

第五回ウイルス学キャンプ in 湯河原 プログラム

7月29日

13:00頃～ 受付・ポスター貼付け・スライド受付

13:45 開会 開会挨拶 永田恭介

14:00 Session 1 招待講演（1） 座長 増田道明

- 細胞内情報伝達系を生きた細胞，生きた動物で可視化する
松田道行（京都大学大学院生命科学研究科）

15:00 休憩、写真撮影

15:10 Session 2 一般口頭発表 座長 発表者が交互に行う

- シュードウイルス粒子によるデングウイルスワクチン開発
鈴木亮介（国立感染症研究所 ウイルス第二部）
- 弱毒生ワクチン株 (Nef 遺伝子欠損 SHIV) 免疫ザルに対する急性発症型 SHIV
攻撃接種後早期の全身臓器におけるウイルス動態
深澤嘉伯（京都大学ウイルス研究所 感染症モデル研究センター 霊長類
モデル研究領域）
- Exit strategy of human polyomavirus from host cells
鈴木忠樹（北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診
断部門）
- 宿主細胞の麻疹ウイルス感染認識機構と麻疹ウイルス V タンパク質の役割
池亀 聡（九州大学大学院医学系学府 ウイルス学）
- ハンマーヘッド型リボザイムを用いた新規ヒトメタニューモウイルス遺伝
子操作系の確立
白銀勇太（九州大学大学院医学系学府 ウイルス学）
- B型インフルエンザウイルスポリメラーゼの認識特異性の解析
若井ちとせ（筑波大学大学院人間総合科学研究科）
- インフルエンザウイルス増殖を抑制する因子Ebp1の作用機序の解析
三林正樹（法政大学 マイクロ・ナノテクノロジー研究センター）

17:20 Session 3 ポスター発表

19:30～20:30 夕食

夜 集中討論

注意：24:00から翌朝5:00までは入浴不可能

7月30日

7:00～9:00 朝食

9:30 集合・鍵返却

9:40 Introduction (小柳教授と塩田教授のHIV講座)

10:00 Session 4 招待講演(2) 座長 小柳義夫

○エイズ研究に於ける動物モデル-SHIVを中心として
五十嵐樹彦(京都大学 ウイルス研究所)

11:00 Session 5 招待講演(3) 座長 柳 雄介

○HIV/SIV複製に対する適応免疫反応の影響
俣野哲朗(東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター)

12:30 前 閉会 閉会挨拶 高田礼人

招待講演

○細胞内情報伝達系を生きた細胞、生きた動物で可視化する

松田道行（京都大学大学院生命科学研究科）

蛍光共鳴エネルギー移動の原理を利用した分子プローブを使えば、様々な酵素活性のみならず、脂質、イオン、糖などの濃度もリアルタイムに生きた細胞で観察することができる。この技術の現状と将来について語る。

○エイズ研究に於ける動物モデル-SHIV を中心として

五十嵐樹彦（京都大学ウイルス研究所）

エイズの理解の為に動物モデルは必須である。その中で SHIV/サルモデルは90年代初頭に一種の動物として登場、その後大いにもてはやされたが評判が失墜、現在も模索が続いている。SHIV を窓として動物モデルまたはエイズ研究を眺めてみたい。

○HIV/SIV複製に対する適応免疫反応の影響

侯野哲朗（東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター）

我々は、HIV/SIV 持続感染成立機序を解明する目的で、サルエイズモデルにて適応免疫反応の SIV 複製への影響の解析を続けている。本発表では、特にウイルス複製制御に結びつく適応免疫反応を中心に、最近得られた知見を紹介する。

一般演題

○シュードウイルス粒子によるデングウイルスワクチン開発

鈴木亮介 (国立感染症研究所 ウイルス第二部)

デングウイルス (DENV) は蚊媒介性の熱性・出血性疾患を起こす原因ウイルスで、熱帯および亜熱帯地域を中心に年間約 1 億人が感染する公衆衛生上重要なウイルスであるが、ワクチンは未だ開発途上である。本研究では single-round infectious なシュードキメラフラビウイルスを用いてデングワクチンを構築し、その効果を検討した。Capsid 遺伝子の大部分を欠損したウエストナイルウイルス (WNV) ゲノムを用い、prM/E 領域の遺伝子をデング 2 型ウイルス (DENV2) のものと組替えたキメラシュードウイルスを作製した。このシュードウイルスゲノムを、WNV-Capsid 蛋白質発現細胞に導入したところ、ゲノムの複製能は有するものの、感染性粒子の産生が認められなかった。このため blind-passage により感染性粒子を産生する strain を得て、ゲノムの変異を同定し、それらの変異をシュードウイルスに導入する事により感染性粒子を産生させる事が出来た。さらに DENV2-Capsid 発現細胞を用いる事により、より効率の良い感染性粒子の産生が認められた。これらを DENV2 感染モデルマウス AG129 (IFN レセプター KO マウス) に接種し、継時的に中和抗体価を測定した。またキメラシュードウイルス接種群および非接種群に対して致死量の DENV2 を接種したところ、シュードウイルス非接種群では 19 日後までに 100% のマウスが死亡したのに対し、シュードウイルス接種群では顕著な延命効果が認められた。以上の結果からシュードフラビウイルスを用いたデングワクチンの有効性がマウスで確認できた。

○弱毒生ワクチン株 (Nef 遺伝子欠損 SHIV) 免疫ザルに対する急性発症型 SHIV 攻撃接種後早期の全身臓器におけるウイルス動態

深澤嘉伯 (京都大学ウイルス研究所 感染症モデル研究センター 霊長類モデル研究領域)

