

感染症学（ウイルス学・寄生虫学分野）

1 構 成 員

	平成 25 年 3 月 31 日現在	
教授	1 人	
准教授	1 人	
講師（うち病院籍）	0 人	(0 人)
助教（うち病院籍）	1 人	(0 人)
診療助教	0 人	
特任教員（特任教授、特任准教授、特任助教を含む）	0 人	
医員	0 人	
研修医	0 人	
特任研究員	2 人	
大学院学生（うち他講座から）	3 人	(0 人)
研究生	0 人	
外国人客員研究員	0 人	
技術職員（教務職員を含む）	0 人	
その他（技術補佐員等）	5 人	
合計	13 人	

2 教員の異動状況

鈴木哲朗（教授）（H22.4.1～現職）

石井 明（准教授）（H9.5.1～19.3.31 助教授；H19.4.1～現職）

伊藤昌彦（助教）（H22.7.1～現職）

3 研究業績

数字は小数 2 位まで。

	平成 24 年度	
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	6 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	26.03	
(2) 論文形式のプロシーディングズ及びレター	0 編	
そのインパクトファクターの合計	0.00	
(3) 総説数（うち邦文のもの）	1 編	(1 編)
そのインパクトファクターの合計	0.00	
(4) 著書数（うち邦文のもの）	1 編	(1 編)
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	0.00	

(1) 原著論文（当該教室所属の者に下線）

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Ishih A, Kawakami C, Todoroki A, Hirai H, Ohori K, Kobayashi F: Outcome of primary lethal and

nonlethal *Plasmodium yoelii* malaria infection in BALB/c and IFN- γ receptor-deficient mice following chloroquine treatment. Parasitology Research 112: 773-780 (2012).

2. Nakashima, K., Takeuchi, K., Chihara, K., Horiguchi, T., Sun, X., Deng, L., Shoji, I., Hotta, H., and Sada, K. HCV NS5A protein containing potential ligands for both Src homology 2 and 3 domains enhances autophosphorylation of Src family kinase Fyn in B cells. PLoS ONE 7(10): e46634 (2012).

インパクトファクターの小計 [6.24]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Suzuki R., Saito K., Kato T., Shirakura M., Akazawa D., Ishii K., Aizaki H., Kanegae Y., Matsuura Y., Saito I., Wakita T., Suzuki T. Trans-complemented hepatitis C virus particles as a versatile tool for study of virus assembly and infection. Virology, 432: 29-38 (2012).
2. Fukazawa H, Suzuki T., Wakita T, Murakami Y. A cell-based, microplate colorimetric screen identifies 7,8-benzoflavone and green tea gallate catechins as inhibitors of the hepatitis C virus. Biol Pharm Bull. 35: 1320-1327 (2012).
3. Saeed M, Gondeau C, Hmwe S, Yokokawa H, Date T, Suzuki T., Kato T, Maurel P, Wakita T. Replication of Hepatitis C Virus Genotype 3a in Cultured Cells. Gastroenterology 144: 56-58 (2013).
4. Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T., Wakita T, Fukazawa H. Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus life cycle. Microbes Infect. 15: 45-55 (2013).

インパクトファクターの小計 [19.79]

(3) 総 説

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. 千原一泰、中島謙治、竹内健司、定 清直. Spleen tyrosine kinase (Syk)の生理的役割とその阻害薬の作用. リウマチ科 47(6):694-699, 2012.

(4) 著 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 鈴木哲朗 「C 型肝炎のウイルス学」、小池和彦 編 「ウイルス肝炎のすべて」 医薬ジャーナル社、東京、pp.188-196、2012.

