュール

論文抄読会あるいはデータ検討会(不定期) 金曜日午前11時~12時など

ウイルス学研究室卒業後の進路

卒業後は、学位を活かして感染症関連の研究職に就く。また医師であれば臨床医として感染症診療ならびに院内感染症の管理に従事する。また、機会を捉えて、早めに海外に留学することを勧める。海外で研究することは研究面での活性化をもたらす、生活面でも他の文化に親しむことになり、その後の人生に資すること大である。

前身の細菌学教室の頃からの同門会が現在も連綿と続いており、教室で研究されたOBの先生方と毎年の同門会総会などで交流している。同門の先生方は、広島地区の感染症対策の中心である広島県CDCセンター長 桑原正雄先生、新型コロナウイルス対策で活躍されている感染症科 野村俊仁先生をはじめ、勤務医、開業医、衛生研究所の研究員として、感染症に関わっておられる。また、香川大学医学部教授 藤井豊先生、米国テキサス大学研究員 黄誠君などが外部の研究・教育機関で活躍している。

おわりに

研究室に興味があれば連絡ください。(文責 坂口)

研究室ウェブサイト: <https://isaikin.hiroshima-u.ac.jp>

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