

遺伝子からのニパウイルス合成に世界で初めて成功

甲斐 知恵子

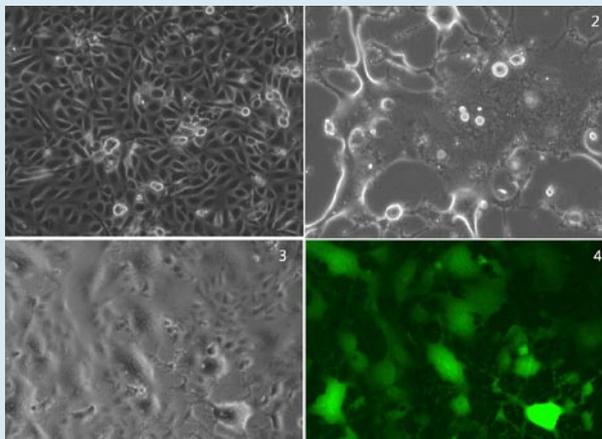
東京大学医科学研究所の甲斐知恵子教授らはリバーシジェネティクスの技術を確認し、ニパウイルスの人工合成に世界で初めて成功した。ニパウイルスは、1994年マレーシアに突如として現れた。以来、アジア各地で小さな流行を繰り返し、致死率が高い。今回のウイルス合成によって、病原性を発揮するメカニズムの解明やワクチン開発が進むと期待されている。

遺伝子からウイルスを合成する

Nature Digest — なぜ、リバーシジェネティクスの技術を用いたのですか？

甲斐 — リバーシジェネティクスは、遺伝子からウイルス*¹を人工合成し、さらにその遺伝子进行操作できる唯一の手法で、感染や増殖、毒性の機構などを解明する強力なツールになるからです。ウイルスの全ゲノムのcDNA (mRNAからそれを鋳型として合成されたDNA)をプラスミドにつなぎ、それを動物細胞に導入させることで、天然のものと同じウイルスを作らせることができます。一部のRNAウイルス(+)鎖RNAウイルス)では、基本的なリバーシジェネティクスの技術が1970年代後半に確立され、1980年代にさまざまな動物ウイルスに拡大されてきました。

DNAウイルスやレトロウイルスは生活環の中で2本鎖のcDNAを作るので、cDNAをプラスミドにつないで細胞に導入すれば容易にウイルスが得られます。(+)鎖RNAウイルスでも、ウイルス合成は比較的容易です。しかし、ニパウイルスは「1本鎖のマイナス鎖をもつRNAウイルス((-)1本鎖RNAウイルス)」で、ウイルスの生活環の中ではcDNAを作りません。そのために、ゲノムから人工的にcDNAを作って動物細胞に導入しただけでは、タンパク質を合成することはできても、ウイルス粒子まで作り出すことができませんでした。



Vero細胞(1)に遺伝子から合成したウイルスを感染させると親株と同様の細胞変性を起こす(2)。リバーシジェネティクス系を用いて、EGFP遺伝子を挿入したウイルスゲノムcDNAから回収したウイルスを感染させ(3)、蛍光顕微鏡で観察すると、感染細胞は蛍光を発する(4)。

ND — では、どうやってニパウイルスの合成に成功したのでしょうか？

甲斐 — 1994年に、ドイツのコンツェルマン博士のチームが、(-)1本鎖RNAウイルスとしては世界で初めて、リバーシジェネティクスによる狂犬病ウイルスの合成に成功しました¹。その鍵は、ウイルスの全ゲノムcDNAとともに、ゲノムの複製にかかわるタンパク質の遺伝子(N遺伝子、P遺伝子、L遺伝子)を別立てで導入することにあります。その後、私たちを含め、各国の研究チームが、(-)鎖RNAウイルスのリバーシジェネティクス系を次々と確立していきました。同類のウイルスであるニパウイルスについても、各国のチームが合成に着手したとの噂は流れていましたが、なぜか成功例がありませんでした。私たちは、他チームに遅れて研究を始めました。ニパウイルスゲノムは1万8000塩基以上あり、他の(-)1本鎖RNAウイルスよりもむずかしい点がいろいろありましたが、導入するN、P、L遺伝子の量の比率を変えたりするなどの試行錯誤を繰り返し、幸運にも、2005年に世界に先がけて合成に成功しました²。

ND — なぜ、3つの遺伝子をゲノムとは別に入れる必要があるのでしょうか？

甲斐 — ニパウイルスの仲間は、裸のままのゲノムでは転写や複製がされないことがわかっています。まずNタンパク質を芯にRNAが巻きつき、その後、転写と複製を司る「Lタンパク質とPタンパク質から成る複合体(RNAポリメラーゼ)」が活性化される必要があります。そのため、それぞれの遺伝子を別のプラスミドにつないで細胞に入れ、ウイルスゲノムのcDNAを入れると同時に、3種のタンパク質が合成されるようにしたのです。

突如として現れたニパウイルス

ND — ニパウイルスとは、どのようなウイルスなのですか？

甲斐 — モノネガウイルス目パラミクソウイルス科ヘニパウイルス属に分類されるウイルスです。1998年にマレーシアで突然出現し、100人以上の人を死に至らしめました。いわゆる「エマージングウイルス」の1つで、自然宿主は果物などを食べるオオコウモリです。マレーシアでは、オオコウモリの尿や唾液のついた果物が落ちてくるところに屋根のない養豚場があり、まず、そのような養豚場でブタが感染し、ひどい咳をし始めました。その後、養豚に携わっていた人たちが



