

教室紹介

大阪大学微生物病研究所
感染症国際研究センター
新興ウイルス感染症研究グループ
岩崎 正治
〒 565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1
TEL: 06-6879-8262 FAX: 06-6879-8278
E-mail: miwasaki@biken.osaka-u.ac.jp
http://iwasaki-lab.biken.osaka-u.ac.jp/

1. はじめに

感染症国際研究センターは、感染症研究体制の整備・推進や人材養成の拠点形成を目的として、2005年に大阪大学微生物病研究所（阪大微研）と東京大学医科学研究所に設置されました。同センターでは感染症研究者育成のため、若手研究者を研究室主宰者（Principal Investigator, PI）として積極的に登用し、自律的な研究活動を行う機会を提供しています。このような趣旨のもと、私は阪大微研感染症国際研究センターに新しい研究室を開設することになりました。私たちの研究室は2018年2月に発足したばかりで、現在はテクニシャンと秘書に私を加えた3人構成です（写真）。ラボの立ち上げはスムーズに進んでいて、一通りの実験ができる環境が整っています。まだ決まったラボスケジュールやラボ行事のようなものはありませんが、今回は私のこれまでの研究経歴や今後の研究方針をご紹介します。

2. これまでの研究について

2.1. ウィルス研究との出会い

私は高校卒業後3年間予備校に通い、九州大学医学部に入学しました。やっとの思いで入った大学でしたが、そこは今度は医師国家試験のための予備校のようなものでした。知識を詰め込むだけの単純作業を繰り返す日々に退屈していた大学4年次に、九州大学に"MD-PhD コース"なるものが導入されることを知りました。MD-PhD コースは、医学部4年次修了後、大学院博士課程に入学、博士（医学）取得を経て、再び医学部に復学するものです。これは、若くして本格的な医学研究を開始することで医学部出身者も基礎医学研究を進路として考慮し易くすることや、基礎医学の素養をもったうえで臨床研究に取り組む医師（Physician Scientist）を養成することなどを目的に九州大学で取り入れられました。もともと研究志向ではありませんでしたが、「何か違うことをしたい」という思いに駆られていた私にとって、MD-PhD コースはとても魅力的なものに映りました。当時この MD-PhD コース開設にご専



研究室のメンバー

力され、世話をされていたのが九州大学大学院ウイルス学教室の柳雄介教授でした。「MD-PhD コース進学を決める前に、まずは研究がどの様なものか少し経験してからではどうか」とのご指摘を受け、放課後を利用してウイルス学教室で実験をする機会をいただきました。この時から私のウイルス研究が始まりました。

2.2. 麻疹ウイルス研究

放課後を利用してウイルス学教室での研究活動を通して、実験は楽しく、教室の雰囲気も自分に合っていましたし、麻疹ウイルスの細胞侵入受容体に関する研究などで世界的に高名な麻疹ウイルス研究室であることを知り、「ここなら熱い日々を送れる」と確信して大学院もウイルス学教室にお世話をすることにしました。

大学院で最初に取り掛かった研究テーマは「麻疹ウイルス増殖に寄与する宿主因子の同定と機能解析」でした。最初に与えられた研究テーマがその後の研究活動に大きな影響を与えるとはよく聞く話ですが、私の場合も例外ではなく、ウイルス増殖に関わる宿主因子の研究は今でも私の研究テーマの中心にあります。当時は准教授でした竹田誠先生（現国立感染症研究所ウイルス第三部部長）に実験の手解きを受けながら、麻疹ウイルスの効率的な増殖には必要だが機能発現メカニズムについては未知の非構造タンパク質、C タンパク質に注目し、C タンパク質に結合する宿主タンパク質を酵母ツーハイブリッド（Y2H）法で同定することを試みました。哺乳類細胞タンパク質発現ライブライヤーでのスクリーニングの前に、Y2H システムが機能することを確認するために様々な組み合わせでウイルスタンパク質間相互作用を検証しました。この実験の中で、スク

レオカプシドタンパク質 (N) とマトリックスタンパク質 (M) が相互作用することを発見しました。欠損変異体を用いた実験で、1) N-M 相互作用には N タンパク質の C 末端の 3 アミノ酸が必要であること、2) N-M 相互作用が M タンパク質によるミニゲノム抑制能や 3) 効率的な感染性子孫粒子産生に必要であることを見出し、この研究で博士(医学)を取得しました (M. Iwasaki et al. *J Virol.* 83:10374-10383. 2009)。宿主因子研究の方は苦戦を強いられ、私の手では完了させることができませんでしたが、研究を引き継いだ伊藤美菜子さん(現慶應大学博士研究員)のおかげで論文として発表することができました (M. Ito et al. *J Virol.* 87:9633-9642. 2013)。この他、麻疹ウイルス新規マウスモデル作出のための基盤技術として、感染細胞でのみ免疫応答が抑制されるシステムを構築しました (M. Iwasaki and Y. Yanagi. *PNAS.* 108:15384-15389. 2011)。

