

教室紹介

大阪大学大学院医学系研究科 感染免疫医学講座
ウイルス学

上田啓次

〒 565-0871 吹田市山田丘 2-2

Tel: 06-6879-3783 Fax: 06-6879-3780

E-mail: kueda@virus.med.osaka-u.ac.jp

http://www.med.osaka-u.ac.jp:80/pub/virus/

本研究室の発足にあたって

本講座は旧感染免疫医学講座微生物学を受け継いで2009年7月1日に発足しました。ただ種々の事情により本講座は旧再生医療医学（腫瘍生化学）の母体を改変して編成されたため、発足段階ではHGFを中心課題とするチームとカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス（Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus=KSHV）やB型肝炎ウイルス（Hepatitis B virus=HBV）といったウイルスを題材とした研究チームからなるやや変則のスタートとなりました。当面は共存共榮されていくこととなりますが、将来的にはウイルス研究の一大拠点の確立を目指します。現在の体制は教授1、准教授1、助教2ですが、前述の通り、現段階では前教室員も教室職員とされているためすべてがウイルス研究を目指す人員だけの構成にはなっていません。しかしながら、もともとかなりのレベルの研究室であったことも幸いし、また教室立ち上げに関してはかなりの協力を得ることができ、苦しいながらもとりあえずスタートすることができました（写真）。既にホームページ（<http://www.med.osaka-u.ac.jp:80/pub/virus/>）Web上に公開しています。

研究室の行事

現在のところ人員がそれ程多くはないので、やりたいことのすべて～大半をこなすことは出来ませんが、論文紹介（所謂ジャーナルクラブ）と研究進捗状況報告会をそれぞれ週1回行っています。またウイルスチームではウイルス関係に特化したジャーナルクラブを月1回行っています。飲み会・宴会は適宜で大体季節に1回くらいのペースですが、この数はpublicationにdependすると思います。

医学部ウイルス学教育

教室の大学教育に関わる業務としてはウイルス学講義が51時間、実習が9時間あります。この時間数は私がこれまで在籍した大学の3倍以上に達する時間数で、各大学でウイルス学の取り扱いにかなりの差があるものと想像します。講義に関しては概ね半分位を当方の教室で担当していますが、特に各論を微生物病研究所の諸先生方を中心にかなり



いろいろあった2009年も終わった～2009年度忘年会の様子

お世話になっています。

研究テーマ

主な研究テーマはWeb上でも公開しています。下記にその内容を示しますが、これらがすべてではなく、この他にもKSHVやHBVに関していろいろやりたいこともあるし、遂行上のシステムも既にあります。また私としては更にKSHVやHBVに限らず、興味のある事項について私たちと一緒に研究するというスタンスで考えて頂けるかと思えます。つまり、何をするかというより誰とするかに重点をおいて考えてくれるかと思えます。私どももそういった研究者或は研究者の卵たちとの出会いで更なる展開が可能になるものと思っています。

1) ウイルスゲノムの複製・分配・維持機構の解明。潜伏感染状態におけるKSHVゲノム複製

KSHVの潜伏感染ではウイルスゲノムは一定数細胞内に維持されていますが、これを達成するには緻密な複製・分配・維持機構が存在しなければならぬと考えられます。その”緻密な複製・分配・維持機構”とはどのようなものなのでしょう。これまでの解析ではLANA (latency-associated nuclear antigen, ORF73) と呼ばれるウイルス潜伏感染遺伝子産物が中心的な役割を果たしているということに関して異論はないと思われます。LANAはウイルスゲノムの801bpを単位とする末端反復配列 (terminal repeat = TR) 内に2カ所の結合サイト (LANA binding site 1 & 2 = LBS1&2) をもってまして、KSHVの潜伏感染複製 origin (ori-P) はこのLBS (1 or 2) とこれに続く32bpの極めてGC richなセグメントで構成されます。多くのKSHV潜伏感染複製機構に関する報告ではLANAが宿主複製開始前複合体 (prereplication complex = pre-RC) の構成因子であ