4 特許等の出願状況

	平成 24 年度
特許取得数 (出願中含む)	5 件

取得特許：

1. 「糖鎖固定化ウイルス除去用基材、及びウイルスの除去器具」特許第 5140211 号、登録日：2012 年 11 月 22 日
2. 「新規組換え型ヒト C 型肝炎ウイルス様粒子とその産生方法」特許第 5035985 号、登録日：2012 年 7 月 13 日
3. 「感染性 C 型肝炎ウイルス粒子高産生系」特許第 5030065 号、登録日：2012 年 7 月 6 日

出願特許：

1. 「アミノ基含有親水性樹脂化合物、ウイルス除去用高分子基材、ウイルス除去装置、及びウイルス除去装置の作動方法」特願 2012-161536、出願日：2012 年 7 月 20 日
2. 「糖鎖固定化親水性樹脂化合物、ウイルス除去用高分子基材、ウイルス除去装置、及びウイルス除去装置の作動方法」特願 2012-161537、出願日：2012 年 7 月 20 日

5 医学研究費取得状況

	平成 24 年度	
(1) 文部科学省科学研究費	6 件	(975 万円)
(2) 厚生労働科学研究費	7 件	(4370 万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0 件	(万円)
(4) 財団助成金	0 件	(万円)
(5) 受託研究または共同研究	2 件	(538 万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	0 件	(万円)

(1) 文部科学省科学研究費

1. 鈴木哲朗（代表者） 挑戦的萌芽研究「RNA ウイルスゲノムの品質管理機構に関する基礎的研究」 70 万円（継続）
2. 鈴木哲朗（代表者） 基盤研究（B）「C 型肝炎ウイルス粒子形成過程におけるゲノムパッケージングの分子機構」 400 万円（新規）
3. 石井 明（代表者） 挑戦的萌芽研究「脳性マalaria 発症機序の解明と薬物治療の効果判定システムの構築」 215 万円（新規）
4. 伊藤昌彦（代表者） 挑戦的萌芽研究「宿主因子の網羅的同定による C 型肝炎ウイルスの新規創薬ターゲットの模索」 210 万円（新規）
5. 伊藤昌彦（分担者） 基盤研究（B）「C 型肝炎ウイルス粒子形成におけるゲノムパッケージングの分子機構」 40 万円（新規）
6. 伊藤昌彦（分担者） 挑戦的萌芽研究「RNA ウイルスゲノムの品質管理機構に関する基礎的研究」 40 万円（継続）

(2) 厚生労働科学研究費

1. 鈴木哲朗（代表者） 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 「培養細胞感染系の確

- 立されていない病原体の実験技術の開発と予防診断法に関する研究」 430 万円（継続）
2. 鈴木哲朗（代表者）肝炎等克服緊急対策研究事業「C型肝炎ウイルスの増殖制御機構解明と創薬のための分子基盤の確立に資する研究」 1350 万円（新規）
 3. 鈴木哲朗（分担者）肝炎等克服緊急対策研究事業 「ウイルス性肝炎の病態に応じたウイルス側因子の解明と治療応用」 240 万円（継続）
 4. 鈴木哲朗（分担者）肝炎等克服緊急対策研究事業「B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究」 100 万円（継続）
 5. 鈴木哲朗（分担者）B型肝炎創薬実用化等研究事業「B型肝炎ウイルスの感染複製機構の解明に関する研究」 1000 万円（新規）
 6. 鈴木哲朗（分担者）B型肝炎創薬実用化等研究事業「B型肝炎ウイルスの完全排除等、完治を目指した新規治療法の開発に関する包括的研究」 750 万円（新規）
 7. 伊藤昌彦（代表者）肝炎等克服緊急対策研究事業 「慢性C型肝炎患者由来 HCV 株感受性正常肝細胞による病原性発現機構の解明および薬剤評価系の構築」 500 万円（継続）
- (5) 受託研究または共同研究
1. 鈴木哲朗 株式会社 DIC 400 万円
 2. 伊藤昌彦 家畜改良事業団「種雄牛側からの生産率向上技術開発事業、凍結精液の品質評価法確立」 138 万円

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0 件	2 件
(2) シンポジウム発表数	0 件	0 件
(3) 学会座長回数	1 件	1 件
(4) 学会開催回数	0 件	0 件
(5) 学会役員等回数	0 件	4 件
(6) 一般演題発表数	2 件	

- (1) 国際学会等開催・参加
- 4) 国際学会・会議等での座長
 1. Tetsuro Suzuki, The 10th JSH Single Topic Conference “Hepatitis C: Best practice based on science” Tokyo, November, 2012.
 - 5) 国際学会・会議等での発表

ポスター発表

 1. Masahiko Ito, Ryosuke Suzuki, Takaji Wakita, Tetsuro Suzuki, Permissivity of HuH-7-derived oval-like cells to HCV infection and replication. 19th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Venice, Italy, October 2012.
 2. Masahiko Ito, Ryosuke Suzuki, Takaji Wakita, Tetsuro Suzuki, Epigenetic reprogramming of HuH-7 cells shift cellular permissivity to HCV, The 10th JSH Single Topic Conference “Hepatitis C: Best

practice based on science” Tokyo, November, 2012.