2.3. 留学

医学部では5年次から本格的な病院実習が始まります。医療の現場では当然ですが"確立された診断法、治療法"を間違いなく遂行することが大前提で、新しいことをするために割ける時間は非常に限られています。大学院での研究活動を経て病院実習に入った私には、"誰かが発見した知識"に忠実でいることがむず痒く、物足りないものに感じられました。医学部に復学した頃は臨床に進むか基礎に進むかまだ迷っていましたが、「誰も知らないことを明らかにする研究活動にもう一度どっぷりと浸りたい」と基礎研究に進むことを決心しました。しかし基礎研究者として生きていくには頼りない自信しか持ち合わせていなかった私は、世界のスタンダードを知るために留学をしたいと考えました。留学先には、米国スクリプス研究所の de la Torre 研究室を選びました。

医学部卒業後すぐの2012年4月に渡米し、アレナウイルスの研究を開始しました。de la Torre 教授は *Fields Virology* でアレナウイルスの章を担当しており、アレナウイルスの分子細胞生物学的な研究では世界の第一人者です。出張はほとんどしない方で、週末も含めほぼ毎日朝から晩まで研究所で仕事をしていました。実験も毎日します。しっかりと食事をしている姿は見たことがありません。夕方にフルーツを少し摂る程度で、ランチタイムもノンストップで働きます。そのエネルギー、パッションには敬服するばかりで、私も常に刺激を受けていました。また、de la Torre 教授の一つユニークな点は、決してラボを大きくしないことです。私は約6年間 de la Torre 研究室に在籍しましたが、ほとんどの期間でポスドクは私一人でした。ポスのこのようなスタイルのおかげで、de la Torre 研究室のプロジェクトの大部分を任せいただき、また分野を代表する世界有数の研究者とほぼ毎日ディスカッションできたことは、今後のラボ運営にも大いに役に立つ経験になりました。

de la Torre 研究室に留学した当時は、前任のポスドクが高効率なリバースジェネティクス系を確立したばかりで、さあ、これからバイオロジーに取り組むぞ、という絶好のタイミングでした。おかげで多岐にわたるプロジェクトに関わり、その多くを論文として発表することができました。その中で今後の研究につながるものをいくつか紹介したいと思います。

3. これから研究について

3.1 アレナウイルス

「アレナウイルスの研究をしています」と言うと、大抵は「え? アデノウイルス?」と返されてしまうほど一般には認知度の低いウイルスですが、重要なヒトの病原体です。アレナウイルスのうち、いくつかはヒトに致死的な出血熱を引き起こします。最も人類に対する影響が大きいものとしてラッサウイルスが挙げられます。ラッサウイルスは西アフリカで毎年10万~30万人に感染し、およそ5千人が亡くなっているとされています。さらにラッサウイルスに対する確立された治療法、予防法は存在しません。ラッサウイルスが引き起こすラッサ熱は、WHO が定める Blueprint priority diseases に指定されるなど、その対策が世界的な課題となっています。一方、全世界に分布するリンパ球性脈絡膜炎ウイルス (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) はアレナウイルスのプロトタイプとされ、biosafety level 2 (BSL-2) 施設で取り扱いが可能でラッサウイルスとも近縁であることから、ラッサウイルスのモデルウイルスとしても使用されています。

3.2. ラッサウイルス弱毒生ワクチン開発

ラッサウイルスが分布する西アフリカの地域は医療インフラが十分に整っていないため、疫学的観点からラッサウイルスのコントロールには一回の接種で長期間の細胞性、液性免疫を付与できる弱毒生ワクチンが最も有効な手段だと考えられています。従来、弱毒生ワクチンの開発には連続継代という手段が多く取られてきました。しかし、連続継代で得られたランダムな変異による弱毒化では、そのメカニズムを解明することはほとんど不可能なため、新たな変異を獲得することによる病原性の復帰を否定することができません。そこで、弱毒化メカニズムが明確な新しい方法による弱毒生ワクチンの開発が求められています。私は、ウイルスタンパク質間相互作用とウイルスゲノム RNA の関係を解析 (M. Iwasaki et al. *J Virol.* 89:5734-5738. 2015) する過程で、非翻訳領域である遺伝子間領域 (intergenic region, IGR) が翻訳効率に大きな影響を及ぼすことに気がつきました。さらに解析を進め、IGR に由来するウイルス mRNA の 3'-UTR 配列がウイルスタンパク質発現量を決定する重要な因子であること、また、組換え LCMV を用いた実験で、IGR を操作しタンパク質発現バランスを破

綻させることでウイルスを弱毒化できることを示しました (M. Iwasaki et al. *J Virol.* 89:12166-12177. 2015, 90:3187-3197. 2016). IGR の機能は異なるアレナウイルス種間で共通すると考えられますので、この方法はラッサウイルスを含むいかなるアレナウイルスにも応用可能であると期待されます。今後は IGR 配列による翻訳効率制御機構の分子メカニズム解明に取り組み、得られた知見を基に IGR 配列を改変し、安全性・有効性を高める fine-tuning 可能な弱毒生ワクチン作製の技術基盤を構築していきます。

