

教室紹介

群馬大学大学院医学系研究科・医科学専攻環境病態制御系・生体防御機構学・分子予防医学分野
磯村寛樹

〒371-8511 群馬県前橋市昭和町 3-39-22

TEL: 027-220-8000

FAX: 027-220-8006

Homepage: <http://www.med.gunma-u.ac.jp/med-organization/envmed/envmed-defense/153.html/>

はじめに

本年1月1日より、愛知県がんセンター研究所、腫瘍ウイルス学部（鶴見達也部長）から群馬大学医学部の分子予防医学分野に赴任してきました。愛知県がんセンター研究所には2003年の7月よりお世話になっていましたので、実に丸8年も在籍したことになります。過ぎてみれば本当にあっという間で、こちらに異動してきて9ヶ月が経ち、改めて腫瘍ウイルス学部の時に学んだことを一つ一つ思い返しています。

所在地の紹介と分子予防医学講座でのウイルス学研究の始まり

群馬大学のキャンパスは、前橋市に医学部・生体調節研究所・附属病院がある昭和キャンパスと教育学部・社会情報学部がある荒牧キャンパス、桐生市と太田市に工学部のキャンパスがあり、県内の3市に分かれて立地しています。そして、医学部は赤城山の南麓に位置し、緑に囲まれています。私達の研究室は基礎研究棟の5階にあるため、これらの山々を見渡すことができなかなか良い眺めです。また温泉に恵まれ、市内に数カ所の入浴施設を持ち、私は日曜日の朝は必ず入浴に出掛けています。また、伊香保、草津には大学のセミナーハウスもあり、私も赴任して早速、研修旅行という名目で教室の人達と伊香保セミナーハウスに1泊2日で宿泊してきました。伊香保のお湯は幾分温めで、まだ冬場であったこともあり、温泉にお湯を継ぎ足して入りましたが、出た後は温泉の効能で、文字通り体が芯から暖まりました。それに対し、草津の湯は伊香保とは異なり非常に熱く、とても長くは入ってられません。草津では毎年夏にクラシック音楽祭を開催しており、天皇、皇后両陛下もお越しになります。私も今夏、その音楽祭のコンサート鑑賞と避暑を兼ねて、夏休み休暇を利用して行って来ました。

分子予防医学講座は1947年に衛生学教室として始まり、前任の星野洪郎教授が1984年に着任され、レトロウイル



(実験室内での集合写真)

(後列左から清水(宣), 大上, 秘書, 補佐員, 小暮, 清水(晶)
前列左から中谷, 学生, 著者, 学生)

スの研究を開始されたことで、ウイルス学の研究が始まりました。2003年から現在の教室名になりましたが、医学部学生の講義は、衛生学の講義を公衆衛生学講座と共に担当し、ウイルス学の講義と実習を私達の講座で担当しています。本年度から新たに医学部の3年生に対する特別講義を感染研の井上直樹先生、片野晴隆先生、さらに北海道大学遺伝子病制御研究所の高岡晃教先生に非常勤講師としてお願いし、学生には非常に好評でした。

講座の現構成員と今後参加して頂ける予定の方々

現在の教職員は常勤職員が私の他、清水宣明講師、大上厚志講師、テクニシャンとして中谷陽子さんの他、秘書の方が一人と補佐員の方が一人です。つい先日、来年の4月1日付けで清水講師が愛知県立大学の微生物学担当教授に御栄転されることが決まりました。一方で、今年の11月から高田賢蔵先生のところで学位を取得した後、ドイツのHammerschmidt 研でEBウイルスのmicro RNAの研究に従事し、国立国際医療研究センターで自然免疫の研究をしていた瀬戸絵理さんに助教として赴任して頂いています(締め切りの関係で集合写真に間に合わないのが残念です)。さらに来年の4月からは群馬大学医学部第一内科から井上照基先生が博士課程の大学院生として参加することも決まっています。講座の常勤の教員ポストは教授他3名の定員であり、現在スタッフとして一緒に研究に参加して頂ける方を探しています。前任の星野先生の御指導で学位を取得後、イギリスのCollins 研でKSHVの研究に従事された皮膚科の清水晶先生も抄読会に参加していますし、外

