

## 札幌医科大学医学部 微生物学講座

### 藤井暢弘

北海道には、3つの医学部があります。札幌市に北海道大学医学部、札幌医科大学医学部、旭川市に旭川医科大学医学部です。札幌医科大学は北海道立女子医学専門学校(昭和20年開設)を母体として昭和25年に北海道立の公立医科大学として開設されました。微生物学講座は専門学校時代の細菌学教室、大学設置により微生物学教室、次いで昭和39年の学制改革によって教室から講座へと変わり今日に至り、大学と同様に50数年の歴史を刻み初代植竹久雄教授、2代目林 喬義教授、3代目小熊恵二教授、4代目藤井暢弘教授と引き継がれてきております。

平成11年3月に学科目・基礎医学関係の各講座、大学図書館、情報センター、教育研究機器センターを含む15階建ての基礎医学研究棟が完成し、微生物学講座も12階部分へ無事移ることができました。一つの階を2つの講座が使用しており、12階には衛生学講座がありロタウイルス、MRSAなどに関する研究を行なっています。また、放射性同位元素を使用する実験が可能なP2-RI実験室が同じ階に設置されており大変良い実験環境となっております。微生物学講座としての実験室は通常タイプ、P2レベル合わせて3室、P3タイプが1室あります。クリーンベンチ、安全キャビネットは合計で10台あり、研究スタッフは個人専用のかたちで使用しています。実験室、居住区を含め、新棟の講座当たりの面積は以前の8割程度に減少しているので狭い感が拭えません。しかし、各室は独自に空調を調節できるようになっているので超低温フリーザ室は常時18度前後に保つことができ以前に比べると安心して運用することができます。

さて、微生物学講座の研究内容を紹介してみたいと思います。本来、開設当事より微生物学講座では主に細菌に関わる研究を続けてきております。これらは、初代植竹教授によるサルモネラ菌におけるO抗原変換とファージコンバージョンに関する研究、2代目林教授によるブドウ球菌のスタフィロキナーゼやレンサ球菌のストレプトキナーゼに関する研究、3代目小熊教授によるボツリヌス毒素に関する研究に代表されます。現在の藤井教授も当初(教授就任後5年間)はボツリヌス毒素遺伝子に関する研究を主に続けていたが、ほぼ全てのタイプの毒素遺伝子構造が解明されたので研究内容の方向転換を試みるようになりました。藤井教授はボツリヌス毒素遺伝子の研究を続ける一方、従来よりインターフェロン(IFN)とウイルス感染、特にIFNによって誘導される抗ウイルス効果がウイルス感染によって抑制される現象について検討を続けていました。この点に基盤を置いて、ウイルス感染がIFNやサイトカインの情報伝達系JAK/STATにどのような影響を与えるものであるかを解明することとした。この領域を研究している教室のスタッフを紹介すると横沢紀子講師、横田伸一講師、岡林環樹助手が参加している、また現在国立感染症研究所の久保田耐先生(当時助手)にも参加していただいた。

ウイルス感染における生体の防御機構の中で、IFNの果す役割は非特異的防御機構(自然免疫)、および特異的防御機構のいずれにおいても極めて重要である。このことは、IFNシステムに関わる種々の蛋白因子遺伝子の欠損、変異が様々な疾患や易感染性と結びついていることが臨床面からも多数報告されていることから理解できる。

ウイルス感染に対するIFNシステムの関連性・作用機構は大きく2つのステップに区分して把握しなければならない。まず第一はIFNの産生誘導である。これはウイルス感染によるTAK1の活性化(dsRNAの場合はTLR3経路であるが、ウイルス感染による活性化機構は不明であり、ましてや各ウイルスによって共通か特異的かも判明していない)、活性化TAK1によるTBK1の活性化、続くIRF3のリン酸化、2量体形成に基づくIFN-βの誘導である。このIFN-βがオートクラインにIFN情報伝達系を活性化し、IRF7の誘導を導きIRF3との共同作用によって大量のIFNを産生させる。第2のステップは産生されたIFNが未感染細胞に作用し、IFN-JAK/STAT情報伝達系を活性化し、抗ウイルス活性を示す幾種類かの宿主細胞由来の蛋白質を誘導することによって抗ウイルス効果が発揮されるのである。従って、ウイルス感染に対する防御機構としては、感染初期におけるIFN-βの産生が極めて重要なポイントとなる。また、感染初期において、ウイルス感染によって活性化されたTAK1はP38/MAPKやNF-κBの活性化をおこし炎症性サイトカインの産生をも誘導するがその詳細な機構は不明である。

感染と言う立場から見れば、ウイルスは生体・細胞による初期IFN-βの産生を極力抑制し、大量のIFN産生を回避し、生体内でのウイルス増殖を進行させようとする。実際、多くのウイルスがIRF3の活性化を抑制する機能を備えていることが判明しつつある。また、ウイルスはIFN情報伝達系を阻害することによってIRF7の誘導を抑え後期(第2ステップ)におけるIFNの大量産生をも抑制しているばかりではなく、抗ウイルス蛋白の誘導も抑制し2重にIFNの抗ウイルスシステムを破壊させようとしているのである。このような、JAK/STAT系の阻害はIFN系以外のサイトカイン情報伝達経路にも様々な影響を与えることになり、免疫系全般への作用を含み、広範にわたり感染防御機構を抑制・変動させることに繋がるものと考えられる。一方、IFN情報伝達系を抑制できないウイルスは、IFNによって誘導された抗ウイルス蛋白質の機能を阻害するウイルス蛋白を発現させ、IFNの抗ウイルス効果を押し込め込むのである。これらウイルスによるIFNシステムの抑制機構について我々スタッフは解明を試みている。現在のところは第2ステップに関連する結果が多いが、第1ステップのTAK1、IRF3を含んだ、IFN-β、サイトカイン産生誘導に関する興味深いデータも出だしている。