甲斐知恵子(かい・ちえこ) / 東京大学医科学研究所実験動物研究施設・感染症国際研究センター教授。農学博士。1953年、横浜市生まれ。1978年東京大学農学部獣医学科卒業。1985～1987年、スウェーデンカロリンスカ研究所に留学。1990年、東京大学大学院農学系研究科助教授。1999年、現職の東京大学医科学研究所実験動物研究施設教授に就任し、2005年から同研究所感染症国際研究センター教授を兼任している。

大学院時代はウイルス感染免疫および腫瘍免疫に興味をもち、留学期間も腫瘍免疫分野での研究を行なったが、助教授就任後ウイルス研究を始める。3種類のモービルウイルスでリバースジェネティクス系を確立し、すぐれた動物実験系も樹立して、種を越える病原性発現機序や、神経親和性、持続感染性等の解明を目指す基礎的研究を行っている。蓄積した成果を実際のエマージングウイルス感染症に生かすべく、ニパウイルスの研究に着手し、そのリバースジェネティクス系を世界で初めて確立することに成功した。

重症の脳炎を発症したのです。ブタを介して感染が広がったのは明らかでしたので、マレーシア政府は養豚場の100万頭以上のブタを殺処分し、その後の対策も徹底しました。現在では感染がなくなり、養豚も再開されていますが、他のアジア地域で散発的な流行が起きています。

ND — モノネガウイルス目のほかのウイルスは、どのような疾患を起こすのでしょうか？

甲斐 — モノネガウイルス目のウイルスには、エボラウイルスや、狂犬病ウイルス、麻疹ウイルス、イヌジステンパーウイルスなどがあります*²。多くは、呼吸器から感染し、発熱して脳炎や出血、下痢、激しい免疫抑制反応などを起こし、致死率が高いのが特徴ですが、そのメカニズムはほとんどわかっていません。

ND — 先生は、そのメカニズム解明のためにウイルス研究を始められたのですか。

甲斐 — 大学院時代は免疫の研究をしていました。当時、所属していた東大医科研の研究室で、ニパウイルス属と同じパラミクソウイルス科のモービルウイルス属のウイルスが研究されており、このウイルスが生体の免疫系を抑制したり、脳神経の病変を起こしたりする点に興味をもちました。1990年に東大農学部の助教授になり、イヌジステンパーウイルスの研究を始めました。その頃、このウイルスの新型株が現れ、イヌだけでなく、それまでかからないとされていたライオンやアザラシの集団感染と大量死が起きました。イヌジステンパーウイルスが種の壁を越えたメカニズムを明らかにしたいと考え、リバースジェネティクス系によって、どんな遺伝子がかかっているかを突き止めました。その後1998年に、このウイルスと近縁なニパウイルスが登場したのです。

日本でも必要とされるBSL4施設

ND — 今後は、どのような研究を進める予定ですか？

甲斐 — ニパウイルスは最も危険なウイルスとして「BSL4^{*3}」にランクされるウイルスですが、日本ではBSL4ウイルスを扱える施設が稼働していません。私たちは遺伝子の構築は日本で行いましたが、感染性ウイルスを扱う実験はフランスのチームと共同で、リヨンにあるBSL4施設で行いました。フランスチームは、ハムスターがニパウイルスに感受性が高い

ことを見だし、ハムスターの動物実験系を確立していました。おかげで私たちは、遺伝子改変からウイルス合成、動物実験まで一貫して行える世界で唯一のチームになっています。さらに、ニパウイルスは自然宿主がわかっていることもあり、エマージングウイルスのモデルとして、種を越えて激しい病原性を示すメカニズムの解明なども進めたいと考えています。

ND — 日本にBSL4ウイルスを扱える施設がないのは問題だと思いませんか？

甲斐 — そのとおりです。BSL4施設は国立感染症研究所内にありますが、住民の反対運動からBSL4実験はできていません。最近のSARSや鳥インフルエンザの流行などにより、先進諸国ではBSL4設備の建設ラッシュが続いており、世界では20以上が稼働しています。人や物の国際間の行き来が激しい中、日本でも、いつBSL4ウイルスの感染者が出るかわかりませんから、BSL4施設の必要性は極めて高いと思います。こうした点を重くみた日本政府は、平成18年度の科学技術振興調整費「科学技術連携施策群の効果的・効率的な推進」の中で、「BSL-4施設を必要とする新興感染症対策に関する調査研究」を発足させました。新興感染症対策を迅速に進めるためにも、基礎研究を推進するためにも、BSL4ウイルスを扱う研究が日本で行なえるようになることを願っています。

ND — ありがとうございました。 ■

聞き手は西村尚子(サイエンスライター)。

*1 ウイルス

ウイルスは、ゲノムとしてDNAをもつかRNAをもつかで、DNAウイルスとRNAウイルスに大きく分けられる。RNAウイルスのうち、ゲノムRNAを逆転写酵素によって、いったんDNA(cDNA)に置き換えるものを特にレトロウイルスとよぶ。

*2 モノネガウイルスの病原性

モノネガウイルスによる疾患の1つである麻疹(はしか)は、日本ではワクチンによってコントロールできているが、開発途上国では流行が絶えず、WHOは「ウイルスを原因とする子どもの死亡率が最も高い疾患」として警戒している。イヌジステンパーも、ワクチンを打っていないイヌでの致死率は極めて高い。

*3 BSL4(Bio-safety level 4)

細菌やウイルスなどの微生物は、その危険度によってBSL1～BSL4(P1～P4)のレベルに分類されており、実験者への感染と微生物の拡散を防ぐ目的から、レベルごとに実験室に要求される設備が異なっている。最も危険なBSL4レベルの微生物を扱うには、宇宙服スタイルでの作業やグローブボックス内での実験などが求められる。

1. Schnell, M.J., et al. *EMBO J.* **13**, 4195-4203 (1994).

2. Yoneda, M., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **103**, 16508-16513 (2006).