(2) 国内学会の開催・参加

2) 特別講演・招待講演

1. 鈴木哲朗「ウイルス性肝炎の現状」、第11回みちのくウイルス塾（平成24年7月,仙台）
2. 鈴木哲朗「ウイルス性肝炎の現状」、国立大学附属病院感染対策協議会（平成24年7月12日、浜松）

4) 座長をした学会名

1. 鈴木哲朗、第60回日本ウイルス学会学術集会、2012年11月、大阪市

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

- 鈴木哲朗 日本ウイルス学会 理事（広報担当、英文学会誌編集担当）
 石井 明 日本寄生虫学会 評議員
 鈴木哲朗 科学技術推進機構 専門委員
 鈴木哲朗 医薬品医療機器総合機構 専門委員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリー数は除く）	6件	0件

(1) 国内の英文雑誌の編集：

鈴木哲朗 Microbiology and Immunology、Associated editor、6件 PubMed/Medline 登録有、インパクトファクター 1.56

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

鈴木哲朗 PLoS Pathog (1回)、J Virol (1回)、Scientific Rep (1回)、PLoS One (3回)、FEBS Open Bio (1回)、Antiviral Res (1回)、Arch Virol (2回)、Dig Liver Dis (1回)、Hepatol Res (1回)、Microbiol Immunol (1回)、Biol Pharm Bull (1回)

9 共同研究の実施状況

	平成24年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	27件
(3) 学内共同研究	4件

(2) 国内共同研究

肝炎ウイルスの複製増殖機構、病原性発現機構：

静岡大学創造科学技術大学院、国立感染症研究所ウイルス第二部、同細胞化学部、同生物活性物質部、同血液安全性研究部、大阪大学微生物病研究所、神戸大学医学系研究科、東京大学消化器内科、同医科学研究所遺伝子解析施設、慶應義塾大学理工学部、愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター、理化学研究所横浜研究所、同基幹研究所、京都大学薬学研究科、名古屋医療センター

ポリオーマウイルスの増殖機構：

国立感染症研究所ウイルス第二部、国立長寿医療研究センター、神戸市環境保健研究所

抗マラリア剤の開発：

杏林大学、国立国際医療センター

哺乳類受精機構：

東京女子医科大学、国立成育医療センター研究所、千葉大学医学部、東京農工大学農学部獣医学科、大阪大学微生物病研究所、順天堂大学医学部、東京大学大学院新領域創成科学研究科

(3) 学内共同研究

坂口孝宣（外科学第二）、小林良正（内科学第二）：ウイルス性肝炎の研究

瀬藤光利（解剖学講座細胞生物学）：C型肝炎のリピドーム解析

永田 年（看護学）：マラリア原虫感染におけるサイトカインの動態と宿主生存との関係

山本清二（メディカルフォトンクス研究センター）、永田 年（基礎看護学）、加藤秀樹（動物実験施設）：脳性マラリア発症機序の解明と薬物治療の効果判定システムの構築

10 産学共同研究

	平成 24 年度
産学共同研究	1 件

1. 株式会社 DIC

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 肝由来細胞のリプログラミング、分化誘導と肝炎ウイルスライフサイクル

細胞リプログラミング&分化誘導技術を利用して、HCVに高感受性のヒト肝がん細胞株をリプログラミング化誘導することによってオーバル様細胞株を樹立した。この細胞株は、分化度に依存してHCVの感染複製感受性が変化する。このユニークな細胞株の性状を詳細に解析し、細胞の初期化に伴う遺伝子発現変動さらにDNAメチル化変動を明らかにした。初期化細胞は造腫瘍能が有意に低下することを見出した。