科の小暮公孝先生も不定期に来ています。また、現在、2名の医学部3年生が週一回の抄読会に備えて毎日(?)、教室で論文を読んでいます。群馬大学医学部でも他の医学部と同様にM.D. PhDコースを行っており、若い人達に修士、博士課程の大学院生として研究に参加して頂くためにも、新しい体制をできるだけ早く構築していく必要があると思っています。

研究活動への取り組み

1. ヒトサイトメガロウイルスのウイルスゲノム依存的転写制御機構

私は留学以降、ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) をその主な研究の対象としています。HCMVは通常幼児期に不顕性に感染し、その後終生潜伏感染し、健康者では特に問題にはなりません。しかし、癌の化学療法やHIV感染、臓器及び造血幹(骨髄)細胞移植後等でヒトの免疫能が著明に低下すると、体内に潜伏感染していたHCMVが再活性化して肺炎、骨髄抑制等の重篤な合併症を引き起こすことが依然大きな問題です。それに対し現在ではバルガンシクロビルの予防投与が行なわれていますが、投与中止後にウイルスが再活性化するlate onset HCMV diseaseが大きな問題となっています。これに対し、特に欧米では移植後の入院期間が短いこともあり、移植後にHCMVに特異的な細胞障害性T細胞(CTL)を誘導する必要性が考えられているようです。アステラス製薬はこの目的で使用するためのDNAワクチンを米国ベンチャー企業から30億円で購入し、この目的のフェーズIIIの臨床試験を米国で進行しています。

一方、わが国の妊婦のHCMV抗体保有率は毎年1.1%ずつ低下し、妊婦に初感染が起こると胎児に発育不全、難聴等のいわゆるTORCH症候群を引き起こします。近年、米国のグループや感染研の井上先生らの研究から、原因不明の難聴の中にはHCMV感染症がその原因である場合が20%程度存在することが、聾学校でのレトロスペクティブな調査などからわかってきました。

しかし、HCMVはヘルペスウイルス属の中でも他のヘルペスウイルスと異なり、ヒトの体内での潜伏感染部位すら明確になっておらず、*in vitro*での増殖速度が遅いことも相まって、ウイルス増殖の分子基盤には依然、多くの不明な点があります。しかし、1999年、KoszinowskiらのグループによってHCMVウイルスゲノムの全長がBAC(bacterial artificial chromosome)にクローニングされ、私達を含めたいくつかのグループが、大腸菌の中でHCMV BAC DNAに高効率かつ迅速に任意の部位に任意の変異をいれることができる相同組換えの方法を独自に開発したことで、これまで多大な時間を要した組換えウイルスの作成が素早くかつ正確に行なえるようになり、HCMVの研究が飛躍的に進展しました¹⁻¹⁰⁾。

現在、当教室ではHCMVの構造蛋白をコードする後期遺伝子のウイルスDNA複製依存的な転写制御機構の分子の実体を明らかにすることを最大の課題としています。ヘルペスウイルスは細胞に感染すると、最初に宿主の転写因子によってウイルスの前初期遺伝子が活性化され、その前初期遺伝子がウイルス遺伝子の転写活性化因子としてウイルスのDNA複製に必要な初期遺伝子を活性化し、DNA複製が開始されます。そしてDNA複製に依存してウイルスの構造蛋白をコードする後期遺伝子が活性化されます。これらの厳密にコーディネートされた複製と転写はいわゆる“Replication Compartment (RC)”と呼ばれる核内の特定の場所で行われますが、どうして後期遺伝子の転写がウイルスDNA複製依存的に活性化されるのか、その分子の実体は依然わかっていません。

私達はPCNAの相同体であるHCMV DNAポリメラーゼ processivity factorであるUL44の発現量が感染後期に爆発的に増えることから、UL44の感染後期の役割を詳細に検討しました。その結果、ウイルスDNA複製に対する作用とは独立して、後期遺伝子の転写を促進していることを明らかにしました^{4,6,11)}。