る origin recognition complex (ORC) 1, 2, 3, 4, 5, 6 と相互作用することにより pre-RC を KSHV ori-P 上へリクルートすることで複製が開始されると説明されています。しかしこのことに関して私たちは少し異論を唱えています。何故なら、KSHV ori-P は LBS とそれに続く GC rich 配列である replicator (RE) で構成されていると考えられていますが、この両方がないと複製は起りません。複製の開始部位は周辺の AT に富んだ配列にあると一般的には考えられていましたが、最近の解析では特に好まれる配列はないと言われています。つまり LANA が ORC を呼び寄せることが可能なら LBS のみで複製は起ると考えられ、RE は必須の配列にはなり得ません。では LANA の最も重要な役目や RE の存在意味は何なのでしょう？エビジェネティクスを踏まえてこういった問題の解決に迫りたいと思います。

2) ウイルスが支配する細胞周期

さらに潜伏感染状態や溶解複製/再活性化状態でウイルスが能動的に制御する細胞周期調節機構の解明にも挑んでいます。LANA は一見極めて安定な蛋白と思われませんがリン酸化、ユビキチン化、SUMO 化など様々な修飾を受けていると考えられ、これらの修飾と蛋白の機能・質管理機構を解明したいと思っています。また溶解複製/再活性化では細胞周期が G1 で停止することが明らかになっていますがその詳細な分子機序はまだよくわかっていません。ウイルスが居ないと細胞周期が止まらないことや宿主遺伝子の遺伝子発現プロファイルはそれ程大きく変化しないことからウイルス遺伝子産物による翻訳後修飾とその機能的結末がもたらす現象と思います。

3) 潜伏感染・溶解複製/再活性化におけるウイルス遺伝子の発現調節機構の解明

KSHV 潜伏感染では 80~100 程もあるウイルス遺伝子のうち、基本的にはわずかに一領域 4 遺伝子のみ (lana, v-cyc, v-flip, kaposin) が発現し他の遺伝子は完全に不活化されています。比較的広い転写可能領域をもちプロモーター利用を替えて潜伏感染における遺伝子発現を行う Epstein-Barr virus (EBV) とはかなり異なった制御であると思われる。どのような機構でこのような発現する遺伝子としない遺伝子の隔絶がもたらされているのでしょうか？ヒトやマウスの globin 遺伝子座や igf2 遺伝子座、酵母の MAT 遺伝子座でみられるような所謂インスレーター機構がはたしていると考えていますが、遺伝子密度は高く遺伝子が敷き詰められている状況で本機構をはたらかせるには想像を絶するような極めて緻密な機構が存在するはずだと思います。epigenetic な状態の解明も含めて本機構の解明し、本機構を利用した発現ベクターの開発や応用にも取り組むたいと思っています。

4) ウイルスがもたらす細胞・宿主個体への影響

γ ヘルペスウイルスは癌との関連が密接であると考えられています。EBV がバーキットリンパ腫や胃がんなどに関

与するとされているように KSHV はカポジ肉腫 (Kaposi's sarcoma=KS), primary effusion lymphoma (PEL) の発生と密接に関わっていると考えられます。これらは殆どの場合 human immunodeficiency virus 1 (HIV-1) 感染による acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) 病態下で発生する癌でそういう意味では KSHV の発癌性は免疫不全下で発揮されるものと考えられますが、基本的に発癌能をもっていなければ起こりえない現象でしょう。その機構とは？ということになると LANA と pRb や p53 といった癌抑制遺伝子との相互作用による機能の不活化、GSK3 β との相互作用による Wnt シグナルの活性化等が関与するといった説明がなされています。しかし感染患者、つまり潜伏感染状態をもっている患者さんからこれらの癌の発生する確率は極めて低く単純に LANA 発現が癌化を惹き起こすと考えるのは早計ではないかと考えています。LANA 発現による癌化は in vitro でも証明された事実ではないのです。この点は EBV を含めて種々のウイルス (或はその他の感染症) と癌との関連性を考えると問題となる事項で多くの研究者が解決したいと努力しています。KSHV には発癌ポテンシャルをもつ遺伝子は他にもありむしろそれらの活性と癌化を議論した報告の方が多いと思われます。代表的なのは k1 と v-gPCR ですがいずれも溶解複製/再活性化の際にしか発現しません。KSHV による発癌は潜伏感染から溶解複製/再活性化の際におこる細胞の応答の一つとして現れる現象ではないのでしょうか？この問題の解決には様々な工夫が必要で時間も要すると思いますが、色々なアプローチをして解明に向けた努力をしています。また KSHV にはヒト遺伝子から取り込んだヒトホモログ遺伝子が多数存在しウイルスとしての特徴の一面を引き出しています。v-IL6, v-IRF はその代表ですが、これらの遺伝子の機能をもっと深く追求していくと面白いことがどんどん解ってくると思います。特に宿主因子との相互作用の観点から機能解明に挑んでいます。

