

教室紹介

琉球大学・医学部・地域環境医科学講座 免疫学分野 田中勇悦

はじめに

ウイルス学会の皆さま、沖縄からこんにちは。私は、昭和29年秋田県生まれです。日沼頼夫先生の門下生で、大学院時代には菅村和夫先生（東北大学）に直接の御指導を賜りました。山本直樹先生（感染研）には、HIV-1研究で御指導を頂いております。今から7年前に縁があり、琉球大学に新設された沖縄・アジア医学研究センター感染免疫学部門を担当することになりました。そして昨年度、医学部と大学院の組織再編成があり、現在は医学部と大学院の免疫学分野を担当しております。

私の趣味は剣道という沖縄空手から生まれた護身武道です。ボランティアとして公民館などで週3回の剣道教室を開いています。世界チャンピオンは過去の栄光ですが、チビでシャイなのでなかなか信じてもらえません。ところで武道の心得のある者は、意識的に危険や避け争いごとを避けるものです。この頃ふと感じるのは、その心得のある微生物の存在です。ヒトの免疫と共存あるいは不顕性感染する微生物です。もしかしたら彼らには武道の奥義がインプリントされているのかもしれませんが。一方、チンピラやテロリストに相当するエイズウイルスやエボラウイルスなどもごまんといます。それぞれの個人が鍛え上げた百戦錬磨の免疫とて万能ではありません。

教室メンバーと研究テーマ

私達の研究室では、エイズウイルスと成人T細胞白血病ウイルスに抵抗するヒト本来の免疫について研究を進めています。それでは教室の紹介をしてみたいと思います。

スタッフは、私と講師の大隈君、助手の吉田君、研究員の田中（ワイフ）です。加えて大学院博士課程3名（仁村君、張君、李君）と修士課程1名（近藤さん）が日夜研究室の活動を支えています。現在は次のような研究を進めています。

- (1) hu-PBL-SCID マウスを用いた個体におけるワクチンおよび抗 HIV-1 薬の評価系の確立
- (2) 樹状細胞免疫で誘導される抗 HIV-1 抑制因子の同定と応用
- (3) CXCR4 アンタゴニストによる HIV-1 感染防御
- (4) 樹状細胞の新たな誘導培養方法
- (5) OX40/OX40L の発現制御と HIV-1 感染における機能解析

- (6) HTLV-I 感染病態と免疫異常の解明
- (7) HIV-1 受容体発現組換え VSV を用いた HIV-1 感染細胞の破壊と AIDS 治療の可能性

このように、HIV-1 や HTLV-I をどうにかして制御できないかというのがメインテーマです。

沖縄よいとこ、でも台風

医学部は、西原町の小高い丘に建っています。この辺の窪地には若干のハブが生息すると聞いております。太陽は太平洋から昇り、恵みの光をふり注ぎ、東シナ海をオレンジ色に染めて沈みます。亜熱帯なので不意にスコールがきます。沖縄には紅葉や雪はありませんが、ちゃんと春夏秋冬があります。冬はそれなりに寒くなりますが、平均して温和な気候です。しかし、台風がきます。台風は木をなぎ倒し電線を切ります。停電します。そこで台風が接近すると我が研究室では発電機2台をガソリン満タンにして徹夜の緊急態勢をとります。面白半分台風の時外に出ると自分の体がドドッとふっ飛ばされます。自然現象には勝てません。非情な台風でも沖縄にとっては恵みをもたらす訪問者です。沖縄では雨水が生活用水なのです。ここでは飲料水やミリQの原水なのです。春先、お天気で渇水状態が続くと農業も観光ビジネスも危機状態となります。それが、台風一発で解決できます。沖縄では台風は神であり鬼でもあります。北の地方の人は大雪でも文句を言いません。それが恵みであり、自然だからです。