これまでの研究結果について簡単に紹介してみたい、我々は主に麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、単純ヘルペスウイルスによるIFN情報伝達経路抑制機構を解明してきた。ムンプス

ウイルスのV蛋白がSTAT-1とSTAT-3を減少させることを明らかにした。STAT-1の分解機構は、V蛋白がRACK1 (IFN- $\alpha/\beta$ レセプターとSTAT-1間の介在蛋白)に結合し、IFNレセプターからSTAT-1を解離させユビキチン化を經由してプロテアソーム系によるものであることを示した。このユビキチン化においてSTAT-2, V蛋白とも複合体を形成していることから、V蛋白は分解系そのものにも関与していることが予想される。STAT-3もユビキチン化されプロテアソーム経路で分解されること、さらにV蛋白、DDB1、ROC1などとも複合体を形成していることが判明した。STAT-1, STAT-3の分解にはV蛋白のC末端(トリプトファンリッチ領域、システインリッチ領域)領域が重要であることも明らかにした(横沢講師と久保田助手が中心となって研究を進めた)。このようにムンプスウイルスはSTAT-1を分解することによってIFN- $\alpha/\beta$ およびIFN- $\gamma$ の両情報伝達経路を遮断する。ムンプスウイルスと同様のパラミキソウイルス科に属する麻疹ウイルスは全く異なる機構でIFN- $\alpha/\beta$ 情報伝達系のみを抑制する。麻疹ウイルスのV蛋白はIFN- $\alpha/\beta$ レセプターに結合しているJak-1(チロシンキナーゼ)に結合しJak-1のリン酸化(活性化)を阻害している、しかしIFN- $\gamma$ レセプターに結合しているJak-1には結合しないためIFN- $\gamma$ 情報伝達系は抑制されないことを解明した。さらに、大変興味深いこととして、麻疹ウイルスは上皮系細胞においてIFN非依存的にIRF1を誘導し、細胞増殖を停止させることを見出した(横田講師、岡林助手が中心となって研究を進めた)。単純ヘルペスウイルスは感染初期においてIFN情報伝達系に関与している全てのJAK (Jak-1, Jak-2, Tyk-2)のリン酸化(活性化)を抑制し、IFN- $\alpha/\beta$ , IFN- $\gamma$ 両経路を抑制する。IE遺伝子群の蛋白にリン酸化抑制機能をもつものがあると予想されるが、少なくともICP0, ICP4にはこの機能は見いだせなかった(横田講師、横沢講師が中心となって研究を進めた)。ムンプスウイルスによるSTAT-1の分解は、IFNによるアポトーシスの誘導や促進効果をも抑制することが判明した(横田講師、針谷靖史研究生、米倉宣之研究生らによって研究が進められた)。この研究の経過の中で、口腔扁平上皮細胞はIFN- $\gamma$ の処理によってHSP27(アポトーシスの抑制にも関わっているHSP)が減少しアポトーシスが速やかに誘導されること、しかもムンプスウイルスの感染、V蛋白の発現はIFN- $\gamma$ の情報伝

達系を抑制しHSP27の減少を阻止しアポトーシスの誘導に抵抗性となることを明らかにした。さらに、STAT-1は温熱ストレスによるHSP27の誘導に大きく関わっていること、従ってその蛋白レベルの減少は温熱耐性能の有意な低下をもたらすことを解明した(横田講師が中心となって進めた)。現在は、先に述べたウイルス感染初期(第一ステップ)における、TAK1とその下流経路に関してウイルスによる活性化、あるいは抑制機構の解明にも挑んでいる。

この他、インフルエンザウイルスに対するIFNの効果もPMLとの関係から伊木繁夫研究生(北海道衛生研究所)が研究を進めている、またSARS-コロナウイルスとIFNシステムについて(北海道大学大学院獣医学研究科 刈和宏明助教授、高嶋郁夫教授との共同研究)は岡林助手が研究を開始した。

我々は、ウイルスに関する研究とは別に細菌に関する研究も続けている。細菌に関しては臨床系の講座との共同研究(臨床系講座のテーマを応援)として行なわれているものが多い。ヘリコバクターに関する研究として、基礎分野ではLPSの抗原構造解析と疾病の関係、臨床分野では感染経路の同定(家族内感染)のため親子・兄弟からの分離菌についての分子疫学(札幌厚生病院小児科、今野武津子先生との共同研究)、ギラン・バレー症候群との関連性(札幌医大神経内科、千葉 進助教授、米倉豊実先生、田中真吾先生との共同研究)の解析などが進行している。ペニシリン耐性肺炎球菌に関しては、耐性菌の分子疫学に加えマクロライド耐性、ニューキノロン耐性機構の遺伝子レベルにおける解析を行なっている。最近急激に研究が展開しているToll like receptor (TLR)を介したサイトカインの誘導機構に関する検討も札幌大泌尿器科、塚本泰司教授、清水徹先生との共同研究として、膀胱上皮細胞における膜結合型CD14の発現量がサイトカインの誘導を制御していることを明らかにした。

我々それぞれのスタッフはウイルス分野、細菌分野に渡って二つ以上のテーマについて実験を担当しています(一人二役、三役をこなしています)。セミナーも週2回、それぞれの分野毎におこなわれています。全員がかなり実験の好きな集団であると感心する次第です。

息切れせず、健康に留意してこれからも頑張って行きたいと願っております。