(伊藤昌彦、鈴木哲朗 他)

2. HCV 粒子形成機構

HCV 粒子には、HCV 遺伝子が選択的にパッケージングされるのかは全くと言ってよいほど明らかにされていない。「HCV 粒子の中にはどのような塩基配列の遺伝子がパッケージングされているか」を明らかにするため、培養細胞系で作製した HCV JFH-1 を粗精製し粒子内の RNA を次世代シーケンサーで網羅的に解析した。得られた結果から、HCV 粒子に取り込まれている HCV RNA の多くは全長あるいは全長に近い population であることが示唆された。粒子検体では全リードの 54% が非 HCV 配列であった。そこで、計約 450 万塩基のヒト由来配列について、HCV と相同性があるかを解析した。粒子に含まれるヒト遺伝子は、HCV 3'UTR 内の 2 領域及び NS5B 内の配列との相同性が相対的に高いことが示された。HCV ゲノムの 3'末端側領域に相同性の高いヒト遺伝子は HCV 粒子に取り込まれやすい可能性が考えられた。

そこで、HCV RNA の 3'非翻訳領域(UTR)をランダムに変異させたミニライブラリーを挿入したサブゲノムレプリコンを作製した。この変異ライブラリーレプリコンを Huh7 細胞へ導入、複製能を調べると、3'UTR 変異では複製能を保持した変異レプリコンが 20 種類以上存在することが示された。これらの変異体について、トランスパッケージング解析により、パッケージング能を調べたところ、3'UTR 内の最も 3'末端側 stem-loop 構造の stem 部分の点変異では HCV 粒子にパッケージングされなくなるが明らかとなった。HCV ゲノムのパッケージングには RNA 3'末端部分の stem-loop 領域が重要な役割を果たすことが示唆された。

(史 国利、伊藤昌彦、鈴木哲朗 他)

3. HCV ゲノム複製機構：HCV 複製複合体における ATP 制御の可視化と機能解析

一般的にウイルスは細胞で増殖する際にはエネルギーが必要であり、複製増殖に働く多くのウイルス酵素活性には ATP の加水分解エネルギーが重要であることが知られている。ATP は細胞の主要なエネルギー通貨であり、細胞内 ATP 濃度はできるだけ一定に保たれるようなしくみが存在するとされてきた。しかし、ウイルス複製増殖のように、細胞内局所でエネルギーが要求される場面でも細胞内 ATP レベルは一定なのか、あるいは局所的に ATP 濃度が異なることはありうるのか、は明らかにされてこなかった。生細胞内の ATP レベルを、FRET 技術を利用し可視化するプローブ(ATeam)を用い、HCV 複製細胞における ATP ダイナミクスを解析した。肝癌由来細胞株 Huh7 細胞と比較して、HCV レプリコン細胞では細胞質における ATP レベルが低下していた。一方、NS5A の C 末側に ATeam を融合した JFH-1 サブゲノミックレプリコン発現系を構築し、複製複合体における ATP レベルを解析したところ、複製複合体における ATP レベルが亢進していた。ウイルス遺伝子が複製している細胞、細胞内局所で ATP を可視化すること、定量的に解析することに成功した。ウイルスによって細胞内の ATP 分布が攪乱されることをはじめ明らかにすることができた。

(中島謙治、鈴木哲朗 他)

4. HCV 感染と肝臓脂質代謝

HCV 感染は脂質代謝異常や糖代謝異常などを引き起こしやすいことが明らかになってきている。慢性 C 型肝炎患者においては、他の肝炎に比べ肝脂肪化の合併頻度が高く、抗 HCV 療法によるウイルス量の低減によりこの合併症も改善されることが報告されている。また、このような代謝異常が慢性肝炎の進行に影響すること、HCV 感染肝においては、脂肪肝の共存により肝線維化の進行や肝細胞癌の合併が増強されることも示されている。しかしながら、HCV 感染に伴う脂質代謝異常の全容、肝脂肪化の分子機構等は未だ十分には解明されていない。HCV 感染に伴う脂質代謝異常の実態を明らかにするため、HCV を感染増殖させたヒト肝臓キメラマウスにおける肝臓の脂質分子(PC, LPC, TG)の変動を、質量顕微鏡を用いて網羅的、包括的な解析を行い HCV 感染肝臓に特徴的な脂質発現変動を見出した。

