

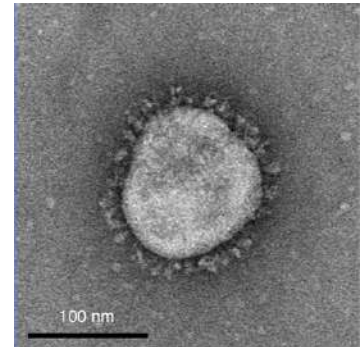
ウイルス学研究室 (旧細菌学教室)

はじめに

感染症は現代においても大きな脅威として存在し続けています。以前は、麻疹、天然痘、インフルエンザなど、原因が不明確で祈祷以外の手段がほとんどありませんでした。しかし、現代では原因微生物の同定、抗微生物薬の開発、伝播経路への対策により感染症の被害は大幅に減少しました。病原ウイルスの増殖、病原性発現機構、治療方法に関する研究は、感染症との戦いそのものです。そのため、ウイルス研究を推進し、病原体を扱うスキルを身につけて、感染症の理解に貢献する医師や院内感染対策の専門家としての進路を考えてほしいと思います(資格として"Infection Control Doctor"があります)。

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に多くのウイルスを研究してきました。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成することができ、ウイルス研究の方法論が進歩しています。同時に、ウイルスの増殖場所である宿主(細胞や個体)に関する研究も進展しており、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について詳細な研究を行いました。現在のウイルス学研究には、ウイルス学だけでなく分子生物学、細胞生物学、免疫学など幅広い知識と技術が必要です。

2019年末からは新型コロナウイルスが中国で発生し、世界中に広がり、私たちの生活に大きな影響を与えました。当ウイルス学研究室にはP3実験施設があり、新型コロナウイルスの感染実験を行うことができます。2020年3月には国立感染症研究所から武漢株の提供を受け、その後、広島県で分離された欧州株、さらにその後の変異株を用いて感染実験を行ってきました。

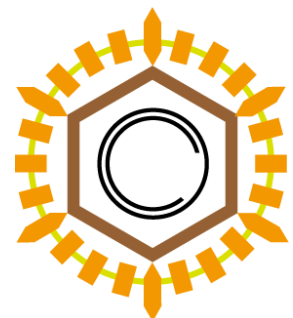


SARS-CoV-2/JP/Hiroshima-46059T/2020 (東浦撮影)

研究室の沿革と研究施設

研究室の歴史について説明します。当研究室は、戦後まもなく広島大学医学部が設立された際に細菌学教室として始まりました。この教室は、占部薫教授と松尾吉恭教授によって主宰され、主に抗酸菌(結核菌、非定型抗酸菌、癩菌)の研究が行われていました。1986年に吉田哲也教授が着任し、ウイルス学の研究がスタートしました。その後、2009年には坂口教授がその役割を引き継いでいます。

研究棟の耐震改修の際、2006年には基礎・社会医学研究棟の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、感染症研究のためのフロアを設けました。また、研究科に付属するP3(物理的封じ込めレベル3)実験室も設置しました。実験室は、居室を除いてほとんどがBiosafety Level 2実験室として使用され、放射性同位元素の取り扱いも可能になっています。別の建物にはP3レベルの動物感染実験が行える「感染区」もあり、ここで遺伝子組換えウイルスなどの動物への感染実験が行われています。DNAシーケンサーやレーザー共焦点顕微鏡などの設備は、自然科学研究開発支援センターのものを使用しています。



B型肝炎ウイルス

メンバー (2023 年 12 月現在)

教授 坂口 剛正

准教授 入江 崇

助教 福士 雅也、東浦 彰史

研究員 山本 旭麻

技術員 川端 涼子、森田 智子

大谷 厚子

秘書 榎木 知佳、平川里絵

研究生等 恵木 慶子

大学院生 Lawal-Ayinde Basirat Mojisola (D4)

黒瀬美羽子 (D2)

Abeer Mohamed Abdelfattah Elsayed (D2)