本研究では、弱毒生ワクチン株 (SHIV-NI) 免疫ザルおよび非免疫ザルに急性発症型 SHIV-C2/1-KS661 (KS661) を経直腸攻撃接種し、早期の全身臓器におけるウイルス動態および CD4 陽性 T 細胞数を比較検討し、弱毒生ワクチンによるウイルス増殖抑制機序を明らかにする事を目的とした。アカゲザルに SHIV-NI を静脈内接種し、その 4 週後に KS661 を経直腸攻撃接種した。攻撃接種 0、2、4 週後にそれぞれ 2~3 頭の剖検を行い、全身臓器における各ウイルスのプロウイルス増殖および CD4 陽性 T 細胞数を解析した。生ワクチン接種ザルでは、感染初期での末梢リンパ組織および腸管において顕著なウイルス増殖抑制を示し、CD4+T 細胞の減少を防御している事が明らかとなった。

○Exit strategy of human polyomavirus from host cells

鈴木忠樹 (北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門)

多くのエンベロープを持たないウイルスは、感染細胞を破壊 (Cell lysis) することにより、子孫ウイルスを細胞外へと放出する。この過程で、ある種のウイルスタンパク質により形質膜の透過性が亢進していくことが知られており、この透過性亢進により形質膜の破綻が誘導され、子孫ウイルスの放出が起こると考えられている。

JC ウイルス (JCV) は、ヒトを自然宿主とするポリオーマウイルスであり、免疫不全を契機に発症する進行性多巣性白質脳症 (PML) の原因ウイルスとして知られている。ポリオーマウイルスのウイルス粒子はエンベロープを持たず、子孫ウイルスの放出は細胞の破壊により起こると考えられている。しかしながら、その分子機構についてはほとんど明らかにされていない。

これまでに、我々は JCV のコードするウイルスタンパク質である Agnoprotein (Agno) が感染の拡大に寄与していることを報告してきた。今回我々は、Agno が細胞内小胞輸送を担うアダプター複合体 AP-3 の δ サブユニットと相互作用し、AP-3 依存的な小胞輸送を阻害していることを見出した。そして、Agno によるこの小胞輸送阻害が、形質膜の重要なメンテナンス機構の破綻をもたらし形質膜の透過性を亢進させ、最終的にはウイルス粒子の放出を促していることを明らかにした。

これらの発見により、ポリオーマウイルスのようなエンベロープを持たないウイルスにおいても子孫ウイルスの放出過程は、エンベロープを持つウイルスと同様にウイルス因子と宿主因子との間の特異的な相互作用により制御されていることが考えられた。

○宿主細胞の麻疹ウイルス感染認識機構と麻疹ウイルスVタンパク質の役割

池亀 聡 (九州大学大学院医学系学府 ウイルス学)

近年、ウイルス感染を検知する細胞質内分子としてRIG-I、mda5の存在が報告された。パラミクソウイルスはRIG-Iにより認識されるとの報告が多いが、麻疹ウイルスではmda5が重要との報告もある。また、パラミクソウイルス間で広く保存されるVタンパク質は自身の認識に関与の低いmda5を標的とするという相反する結果も報告されている。今回、麻疹ウイルス感染に伴うインターフェロン誘導とVタンパク質の関与について実験を行った。

○ハンマーヘッド型リボザイムを用いた新規ヒトメタニューモウイルス遺伝子操作系の確立

白銀勇太 (九州大学大学院医学系学府 ウイルス学)

ヒトメタニューモウイルス (HMPV)は2001年に発見されたウイルスで、小児や高齢者で重症の呼吸器疾患を引き起こすことが明らかになっている。ウイルスの分子生物学的な解析には感染性ウイルスのゲノムに思い通りの変異を導入するリバーシジェネティクス系が有用である。HMPVでは既に2つの系が確立されているが、いずれの系もゲノム末端に余分なグアニン残基が挿入される欠点がある。今回我々は、日本分離株での独自系を確立し、更にハンマーヘッド型リボザイムを用いることにより正確なゲノム末端配列を再構築し得るリバーシジェネティクス系を確立した。

○B型インフルエンザウイルスポリメラーゼの認識特異性の解析

若井ちとせ (筑波大学大学院人間総合科学研究科)

インフルエンザウイルス (FluV) RNAポリメラーゼは、キャップ構造に依存したエンドヌクレアーゼ活性を有しており、感染細胞核内において、宿主 mRNA からキャップ構造を含む短い RNA 断片を切り出し、これをプライマーに利用してウイルス自身の mRNA を合成する。我々はこの反応の分子機構を理解するために、A型FluV (FluV-A) およびB型FluV (FluV-B) のRNAポリメラーゼによる基質 capped RNA 認識の特異性について *in vitro* 反応系を用いて解析を行っている。結果、A型とB型ではポリメラーゼの基質認識特異性が大きく異なることが生化学的解析により示唆された。現在、培養細胞を用いてこの特異性の詳細な解析を行っているところである。

○インフルエンザウイルス増殖を抑制する因子Ebp1の作用機序の解析

三林正樹 (法政大学 マイクロ・ナノテクノロジー研究センター)

我々の研究室では、インフルエンザウイルスのRNAポリメラーゼに結合する因子群を、酵母ツーハイブリッド法により同定した。その中の一つEbp1はインフルエンザウイルスのRNAポリメラーゼのサブユニットの一つPB1と結合することが明らかとなっている。本研究では、Ebp1が細胞内でどのようにウイルス複製を抑制しているのかを解析した。