研究室 in ワイルドランド

台風通過以外の時間は、教育研究が我々の仕事です。沖縄の湿気は肌の健康によいのだそうですが、研究室内では、除湿器を各部屋でフル回転させています。外では野鳥がさえずります。ある鳥は、「こっち、ちょっと、こい」と高い声で鳴きます。夜はヤモリがケケケと鳴き、研究室に忍び込む様々な虫をつまんでいます。3月には蟬が鳴き出し、ハタオリもでてきます。色々な生物がいるのです。面白いトンボを見つけました。びっくりしました。なんと、羽で枝を下に抱えて風に飛ばされぬようにしているのです。

夏至の夜、海の中ではサンゴが産卵する日だそうです。陸でも無数の昆虫が飛び交います。雨が降るとカタツムリの世界です。歩道にも大きなカタツムリが湧くようにでてきます。手のひら大の蜘蛛や空飛ぶでっかいゴキブリもいます。夜には、鳩より大きなコウモリが音もなく飛び交います。自衛隊の飛行機やヘリコプターもグオーンバタバタと医学部の真上に向かって飛んできます。これには未だ感動したことはありません。

ヒト化スキッドマウス

私達の得意分野の一つに、重度免疫不全 (SCID) マウスを使った個体レベルでの感染実験があります。SCID マウスには、ヒトの組織や細胞を移植することができます。市販されているのは C.B-17 SCID 系統ですが、NK 細胞が残っているので抗マウス IL-2R β 抗体での前処理が不可欠です。一方、NK も後天性免疫担当細胞も完全に欠損させた SCID マウスが最近作られました。NOG マウスと RAG2/IL-2R γ ダブル knock out マウスです。SCID マウスへのヒト PBMC 移植では、ドナーにより生着率が大きく異なります。予めドナーを選択する必要があります。

「もがき」と「ひらめき」

私が京大の小柳先生らと SCID マウスを使った HIV-1 の共同研究始めてすでに 10 年以上になります。研究当初、ベストドナーである私の PBMC はワーストドナーである小柳先生が SCID マウスの腹腔に移植していました。20 匹のマウス作るためには、200 ml の採血をします。マウス一匹に 1000 万個の PBMC が必要だからです。実験のためですが、このような採血を月に 1~2 回行うのは無理がありました。さらに困ったことに、この方法ではマウスは移植後 2 週間位までは元気ですが、それ以降には GVHD で死亡する頻度が高くなるのです。移植した人の細胞が宿主マウスを攻撃するのです。分身マウスの死は辛いものです。

そこで、思いついたのが脾臓への移植方法です。この方法だと移植 PBMC の数を 100 万~300 万個まで減らすことができます。脾臓は第二リンパ組織なので、人リンパ球も増えやすく他の臓器にはあまり浸潤しないだろうと考えたのです。うまく行きました。この方法だと 20 匹の hu-PBL-SCID マウスを作るのにも、採血は 50 ml ですみます。200 ml との差は歴然です。まさに秘蔵の脾臓でした。

脾臓への移植ではマウスを麻酔しますが、この段階でマウスを死亡させる頻度が高くて困りました。これを解決してくれたのは、現在 UCLA で活躍している友人の安博士でした。学会の帰りにちょっと韓国焼き肉を食べたいと UCLA に寄ったのですが、その時に安君に教えてもらったプロトコルを用いれば SCID マウスを安全に 3~5 分眠らせることができます。クロロホルムとネンブタール麻酔しか知らなかった自分にとっては驚きでした。そのうち、開いたお腹を縫合せずに外科用のアロン α で接着すればいいことにも気づきました。簡単になりました。

HIV-1 抑制免疫の誘導

hu-PBL-SCID マウス体内でヒトの免疫応答を誘導する試みが困難であることはすでに報告されていました。大きな原因は、ヒトの抗原提示細胞の欠如です。私は以前からこのキメラ個体でヒトの免疫や HIV-1 による免疫破壊を再現