研究生 佐々木裕明

感染症科 野村俊仁

地域医療システム学 柿本聖樹

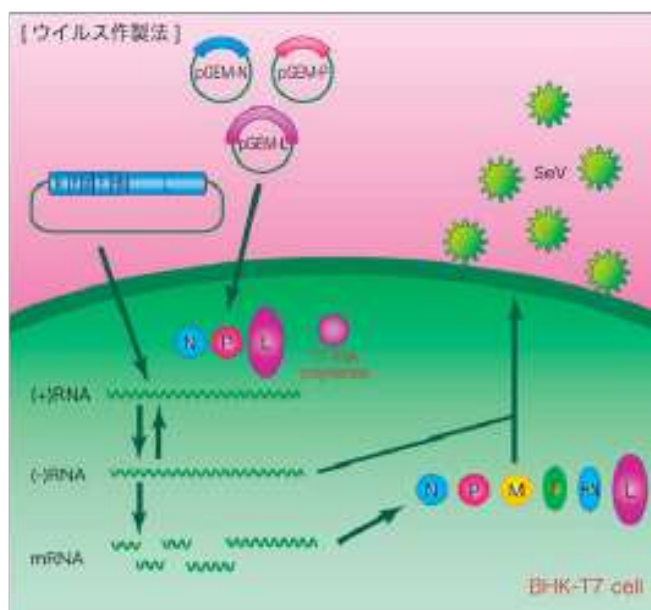


図 1 パラミクソウイルスの人工合成
ゲノム RNA と N, P, L タンパク質を培養細胞内で合成すると、自己増殖するウイルスが生成する

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 と V は、ウイルスの増殖には直接必要ではありませんが、存在することでウイルスの増殖効率が上がり、病原性も増強されます。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関与する重要な転写因子 STAT1 と C タンパク質の結合複合体の立体構造を決定しました(図 2)。これにより、C タンパク質が STAT1 の機能を阻害し、ウイルスに対する自然免疫のインターフェロン系を無効化する分子機構が明らかになりました(図 3)。したがって、インターフェロンが分泌されても、センドイウイルスはその影響を受けずに増殖できます。



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 合成の仕組み

ウイルス感染により、通常は存在しない異常な RNA と DNA が生成され、RIG-I、MDA5、cGAS、Sting などの細胞内受容体を介してウイルス感染が検知されます。しかし、ウイルスは異常な RNA を作らないようにしたり、細胞内受容体から隠れるステルス機能を備えて感知を回避したりします。センドイウイルスでは、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、異常な RNA 合成を最小限に抑え、RNA 合成を制御していると考えられています。逆に、特定の株ではインターフェロンを強力に誘導することもあります。このメカニズムを解明する研究と、アジュバントとして活用する研究も行っています。

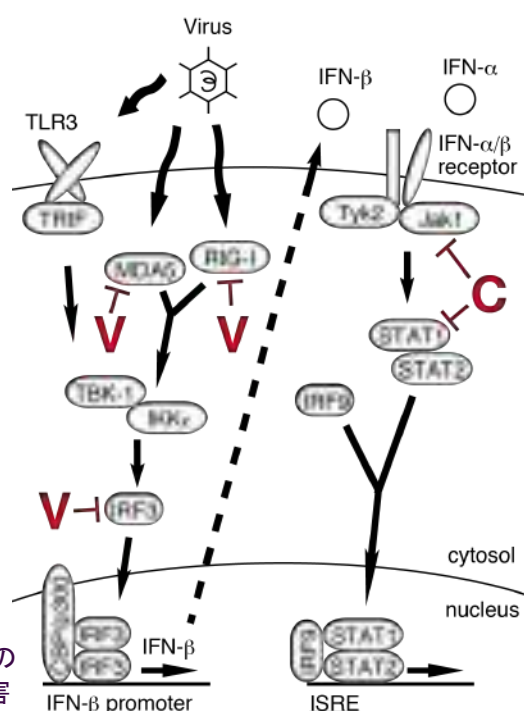


図 3 RNA ウイルスによるインターフェロンの誘導とウイルスタンパク質(C, V)による阻害

(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、ウイルスタンパク質と宿主の機能が関与します。ウイルスタンパク質に関して、センダイウイルスでは通常のウイルスに類似した性質を持つウイルス様粒子を再現するために、複数の構造タンパク質を組み合わせるシステムを確立しました(図4)。現在、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メカニズムを研究しています。宿主因子に関しては、レトロウイルスなどの研究から得られた ESCRT(小胞体膜輸送系)や tetherin/CD317/BST2、Alix など調査対象です。これらの研究により、入江崇准教授は 2009 年度の日本ウイルス学会杉浦奨励賞を受賞しました。