5) ウイルスレセプターの分離・同定と感染/病態発症モデルの構築

ウイルスにとって感染系が存在することはそのウイルスの詳細な生活環の記述のみならず病態発症機構の解明やその evidence に基づく制御・治療法の開発に不可欠であると思います。多くのウイルスは特に vitro では本来感染しない組織由来の細胞株でさえも感染することがありますが、A 型肝炎ウイルス (HAV), papilloma virus, HBV 等にはまったく当てはまりません。これらのウイルスは発見からの歴史は長く臨床材料や分子生物学を駆使した解析は盛んに行われていますが、自然なコースとしての感染経路、感染性・能力などウイルス学*としての記述が全くできない現状があります。これまでも多くのアプローチがなされたにも関わらず感染レセプターの分離・同定に至っていないのはどういうことなのでしょう？現実問題としてヒ

トに感染し病気を引き起こしている訳ですから、細胞に侵入する際の第一義的な付着因子がないはずがないのですが・・・私どもの研究室ではウイルス学最大の難問の一つとも言える HBV レセプターの分離・同定に挑んでいます。前述の如くこの問題の解決は簡単ではなく、相当考え抜いた創意工夫と技術、忍耐・情熱が必要かも知れません。しかしながら本問題の解決によりもたらされる影響は計り知れないものがあると思いますので、忍耐強く夢の実現へ向かって歩いていこうと思っています。一方、ヘルペスウイルスは比較的 *vitro* での感染が容易で特定の組織に限らない広範囲の細胞に感染すると言われていました。KSHV も *vitro* では HEK293, Vero やマウス 3T3 にも感染すると報告されています。この事実が本当かどうかはさておいて、これらの細胞はすべて付着細胞で KSHV が潜伏感染すると考えられている B リンパ球若しくはその由来株への感染系は報告をみません。まだまだ未知のレセプターが存在すると思われませんが、この分離・同定には HBV レセプターと同様、極めて困難かも知れません。感染レセプターを分離・同定しマウスを基本とした感染モデルを構築することが最大の目標です。このことによってこれまで考えられなかった新事実が次々と解ってくるでしょうし、いろいろな分野へ与える影響も想像を絶するものになるでしょう!?

6) ウイルス工学によるワクチン創成技術やウイルス利用法の開発

私たちの取り組みはウイルスの精緻な営みを詳細に解明することであり、解ってくればくる程疑問もまた湧いてくるのが現実です。しかしながら知り得た事実をうまく利用し活用し得てこそ研究の意味が出てきます。多くの基礎研究は最初からそのようなことを想定してできるものとは限

りませんが、ウイルス研究からいくつかの有用な技術発展に繋がっています。よく知られているのはウイルスベクターです。我々が日常の実験で使っている発現ベクターのエンハンサー・プロモーターはウイルス由来のものも多くありますし、レトロウイルスやアデノウイルスベクターは臨床でも実際に使用されたウイルスベクターです。また単純疱疹ヘルペスウイルス (herpes simplex virus=HSV) の oncolytic virus などもウイルスを研究することで得られたウイルスです。先に述べたインスレーターも解明されれば応用が可能であると思われます。そういった研究の一つとしてウイルスの性質を利用した万能型ワクチン創成技術の開発を行っています。詳細は本文面には書けませんが、これもウイルスを知ることで考えられたアイデアです。

これらの中心的テーマについて KSHV と HBV を主な題材として究めていきたいと思いますが、課題を含めてウイルスにも特に強固なこだわりはありません。色々な制約を受けてなかなか思うように進展させられないこともありますが、私たちは創造的・発展的課題に、真剣に情熱をもって、かつ楽しく、分野を超えた新しいウイルス学が開拓する意気込みで進んでいきたいと思っています。

大阪大学へ移って 10 ヶ月経ちましたが、確かにいろいろな問題もあり、まだまだこれからです。活動がフルになるには数年を要するものと考え、焦らずじっくり今後の研究展開を考えながらやっていこうと思います。また研究も教育も結局は人がするものですから、ウイルス学の発展を期す上でも人材育成は欠かせない事項です。アイデアや実力が無視されるとどうしようもないですが、今後のウイルス学を支える人材育成にも労力を注ぎたいと考えています。