

## 教室紹介

北海道大学大学院医学研究科附属動物実験施設  
(大学院比較医学講座)

有川二郎

〒 060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 丁目

TEL: 011-706-6905 FAX: 011-706-7879

E-mail: j\_arika@med.hokudai.ac.jp

yosimatu@med.hokudai.ac.jp

### はじめに

北海道大学医学研究科は、札幌駅の北側に広がる広大な北海道大学のキャンパスのほぼ中心に位置しています。ここには、北海道大学病院、遺伝子病制御研究所、歯学研究科、薬学研究科が隣接しており、いわばメディカルゾーンとも言うべきエリアになっています。私の居ります医学研究科附属動物実験施設は、医学研究科の利用を中心として動物実験のセンター的な共同利用施設になっています。我が国の国立大学の中で、最も歴史のある附属動物実験施設で、昭和 49 年 (1974 年) に竣工しました。つまり、最も老朽化しているということになります。法人化前に改修することに出遅れてしまい、改修の目処が立たず、辛い状況です。私は、この動物実験施設の施設長もしていることから、施設の管理・運営、動物実験委員会委員長として適正な動物実験実施にも責任が有ります。しかし、本稿はウイルス研究の部分での教室紹介ですので、動物実験施設のことは割愛させていただきます。

### 教室構成と研究

私の研究室は動物実験施設の一階にあり、「比較医学講座」という名前で大学院担当講座として活動しています。時々、動物の臭いがしたり、ヒツジやブタの鳴き声が響きわたることもあります。全館冷暖房完備で夏でも暑さ知らずの環境抜群の場所です (北海道でも夏はかなり暑くなり研究室内は冷房がなければ、孵卵器がいらなくらいになってしまいますが、冷房設備のない研究室も結構あるのです)。メンバーは、私の他に、吉松組子助手の合計 2 名のスタッフ、1 名の大学院生、2 名の博士研究員、共同研究をしている他研究所、医学部や獣医学部の学生さんら 3 名でこじんまりとした講座です。

私の講座では、腎症候性出血熱 (HFRS) やハンタウイルス肺症候群 (HPS) の原因であるハンタウイルスを一貫して研究していますが、その経緯や理由ということで私の経歴を簡単に紹介したいと思います。

### 自己紹介とハンタウイルス研究開始の経緯



研究室のメンバー。クラーク博士像前にて。

「少年よ大志を抱け！」

私は北大の獣医学部を卒業し、その後、東北大学の医学部細菌学教室 (当時、石田名香雄教授) で 4 年間ほど研究生をしていました。そのときは、山根誠久先生 (現琉球大学教授) にウイルス学の手ほどきを受けました。同僚の小田切孝人先生 (現感染研ウイルス第 3 部室長) と共にインフルエンザウイルスを対象に、ヒト、ブタ、カモ由来インフルエンザウイルスの比較やそれら種間での伝播について疫学のおよびウイルス学的に解析していました。現在は高病原性トリインフルエンザが注目を浴び、カモ、ニワトリ、ブタとの関連が取りざたされていますが、ほとんど同じことを 25 年くらい前にやっていました。ただ、当時はトリ由来ウイルスによるヒトの感染例を発見しづらかったため、大きな社会問題にはなりません。その後、北大の獣医学部公衆衛生学教室 (当時、橋本信夫教授、現 高島郁夫教授) に助手として戻りました。その当時、日本全国の大学の動物実験施設で韓国型出血熱 (腎症候性出血熱) が流行していました。韓国型出血熱は、ハンタウイルスを原因として、実験用ラットに持続感染し、その糞尿中に排泄されるウイルスによって感染が伝播します。高熱、腎機能障害、皮膚や臓器からの出血が特徴です。日本全国で百数十名が発症し一名が亡くなりました。しかし、当時、原因ウイルスを分離していたのは、韓国の李教授のみで、我が国でも何とかウイルス分離を成功させ、流行を防止したいという強い希望が関係者の間でありました。札幌医科大学でも流行が発生し、そのときの感染源と目されるラットの臓器が、現在では考えられない様な多くの障害にもかかわらず、完璧に冷凍保存されていました。そしてその臓器からのウイルス分離のために、国立感染症研究所 (当時の