(伊藤昌彦、鈴木哲朗 他)

5. HCV 感染と小胞体ストレス応答

HCV 感染に伴って、小胞体ストレス応答に関与する XBP-1 のスプライシングが誘発され、その下

流に位置する小胞体関連蛋白分解 ERAD が活性化されること、ERAD 経路は、HCV E1, E2 蛋白を EDEM との結合を介して SEL1L 含ユビキチンリガーゼ複合体へリクルートし、プロテアソーム分解に導くことによって、感染性 HCV 粒子産生の制御に関与することを見出した。HCV 増殖期において、ERAD 系の関与によって HCV 粒子産生が抑制されることにより、ウイルスレベルが適度に制御され免疫系からの逃避、持続感染の成立に寄与している可能性が考えられた。

(鈴木哲朗 他)

6. HCV 感染による肝線維化誘導の分子機構

肝臓の線維化は、主として C 型肝炎ウイルス (HCV) または B 型肝炎ウイルスの感染に起因する。線維化の蓄積進行の結果、肝硬変に進展しひいては肝がん発症へ繋がる。肝炎ウイルス感染に起因する肝線維化の分子機構は十分に解明されていない。HCV 感染に起因する肝星細胞の活性化機構を明らかにするため、1) HCV 感染肝細胞からのパラクライン因子による肝星細胞の活性化及び 2) 細胞間移行した HCV による肝星細胞の直接的な活性化の両面から解析を行っている。

(伊藤昌彦、鈴木哲朗 他)

7. HCV 産生を抑制する細胞内抗体の作製と利用

肝がん発症の原因因子として最も重要な HCV の Core タンパク質を標的として、既承認及び治験進行中の抗 HCV 薬とは作用機序の異なる新規治療法の開発を目指す。HCV Core は粒子形成に必須であるとともに、HCV 関連肝がんに関与すると考えられている。しかしながら、酵素活性を持たないことなどからこれまで創薬標的になっていなかった。Core に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマから、抗体の可変部の遺伝子をクローニングし、シングルドメインまたは scFv を発現するプラスミドを作製した。これらの抗体分子と Core との相互作用を免疫沈降法によって確認した。また抗体分子を発現させる事により、感染細胞からの感染性 HCV 産生量の減少が認められた。この事から、抗 Core 細胞内抗体/イントラボディは培養細胞における HCV の増殖を抑制出来る事が示唆された。

(中島謙治、伊藤昌彦、鈴木哲朗 他)

8. 阻害剤耐性肝炎ウイルスの解析

C 型肝炎患者中 HCV のプロテアーゼ阻害剤に対する感受性を、実施の酵素活性を指標として評価するため、HCV 複製検体から RT-PCR/試験管内転写&翻訳によって HCV NS3 プロテアーゼを簡便に調製し NS5A/5B 切断活性を定量する技術の開発を行った。本研究成果は、近い将来問題となることが予想される薬剤耐性 HCV を克服するための治療法の開発に資すものと期待される。

(千田剛士、伊藤昌彦、鈴木哲朗 他)

9. B 型肝炎ウイルス (HBV) 遺伝子発現における転写後調節機構

HBV 遺伝子発現におけるプレゲノム RNA の核外輸送及びスプライシングには、PRE (post-transcriptional regulatory element) と呼ばれる RNA 領域が関与することが報告されているものの、PRE と結合して実際に転写後調節に機能する分子は何かなどその分子機構は全くといってよいほど

明らかにされていない。今年度、ヒト肝がん細胞の核抽出物を用いた HBV-PRE 結合因子の網羅的な解析から、23 種類の宿主細胞タンパク質を同定した。これらには RNA の二次構造、二重鎖 RNA を認識するもの、mRNA の輸送、スプライシングに関与するものなどが含まれていた。今後、これらの宿主因子の機能解析を通じて HBV-RNA の核外輸送、スプライシングの分子機構を明らかにしていく。

