

教室紹介

国立感染症研究所ウイルス第1部第4室

井上 直樹

〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

TEL : 03-5285-1111 内線 2528

FAX : 03-5285-1180

E-mail : ninoue@nih.go.jp

当研究室の前身をどう表現するかは人により違う可能性もありますが、水痘ワクチンの販売開始に伴う国家検定に対応するため、1984年に当時の国立予防衛生研究所（予研）ウイルスリケッチャ部長だった大谷明先生が、部内の人員再編成により第1室をヘルペスウイルス担当とされたことが発端と私は理解しています。その後ヘルペスウイルス室、さらに第4室と改名されましたが、水痘抗原と併せ水痘ワクチンの国家検定は引き続き当室の重要な業務となっています。この20年間に部の運営も大谷先生、北村敬先生、田代真人先生そして倉根一郎先生と4代の部長の指導のもとで発展をとげてきました。前室長の定年退官に伴い昨年度より私が後任を担当することになりましたのでよろしくお願ひ申し上げます。現在の室の構成は、私に加え、13年度に赴任した主任研究官の原田志津子、昨年度名古屋大西山教授の研究室より採用した研究員の野澤直樹の常勤職員3名、週2-4日の時間給非常勤職員4名、学術振興会外国人研究者1名、卒研究生や実習生などの新人を含めこの1年間で総勢14名となりました。しかしながら、毎日の平均で見ると9名、即戦力として期待できるのはわずか数人で、ピペットマンの使い方から始めて成果を出せるレベルにするために教育訓練に力を注いでいるところです。室を引き継いだ時には新設講座並みのインフラ整備も必要でしたが、幸いにして、多くの先生方のご配慮もあり、データが出なければサボっていると言われても仕方ないレベルにまでこぎつけることができました。

さて、私自身についてですが、東大医科研の内田久雄教授の指導のもとで遺伝学と分子生物学の手法を組み合わせ大腸菌プラスミドのDNA複製機構の研究を行い、85年に学位取得後当時医科研におられた中島捷久先生（名古屋市大）に予研の職を紹介していただき、ウイルス学の道に進むことになりました。91年から2年間留学した米国CDCでは、ヘルペスウイルス学の神様である Roizman 先生の弟子、Phil Pellett の指導のもと、ヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）、HHV-7のゲノム構造の解析、DNA複製開始点の同定、検査法の開発などに取り組み充実した研究生活をおくりました。個別のウイルス遺伝子産物の解析など分子生物学的側面に目を奪われていた当時の私にとって、疫学

や検査法の開発を含め感染症対策としてのウイルス学の役割を学べたことはその後の研究に大変有益でした。帰国後様々な葛藤のすえに、ビザの2年本国滞在条項がクリアできるのを待ち96年に「二度と日本には戻らない、実際戻れない」との思いで感染研を辞し再び渡米しました。ワシントン大学で2年間遺伝子治療を目的としたウイルスベクターの研究をしましたが（Nat Biotechnol 20 : 658, 2002）、留学時のボスに呼び戻され、CDCで数人の小さなグループをもちグラントも取り、それなりに順調にHHV-8とサイトメガロウイルス（CMV）の研究をしておりました。しかし、2つの事件が起こりました。300人以上の研究者に責任をもつ私の属する部門のDirectorが研究費の流用で内部告発され米国議会に査問された事件はScienceやNature誌のNews欄にも載る大騒ぎでしたからご存知の方も多いかもかもしれません。事情の一端を知る者として彼を弁護するならば、事の本質は全ウイルスに対応した予算がない状況下で、例えばエボラの研究予算で関連ウイルスも同時に研究することがなぜ研究費の目的外使用に当たるのかということであって、研究者の目から見ればほとんど言いがかりと言える事件でした。私のボスであったSection ChiefのPhilはこの事件の余波から極度のストレスで病気となり、私がChief代行の責を負う羽目になったのですが、予算や人事など生臭いことをスマートに英語で話すことは私にはできない相談でした。そんな時に9・11テロが起きました。外国人が中間管理職であることに対する無言の圧力とテロ対策最優先の中で地道に研究できる雰囲気はなくなり、Philも転出を決意したため、職探しをしました。CDCのグラントはNIHグラントのように持って動けないことなどから米国での職をあきらめ、感染研の先生方のご温情により不可能と思っていた日本の職に戻ってこれることができました。

余分なことはここまでにして現在進めている研究の方向性について書きます。感染研で研究する特徴を生かし、公衆衛生として重要かつ一大学の研究室ではやりにくいことをテーマに、世界のレベルの評価に耐えうる成果を目指して研究を進めたいと考えています。

1. 先天性CMV感染症の研究

ご存知のように、CMVは幼小児期に不顕性感染し生涯続く潜伏感染を成立させます。免疫抑制状態下の移植患者等において再活性化し重篤な病態を引き起こします。より深刻な問題は、妊婦の初感染に伴う胎児への先天性感染が流産・発達障害・感覚器障害などの原因となることです。先天性感染の頻度は欧米で出生児の0.1-0.5%程度とみられ