“予研”)に丁度そのときに完成した、P4施設を用いて、北村敬先生(当時感染研)らのウイルス分離プロジェクトに参加しました。幸い、ウイルス分離に成功し、以後、ハンタウイルス一筋?に研究を続けています。出来たばかりのP4施設で、“悲願”であった“virus hunting”に成功し、蛍光抗体の写真が撮れたと云ってはまた、乾杯!患者血清の抗体を測定出来たと言っはまた、乾杯!というように毎日の様に祝宴?が催されました。テレビや雑誌の取材も相次ぎ、研究に対する使命感や高揚感はいやがうえにも高まりました。1980年のことです。その後、私は、北大免疫科学研究所(現遺伝子病制御研究所)そして現在の北大医学研究科附属動物実験施設に移りましたが、北大獣医学部の高島教授、荻和助教授の公衆衛生学講座と連携を続けながら、現在まで一貫してハンタウイルスの研究を継続することが出来ています。幸せなことです。思い出しても懐かしいことばかりですが、そんな思い出話はこのくらいにしたいと思います(興味の有る方は、この“ウイルス”誌、第53巻、第2号の私の記事を参照下さい。当時のP4の写真が出ています)。

#### ハンタウイルスに関する研究

ハンタウイルスは、齧歯類媒介性の人獣共通感染症の原因ウイルスとして重要であるばかりでなく、齧歯類と共進化し、宿主齧歯類にのみ不顕性に持続感染を成立させるなど、病態面からも大変に興味深いウイルスです。そこで、私たちの研究室では、人獣共通感染症対策としてのウイルス学的研究(診断法開発、疫学研究)および病態面からの特徴(持続感染メカニズム、種特異的病原性)をウイルスの構造と機能からの解析、という大きく二つの柱を設定して研究しています。しかし、大学院生の諸君には、in vitroでの精細な実験から、動物実験、疫学調査、国際協力までを一通り経験し、幅広い知識と経験を身につけてもらっています。

以下にそれぞれの研究プロジェクトを簡単に紹介したいと思います。

#### 「ハンタウイルス感染症の疫学」

ハンタウイルス感染症は北欧・韓国・中国北部の腎症候性出血熱が報告されており、当初はどちらかといえば北方圏のウイルスといったイメージがありました。その後世界各地の港湾地区でウイルスを保有したドブネズミの存在が報告され、南北アメリカ大陸でHPS関連のハンタウイルスが報告されるなど「ネズミのいるところならどこにでもあるはずのウイルス」と認識が変わってきました。ハンタウイルスは齧歯類の進化とともに共進化しているとの考えが通説となり、現在はタイ・ベトナム・インド・インドネシアでヒトおよび齧歯類・食虫類について血清疫学・および

分子疫学を進めています。また、ハンタウイルスを解析することで宿主齧歯類の区別や類縁関係を明らかにできるのではないかという観点から、ほ乳類学の専門の方との共同研究も進めています。

#### 「ハンタウイルス感染症の診断法の開発」

単クローン抗体や患者血清を用いた詳細な抗原性の解析から、大腸菌で発現して使用できる交差反応性の強いハンタウイルス核蛋白の抗原部位を特定し、広範囲なハンタウイルス血清疫学に使用しています。さらに型特異的な立体構造・四次構造依存性のエピトープ(Yoshimatsu, J. Virol 2003)を再現する組換え抗原を作成し、通常のELISAによる血清型判別を可能にしました(Araki, J. Clin. Microbiol 2001, Nakamura 投稿中)。また、P2レベルの実験室でも実施可能な確認試験のために、中和試験の直接代替としてハンタウイルスの外被蛋白を外套したVSVシュードタイプウイルスによる中和試験も報告しています(Ogino, CDLI 2003)。また、多様な齧歯類の抗体検出に対応するため、多くの齧歯類の二次抗体の選定についても発表しています(Lee, Arch. Virol 2003)。これについても機会があるごとに範囲を拡大しています。このような研究は技術としては難しいものではありませんが、必要度は高く、予想以上にこの論文は引用されています。