(中島謙治、千田剛士、伊藤昌彦、鈴木哲朗 他)

10. HBV の遺伝子発現制御機構

HBV の遺伝子型依存的な複製増殖、病態発現の分子機構は未解明である。HBV 遺伝子型 A と C の遺伝子発現調節を比較解析した。その結果、遺伝子型 C は遺伝子型 A に比べ、1) HBe 抗原を高産生すること、2) HBe 抗原、HBc 抗原、プレゲノムの発現を制御する core promoter/enhance 活性が高いことが示された。この転写活性の差は enhancer II, basal core promoter の違いに起因する可能性が示された。

(李 媛、孫 鎖鋒、中島謙治、伊藤昌彦、鈴木哲朗 他)

11. 脳性マラリア発症機序の解明と薬物治療の効果判定システムの構築

マラリア原虫感染後の重篤な合併症の一つである脳性マラリアの発生機序の詳細は明らかとなっていない。実験的にネズミマラリア原虫感染マウスで脳性マラリアに類似した症状が観察される。そこで脳性マラリアのマウスモデルをさらに発展させ、イメージングによりリアルタイムに原虫の感染動態を評価する方法を確立し、脳性マラリアの発生機序の時間的・空間的变化を明らかにすることを目的として本研究を開始した。GFP遺伝子導入原虫をB10マウス5頭の腹腔内に注入し、宿主マウス流血中の赤血球内部の原虫をマウスの脳表の血管で観察するために、全身麻酔下にてマウスの頭蓋骨に小さい骨窓を設け生体内蛍光イメージングを行った。結果、感染後3日目(明らかな運動障害は認められない)の血管内の血流と感染後6日目(明らかな運動障害が認められる)の血流の間に違いが認められた。リアルタイムに原虫の感染動態を評価する方法を確立することができ、さらに改良を加えることで治療方法を検討するシステムに応用可能と思われる。

(石井 明 他)

12. 哺乳類卵子における精子核認証機構の解明

精子染色体に含まれるプロタミンの動態、結合分子等を明らかにするために、プロタミン (Prm1, Prm2) に対するウサギポリクローナル抗体を作製し、同抗体が精子頭部を認識することを免疫染色によって明らかにした。後期精子細胞内の余分なプロタミンはポリユビキチン化され分解されることから、成熟精子核プロタミンのユビキチン化の状態を調べた結果、ユビキチン化されていないことが明らかになった。受精後の卵細胞内でのプロタミンのユビキチン化などの修飾、特定分子の結合を視野に入れ、解離のきっかけとなるメカニズムの解析を行っている。哺乳類における受精後の精子プロタミンの解離や、精子核の脱凝縮メカニズムの解明につながるものと期待される。

(伊藤昌彦)

13. 精子形成における phospholipase C-zeta の関与

PLCZ1 ノックアウトマウスの解析から、精巣重量に有意な減少が認められることを見出した。さらに詳細に調べた結果、精細管腔内、精巣上体尾部には成熟した精子が認められず、円形精子細胞様の細胞が多く存在していた。核型および発現する遺伝子から、これらの細胞は減数分裂を完了した円形精子細胞であることが示された。一方で、野生型マウスの円形精子細胞内では非常に高頻度の Ca²⁺ オシレーションが起きていることが観察された。これまでの結果から、PLCZ1 は卵活性化だけでなく、精子形成においても重要な役割を果たしていることが明らかになった。また、円形精子細胞でのカルシウムシグナルが精子形成に関与している可能性が示唆された。

(伊藤昌彦)