ており、我国の年間出生数約120万あたり数千人に感染が発生していると予想されます。実際、札幌医大のグループが行った新生児約8000人を対象とした調査でも31例の先天性感染が確認されています。感染胎児の約1割が出生時に明白な顕性感染症を呈し、さらに出生時無症候児の約1割以上が数年のうちに難聴などの後遺症を発症すると考えられています。両者を併せ年間少なくとも2,000-6,000人にひとりの新生児が影響を受けており、2,000人にひとりと言われる聴覚障害の20-40%がCMVによるとの米国での報告と併せて考えるとその対策は重要なものです。そこで、私たちは大きく3つの柱の研究を進めることにしました。

[1] 先天性CMV感染の実態把握とリスク因子の検討

新生児尿中のCMVを検出することにより先天性感染を判定できますが、全新生児から尿を液体として集め、これを輸送、保存、解析することには労力がかかります。そこで、紙オムツに組み込める特殊濾紙を用い少量の尿検体を簡便に収集し、そこから直径3ミリのディスクを打ちぬいて、ディスクごとPCRにかけて尿中CMVを迅速に検出できる検査法を最近確立しました。ちなみにDNAをディスクから溶出してreal-time PCRで定量できることも確認しました。成育医療センターの藤原成悦先生からのご援助を含め多くの施設の協力を得て、この方法を用いて年間数千人規模で新生児のCMVスクリーニングを行うパイロット調査を開始したところです。また、CDCのラボで客員研究員として2年間がんばってくれた古谷野伸先生（旭川医大小児科）を中心にして私達は、家庭が保管する乾燥臍帯（臍の緒）数ミリ程度から抽出したDNAを用い、PCRにより自然感染と区別して先天性CMV感染を確定診断する方法を確立しました（Ped Infect Dis J 23 : 481, 2004）。この方法を用いて難聴障害者における先天性CMV感染の役割を解析するプロジェクトで福島医大錫谷達夫教授（微生物）、大森孝一教授（耳鼻科）などの研究のお手伝いをさせていただいています。

CMVは約20万塩基対のゲノムからなりますが、多様性が高い特定の遺伝子群で各々数種類のゲノム型に分類されることが知られています。上記の調査において得られる分離株などを用いて、特定のゲノム型と病原性に関連があるかなどを今後検討していきたいと考えています。

[2] 先天性CMV感染動物モデル

単純ヘルペスウイルス以外のヒトヘルペスウイルス研究の難しさのひとつに宿主域が狭く各宿主固有の対応するウイルスを用いた感染動物モデルの必要性があることが挙げられます。CMVの場合、マウスやラットでは胎盤構造の違いから先天性CMV感染をおこしません。小動物としてはモルモットでそのCMVが経胎盤感染をおこします。さらに、15年ほど前に現感染研究所長の倉田先生らはモルモット

トを用いて経胎盤感染から聴覚障害を引き起こさせる先駆的な研究がされています。しかしながら、ゲノムの全塩基配列は決定されておられませんし、モノクローナル抗体も浜松医大の筒井祥博教授が15年前に取られたものが2,3利用可能なだけでヒトCMVやマウスCMVと比べて研究は格段に遅れていると言わざるを得ません。そこで、野澤研究員を中心に緑色蛍光蛋白を発現する組換え体モルモットCMVを作製し経胎盤感染様式を解析するとともに、BACへのクローニングを行うことで変異ウイルスを作製し病原性に関わるウイルス因子を分子生物学的手法で明らかにするプロジェクトを現在進めています。このプロジェクトには、感染研病理部の片野晴隆先生、筒井先生、錫谷先生、名古屋大の川口寧先生、愛知癌センターの磯村先生など多くの先生方のご指導とご協力を得、発展性のある共同研究として海外のグループに負けない成果を出せると確信しています。

[3] 新規抗ウイルス剤の迅速検索法の開発

ヒトCMVの増殖は遅く、感染力価を測定することが必要となる抗ウイルス剤の評価や中和抗体価測定などの研究や検査の制約となっています。免疫染色で時間を短縮できても大量の検体を扱う場合その労力はばかになりません。そこで、感染力価を決める方法がなかったHHV-8の迅速な力価測定のために樹立したレポーター細胞（J Virol 77 : 8147, 2003）と同様な細胞株をCMVについても最近樹立し、中和抗体価の迅速な測定に有用であることを確認しました。この細胞株を用いて新規抗ウイルス剤の迅速検索、薬剤耐性株出現の早期検出、感染初期過程の研究などに応用できるか検討を進めています。

2. 水痘ワクチンに関する研究

検定業務の一環として、LightCyclerのmelting curve解析により水痘ワクチンに特徴的な変異に復帰変異などが生じていないことを確認できるようにすること、プラーク法に代わる力価測定法を開発することなどワクチンの品質管理に関わる研究を行っています。

3. EBウイルスに関する研究

原田主任研究官は数年間ハーバード大Elliott KieffのもとでEBVのトランスフォーメーションの研究を行い、帰国後も一貫してEBNA2やEBNA-LPなどの機能解析を通して潜伏感染成立に関わる宿主とウイルスの相互作用を研究しています（J Virol 71 : 6611, 1997 ; 72 : 9948, 1998; Mol Cell Biol 2002 22 : 2136, 2002, PNAS 101 : 1033, 2004）。

このほかにもHHV-8感染における粘膜免疫の解析（AIDS 18 : 338, 2004）などを共同研究で行っています。

また、必要な時にどのヒトヘルペスウイルスについても検査等の協力ができるようにしております。私どもの研究テーマに興味をもたれ一緒に研究を行いたいと思われる方がおられましたらぜひご連絡下さい。