#### 「ハンタウイルスの齧歯類での病態・伝播」

ハンタウイルス感染自然宿主齧歯類は、特別な疾患はおこさず持続感染が成立します。この持続感染成立機構を、マウスを用いて人工的な持続感染モデルを作製し解析を進めています(Ebihara, J. Virol 2000)。我々の開発した持続感染モデルは新生児期に致死量以下のウイルスを接種する(Araki, J. Virol 2003)、あるいはSCIDマウスに感染後に時期を見て脾細胞を移入するという方法で作成します(Araki, Virology 2004)。その結果、持続感染状態のマウスではCTLが抑制されているが、その後、120日ほどするとCTLが徐々に回復しそれに伴ってウイルスが排除される(持続感染が終了する)ことがわかりました(Araki, Virology 2004)。野生齧歯類のcatch and releaseの解析でも数ヶ月の持続感染後にウイルスが排除されているとの報告もあり、おそらくはウイルスが齧歯類と共存するためにこのような免疫抑制のメカニズムが齧歯類進化とともに選択されてきたのでしょう。現在はCTLエピトープを決定し(2004ウイルス学会発表)、抑制から回復に至る過程の解析を進めています。ヒトではハンタウイルスは出血熱を引き起こしますが、マウスモデルでの免疫抑制メカニズムとの比較からヒトの発症メカニズムの解明、ひいては治療法の開発につながることを期待しています。

#### 「ウイルスの構造・機能」

ハンタウイルスのエンベロープ蛋白 (G1, G2 あるいは Gn, Gc と呼ばれる糖タンパク) の構造と機能をバキュロウイルス発現蛋白 (Ogino, J. Virol. 2005) や VSV pseudotype (Lee, Vaccine 2006) を用いて, 中和活性エピトープの高次構造を解析し, 効果的なワクチン開発へ向けての基礎研究を続けています. また核蛋白についても, その診断抗原としての重要性から, 先ず抗原構造を明らかにしてきました (Yoshimatsu J. Gen. Virol. 1996). その後, 単クローン抗体を用いた解析と Yeast Two-hybrid 法を用いて多量体形成に重要な部位を明らかにしました (Yoshimatsu J. Virol. 2003). 次に核蛋白の細胞内での挙動を解明すべく Yeast Two-hybrid 法 Mammalian two-hybrid 法を用いて核蛋白と相互作用する宿主蛋白の検索を行いました. その結果 SUMO-1 付加系の一群の分子と相互作用することが示されました (Lee Virus Res. 2003). 現在のところ SUMO-1 自体の機能が解明されているわけでは無いためにその解釈はたいへん難しいのですが, 研究の展開にあわせて次のステ

ップに進んでゆきたいと考えています. さらには Antibody Array 等も組み合わせて, ハンタウイルス構造蛋白と宿主蛋白との関わりを明らかにすることで, 病態発現メカニズムを明らかにして行きたいと考えています.

#### おわりに

以上, 私達の講座と研究の紹介をさせていただきました. 近年, 感染症の研究が話題になることが多いですが, 当講座はハンタウイルスによる感染症 (腎症候性出血熱や肺症候群) という, 我が国では, 若干マイナーな感染症ではありますが, ハンタウイルスの基礎ウイルス学から診断・疫学, 国際経験までを一貫して行っているという点で特徴があると思います. 微生物学のみならず感染症学までをばひろく学べ, 経験出来ると思います. 小規模講座ですが, 有意な若い諸君が興味を持ってくれることを願っています. (講座のホームページは準備中です. 興味のある方は遠慮なく電話, メールで連絡下さい)