14. 受精関連因子の網羅的解析による凍結精液の受精能新評価法の構築

本邦の畜産業において乳用牛凍結精液を用いた人工授精受胎率は年々低下している。精子数、生存率、運動性等の精液性状検査では異常がみつからないが、原因として雄牛側の要因が考えられている。そこで、種雄牛の精子タンパク質のうち受胎性に影響を与える因子を明らかにし、当該因子を利用した指標の開発を目的として研究を行っている。これまでの定量 RT-PCR 解析から、精巣上体もしくは精漿タンパク質である BSP1, BSP5, APOB, CRISP1 mRNA が、低受胎、精液性状不良のウシ精巣で発現低下していることが明らかになった。これらの遺伝子の発現低下が年々低下する受胎率に影響している可能性がある。これらの遺伝子が受胎率を示すよい指標となるか否かを、多検体の受胎不良ウシ精巣および凍結精液を用いて解析する予定である。

(伊藤昌彦)

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. HCV の感染、粒子形成過程を解析するためのモデル系として、ウイルスゲノムを粒子ヘトランスにパッケージングするトランスパッケージングシステムを確立し、これによって trans-complemented HCV particle (HCVtcp) の作出に成功した。HCVtcp の感染モデルを利用して、粒子形成に関連した新たな adaptive mutation を同定することができた。この HCVtcp は、ウイルス学的に有用であるだけでなく、感染が single-round であることから安全性が高いこと、また細胞傷害性 T リンパ球の誘導が期待できることから治療用ワクチンへの応用も考えられる (Virology, 2012)。

2. HCV の 6 種類の遺伝子型のうちの 1 種、遺伝子型 3 は、HCV の全遺伝子型の中で最も肝臓の脂肪化と関連が深いことが知られているものの、培養細胞での複製系が確立されていなかったことから研究が遅れていた。本研究では、初めて、遺伝子型 3a 株の遺伝子複製系を樹立した。(Gastroenterology, 2013)。

3. 産学共同研究の成果として、3 件の特許取得、2 件の特許出願を行った。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

肝炎ウイルスの持続感染者は、HCV と HBV を併せて、現在我が国で 350 万人にのぼる。両ウイルスは肝炎、肝硬変、肝細胞がんの主要因である。世界的には、HCV は 1.7 億人、HBV は 3 億人もの感染者が存在する。

我々は、HCV のライフサイクルの調節機構の研究から、粒子形成の初期課程に重要な役割を果たすウイルス非構造タンパク質とその機能を明らかにし、粒子のアセンブリー過程において小胞体関連タンパク質分解系がウイルスタンパク質の品質管理に機能していること、成熟粒子上の脂質成分が粒子構造維持、感染性に重要であることなど粒子形成の分子機構に関する新たな知見を見出してきた。また、HCV ゲノム複製に関して、ウイルスタンパク質 NS4A、NS5B とそれぞれ結合し HCV RNA 複製調節に働く宿主因子を同定しその機能を明らかにした。さらに、トランスパッケージングシステムなど HCV 研究における新規解析法を確立した。

現在、これらの研究を発展させ、HCV ゲノムパッケージング、粒子構成蛋白のアセンブリー、細胞内輸送、細胞外放出の分子機構、また HCV ゲノム複製調節機構の解明を進めている。ウイルス生活環におけるこれらのプロセスでは、蛋白輸送、糖鎖修飾、脂質代謝、品質管理等を担う宿主因子群の関与が不可欠である。HCV 蛋白とこれらの機能因子、細胞内ネットワークとの相互作用を解析していくことで、HCV 生活環の理解が進むだけでなく新たな肝炎治療薬開発のための分子標的を見出すことが期待される。また、HCV をツールとして分子輸送システム、メンブレントラフィックの分子機構の解明等、細胞生物学的にも意義のある研究を進めていきたいと考えている。

一方、HBV についても、現行治療薬の効果が限定的であることから、ウイルスライフサイクルに関する新知見を基盤とした新たな阻害剤開発が待望されている。我々は、HBV のゲノム DNA 複製、転写、転写後 RNA プロセシングの各過程について宿主—ウイルス相互作用の詳細解析を開始した。

マラリアは今なお人類にとって最も重要な健康問題の一つである。本研究グループにおいて、マラリア研究に関する重要テーマが同時に進行し、有意義な結果が得られていることは、今後の研究の進展に優位である。サルモデルで検討することにより、原虫の TS をターゲットとする一連の研究は進展し、新規のマラリア治療法が確立されることや病態に関する新たな知見を明らかにするが大いに期待できる。