さらに、 γ ヘルペスウイルスの報告を参考にしたホモロジー遺伝子の解析から、HCMV UL79, 87あるいは95欠損ウイルスではウイルスDNAの複製は進行するが、後期遺伝子の転写が起らないこと、すなわち、後期遺伝子の転写にはウイルスDNA複製によるテンプレートの増加に加えてこれらのトランス因子が必須であり、さらにこれらの因子はウイルスがDNA複製を開始する以前にUL44と共局在してpre-RCを形成することを明らかにしました¹⁰⁾。そして、UL79, 87および95はUL44とは独立して複合体を構成し、UL79欠損ウイルスではUL87とUL95がUL44と共局在しなくなることから、UL79が何らかの方法でUL87とUL95をpre-RCにリクルートするのではないかと考えて研究を進めています(未発表データ)。

UL79, 87, あるいは95欠損ウイルスはトランスにそれぞれの蛋白を発現する細胞でしか増殖できないため、体内でも増殖できない新規disabled infectious single cycle (DISC) ワクチン株となり得る可能性について思いを馳せています¹¹⁾。

参考論文

- 1) Isomura et. al., *J. Virol.*, 77: 3602-3614, 2003.
- 2) Isomura et. al., *J. Virol.*, 78: 12788-12799, 2004.
- 3) Isomura et. al., *J. Virol.*, 79: 9597-9607, 2005.
- 4) Isomura* et. al., *J. Virol.*, 81: 6241-6247, 2007.
- 5) Isomura* et. al., *J. Virol.*, 82: 849-858, 2008.
- 6) Isomura* et. al., *J. Virol.*, 82: 1638-1646, 2008.
- 7) Stinski M.F*. and Isomura H., *Med. Microbiol. Immunol.*, 197: 223-231, 2008 (review)
- 8) Lasmit et. al., *J. Virol.*, 83: 8893-8904, 2009.
- 9) Isomura* et. al., *PLoS One*, 5: e11901, 2010.
- 10) Isomura* et. al., *J. Virol.*, 85: 629-6644, 2011.

- 11) Isomura* et. al., *Expert Opin Ther Targets* invited review, *in press* (* corresponding author)

2. HIV co- receptor, ヒトサイトメガロウイルス US28 の HIV 増殖に及ぼす役割

前任の星野先生が HIV の新しい co- receptor を清水先生とともに数多く見つけられたことより、私も清水、大上両先生とともに、その研究を少しでも発展させていければと考えています。そこで、HCMV がコードする US28 遺伝子はウイルス性 G-protein coupled receptor (GPCR) であり、HIV の細胞侵入における co- receptor として機能することがすでに報告されていますし、HIV と HCMV が実際に重感染している細胞が AIDS 患者の網膜、脳、肺などから検出されているとの報告もあります。これまで、US28 の co- receptor としての役割は研究されていますが、US28 を介するシグナル伝達の HIV 増殖に及ぼす影響については明らかにされていません。そこで、現在 US28 を co- receptor として使用する場合、GPCR からのシグナルが HIV の増殖を抑制し、宿主の HIV 感染防御機構として働く可能性について研究を進めています。

3. ヘルペスウイルス感染が成立するための宿主応答の解析

ヘルペスウイルスが細胞に感染して、abortic な感染を乗り越えて溶解感染や潜伏感染を成立させるためにはどの

ような宿主応答が必要なのか、例えば過剰な前初期遺伝子 mRNA や蛋白の分解が必要なのではないか、と考えて新たな研究を進めていきたいと考えています。

最後に

私は岡山大学医学部で山田雅夫、吉田まり子両先生にヒトヘルペスウイルス 6 型の実験の手ほどきを受けて研究を始めました。そして、当時ドイツから御帰国されたばかりの大内正信先生の奥様である礼子先生に毎日実験ノートを見て頂きながら、手取り足取りでプラスミドの取り方から教えて頂きました。そしてなんとか学位を取得して、米国のアイオワ大学の Mark Stinski の研究室に留学しました。Stinski 博士はサイトメガロウイルスプロモーターの米国内特許を有していることから推察されるように、HCMV の基礎研究を何もなかったところから開始した研究者であり、HCMV について非常に多くのことを教えて頂きました。帰国後、愛知県がんセンター研究所の鶴見先生のもとで、ラボとしての研究の進め方を真下で勉強させて頂く機会を得ることができました。こうした先生方の一言一言を改めて思い返しなが、今度はなんとか私が少しでも若い人のウイルス研究をサポートしていければと思っています。出身学部等に関係なく、当講座の研究に参画して頂ける方を募集しています。いつでも気軽にお問い合わせ下さい。そして、一緒に研究を始めませんか。