3.3. 抗ラッサウイルス薬開発

世界的な航空、航海網の発達から、遠くアフリカの病気であるラッサ熱が日本を含む先進諸国に持ち込まれる可能性はゼロとは言えません。また、非常に高い致死率でありながら確立された治療法も予防法もないラッサウイルスはバイオテロに利用されることも危惧されおり、米国 CDC によって安全保障上最高レベルのリスク病原体 Category A に分類されています。ラッサウイルス分布地域でない国々では、ワクチンではなく、抗ウイルス薬が現実的な対抗手段となります。私は、抗ウイルス薬のターゲットとなりうる宿主因子の探索を行ってきました。ペプチドタグを付与したヌクレオプロテイン (nucleoprotein, NP) を発現する組換え LCMV を作製し、感染細胞溶解液のプルダウンサンプルから、質量分析によって NP と結合する 171 の宿主タンパク質を同定しました。これらの宿主因子のなかで、ATP1A1 (Na^+/K^+ -ATPase) に着目し、ATP1A1 阻害剤ウアバイン (強心配糖体) が LCMV やラッサウイルスの増殖を抑制することを見出しました (M. Iwasaki et al. *PLoS Pathog.* 14:e1006892. 2018)。強心配糖体にはジゴキシンのように鬱血性心不全の治療薬として臨床で用いられているものもあり、強心配糖体をラッサウイルス治療薬として応用できる可能性が示唆されました。このように、宿主因子研究はドラッグリバーパシング (リポジショニング) につながる可能性を内在していることも大きな魅力の一つです。この研究では ATP1A1 以外にも有力な宿主因子候補をいくつか同定していますので、今後はそれら宿主因子がウイルス増殖に果たす役割を研究していきます。

3.4. その他の新規プロジェクト

上記のようにこれまでの研究の発展として進めるものに加えていくつか新しいプロジェクトにも取り掛かっており、その一部をご紹介します。

ラッサウイルスや LCMV の細胞侵入にはマクロピノサイトーシスが利用されることを発見しました (M. Iwasaki et al. *J Virol.* 88:643-654. 2014) が、その過程は非典型的で詳細は不明です。さらに近年、ラッサウイルスの新規細胞内受容体として LAMP1 が同定されました。しかしながら他のほとんどのアレナウイルスでは、そのような細胞内受

容体を利用するのか、利用する場合その受容体分子は何か、わかつていません。このようにアレナウイルスの細胞侵入過程には未だ多くの疑問が残されており、その解明を進めたいと考えています。また、アレナウイルスは一般的に細胞傷害性の非常に弱い、非細胞溶解性 (non-cytolytic) ウィルスとして知られています。ウイルスが培養細胞に感染すると持続感染し、感染した細胞は何もなかつたかのように増殖します。これには宿主細胞の代謝系ホメオスタシスの破綻と再構築の過程が必須であり、その制御機構の解明に挑戦したいと考えています。他にもいくつかアイデア (だけ) はあり、今後当研究室に参加して下さる方とともに一つ一つ疑問を解明していくことを楽しみにしています。

4. おわりに

大都会と自然が共存し、30 分も電車に揺られれば京都や神戸など日本有数の観光地にも行けてしまう関西圏の中心に位置する大阪は住んでも楽しい都市です。研究面では、微研はウイルス研究においてこれ以上は望めないほどの環境が整っています。様々なウイルスを専門とする研究室や、免疫学、動物実験学を専門とする研究室が複数所属しており、共同研究も活発に行われています。また、共焦点顕微鏡などの高額機器は共用実験施設（中央実験室）に一通り揃っていて、自由にアクセスできます。さらに、サンガーシーケンス、質量分析、電顕、NGS などの受託解析も充実していて、比較的安価で依頼することができます。また、実益や効率を重んじる大阪の気風に育まれてきた文化でしょうか、どの研究室も互いに協力的で、微研には以前は縁もゆかりもなかった私のような若輩者にもいつでも救いの手を差し伸べてくれます。このような恵まれた環境の中、これまでスムーズに研究室の立ち上げが進み、本格的な研究を開始できています。

偶然が重なって飛び込んだウイルス研究の世界でしたが、柳雄介先生、竹田誠先生、Juan C. de la Torre 先生と国内外の一流の研究者であると同時に一流の教育者でもある方々に師事できたことは非常に大きな幸運でした。これまで教わってきたことを土台にして、そこに独自の色を加えながら、私たちなりのサイエンスを表現していきたいと思います。アレナウイルスを含む新興ウイルス感染症研究は近年ますます重要性が高まり、競争も激しくなってきています。そのような状況にあって私たちの研究室は、質の高い研究環境、研究資源を備えています。新興ウイルス感染症研究というと鬼気迫る語感がありますが、和気あいあいとした雰囲気のなか、日々研究に集中できる環境作りに努めています。私たちの研究室には、ポスドク、大学院生、テクニシャン等の様々な形で参加することができます。当研究室の研究に興味を持たれた方は是非、お気軽にご連絡ください。