できたらすごいなあと思っていました。それには、抗原提示能の高い樹状細胞 (DC) を培養することが必要でした。4 年前に助手の吉田君が来て、彼のマウスの免疫研究の経験をもとにヒト DC 培養を培養し、免疫誘導へのチャレンジを始めました。その頃、J.E.M にイタリアのグループが hu-PBL-SCID を DC 免疫して HIV-1 抗体を誘導したと報告しました。その方法はマウス一匹当たり 200 万個の HIV-1 感作 DC と 2000 万個の PBMC を腹腔に移植する系です。私達の系は、不活化 HIV-1 で感作した 40 万個の DC を 300 万個の PBMC とともにマウスの脾臓に移植する系です。この方法では免疫したマウスの血清に HIV-1 に対する人の抗体は検出できませんでした。失敗かと落胆しながらも、脾臓のヒト T 細胞を抗原提示細胞の存在下 HIV-1 粒子で刺激したところ、ヒト IFN- γ が特異的に産生されたのです。つまり、マウス個体において HIV-1 に対するヒトの細胞性免疫が誘導されたのです。オリオンビールで乾杯しました。次の感動は、HIV-1-DC 免疫マウスは全て CCR5 使用 HIV-1 に感染抵抗性を示したことでした。本当か？単なる間違いではないか？さっそく、色々な条件で追試してみました。本当でした。この感染抵抗性は、X4 HIV-1 で免疫したマウスでも誘導されました。この抵抗性は腹腔接種や試験管内では誘導が困難でした。やはり、異種動物ですが、第二リンパ組織環境を使うことミソだと思っております。

CD4 因子

その分子の本態は未だに不明です。以下はこれまでの研究で分かったことです。

- (1) 活性成分は血清に含まれ、in vitro では活性化 PBMC への R5 HIV-1 ウイルスのへの感染を阻止する。
- (2) X4 HIV-1 の感染は全く阻止しない。
- (3) ウイルスには直接効かず、細胞を前処理することで効果を示す。
- (4) HIV-1 免疫ヒト CD4+T 細胞が産生する。
- (5) その T 細胞が認識するエピトープは種々の HIV-1 蛋白上に存在する。
- (6) 易熱性であり、トリプシンで不活化される。
- (7) 抗体で調べる限り、既知のサイトカインとは異なる。
- (8) CD4 や CCR5 分子のダウンモジュレーションは起こさない。

この活性因子を CD4 因子と呼ぶことにしました。現在も分子の同定を進めていますが、活性が不安定なこともありなかなか前に進めない状況です。そんな中で幸運にも HTLV-I でのトランスフォーメーションによって因子を産生する細胞株が樹立されました。増殖率は悪いのですが、この培養上清を使って調べると、R5 HIV-1 感染抑制活性は primary 単球培養マクロファージや培養 DC で吸収され、マウスの細胞では吸収されません。つまり、putative receptor はこれらの細胞に多く発現されていることが分か

ります。そこで、現在は、マクロファージをラットやマウスに免疫して、受容体に対する単クローン抗体作製を始めました。アッセイには、大量のPBMCを使うので教室員全員の採血量が増えました。蛋白同定において、吸収操作で消えたスポットは何か?についても解析を進めています。牛歩ペースながらも期待と不安でドキドキしています。

おわりに

今年は真っ赤なデイゴの花が勢いよく咲いています。台風のあたり年の前兆だそうです。発電機に油を注しましょう。沖縄は島伝統文化と外来新文化がチャンプルー状態になっていると言われます。どちらもナイスです。郷土料理もいしい泡盛もいいです。温暖な気候もゆったりして好きです。こんな環境で、教授を含め教室のスタッフ皆が実験をしています。アカデミックな野望をもった大学院生の入学を歓迎します。東京から2時間かかりますが、ウリは、ここではいくら体を酷使して研究をしても自然が疲れを癒してくれることです。健康になり長生きできます。進学を考えている方はどうぞ御検討ください。

最後になりましたが、教室員ならびにヤモリ等ワイルドランドの生物を代表して日本ウイルス学会の皆さまの御発展を祈念いたします。



(注釈：エモリ大学アンサリ教授と)