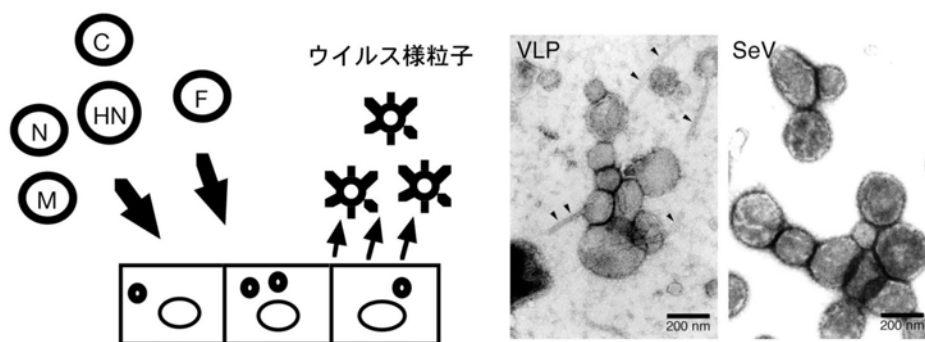


図4 ウウイルスタンパク質導入によるウイルス様粒子(VLP)の形成

(4) 抗ウイルス物質の探索

企業や団体と共同でウイルス消毒剤の研究を行っています。特に、「柿渋」という物質に広範な抗ウイルス活性を発見し、それに関する特許取得と商品化を達成しました。さらに、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出し、シャボン玉石けん株式会社(北九州市)との共同研究を通じて、高い抗ウイルス能力を持つハンドソープ(バブルガード)を開発しました。特に、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 タンパク質と相互作用してウイルスを不活化することを明らかにしました(図5)。

抗ウイルス剤には、ウイルス粒子に対して作用し、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の増殖を抑制するもの、さらにはウイルスの細胞からの放出や細胞への侵入を防ぐことで、ウイルスの広がり抑制するものがあります。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ます。そのために、漢方薬、生薬、および植物抽出物ライブラリーも利用しています。

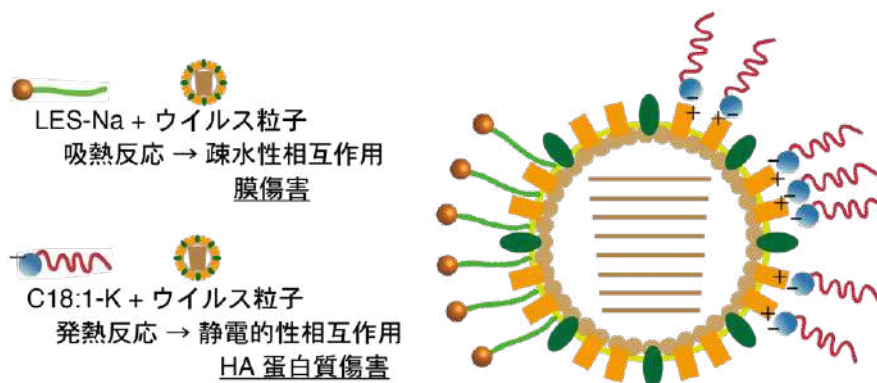


図5 インフルエンザウイルスに対するオレイン酸(18:1)と合成界面活性剤(LES-Na)の作用の違い

(5)立体構造の解明

立体構造解析の技術を持つ教員(東浦、山本)を中心に、新型コロナウイルス N タンパク質と抗体の結合複合体、新型コロナウイルス S タンパク質と治療用中和抗体の結合複合体、D 型肝炎タンパク質など、ウイルス関連のタンパク質の立体構造を解明しています。このために大型放射光施設(SPring-8、兵庫県佐用郡)やクライオ電子顕微鏡(北海道大学、大阪大学など)を積極的に利用しています。単に構造を解析するだけでなく、生物学的な機能を明らかにすることを目指しています。

(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 の研究を開始し、PCR 検査(野村)およびウイルス培養(野村、柿本、坂口)だけでなく、SARS-CoV-2 タンパク質の発現と立体構造の解析(東浦・山本)、電子顕微鏡観察(東浦・山本)、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成(入江)、ゲノム DNA から新たなウイルスを作成するリバーシジェネティクス法の開発(入江)、原医研(神沼研)で作成された ACE2 ノックインマウスを用いた動物感染実験(福士)などを行っています。

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)の研究を行う体制を整備しています。ウイルス学研究室では、疫学疾病制御学(田中研)を中心に、広島県および広島市から収集された臨床検体からウイルスの分離培養を行い、薬学分子細胞学(田原研)でゲノム塩基配列を解析し、分子疫学的な解析を実施しています。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)と検査法の開発を推進しており、さらにいくつかの企業とウイルス制御に関する共同研究も行っています。

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、学位を活かして感染症関連の研究職に就くことができます。また、医師の場合は臨床医として感染症診療や院内感染症の管理に従事することができます。さらに、海外での留学を早めに検討することをお勧めします。海外での研究は研究活動の活性化に寄与するだけでなく、異なる文化に触れる機会となり、将来の人生に大いに役立つでしょう。

以前の細菌学教室の同窓会は現在も続いており、教室で研究した OB の先生方とは毎年の同門会総会などで交流しています。同窓の先生方は、広島地区の感染症対策の中心である広島県 CDC センター長である桑原正雄先生や、新型コロナウイルス対策で活躍されている感染症科の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取り組んでいます。また、香川大学医学部教授である藤井豊先生、米国テキサス大学の黄 誠先生、安田女子大学の小田康祐先生など、世界の研究・教育機関で活躍されています。

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