

## 病因病態医学講座／ゲノム科学・微生物学分野

### 1. 領域構成教職員・在職期間

教授	定 清直	平成18年10月～
准教授	千原 一泰	平成22年1月～（平成24年1月～現職）
講師（学内）	竹内 健司	平成 3年4月～（平成24年2月～現職）

### 2. 研究概要

#### 研究概要

タイトル：病原微生物感染に対する宿主因子についての分子生物学的研究、ならびに疫学、国際交流（微生物学・感染症学・医学教育）

病原性を有する微生物は、細胞内の様々な宿主因子と相互作用することが知られている。当研究室では、ゲノム編集技術（CRISPR/Cas9システム）を用いて細胞内チロシンキナーゼが様々な病原体による感染の宿主因子であることを明らかにしてきた。現在は遺伝子改変マウスや新たに樹立した遺伝子欠損細胞により、チロシンキナーゼを中心とする新たな感染宿主因子の研究を昨年に引き続き進めている。さらに金沢医科大学・旭川医科大学、愛知医科大学との間で、それぞれ神経薬理学、ウイルス学に関する共同研究を実施した。福井県との協同研究では、疫学調査に有用な新規検査法を開発し実用化を行ったが、この研究成果は掲載誌のダウンロード上院論文（Top20）として表彰された。さらにインドネシア共和国アイルランガ大学・神戸大学との共同により微生物学の研究と医療に重点を置いた国際交流を推進した。

1) 病原菌-宿主相互作用：病原菌に対する免疫応答に関わる宿主因子の研究

非受容体型チロシンキナーゼSykは、B細胞やマスト細胞、マクロファージなどにおける免疫受容体を介したシグナル伝達に必要な不可欠な分子として知られ、近年その阻害薬が免疫性血小板減少症の治療薬として米国で承認された。我々は、Sykの基質としてチロシンリン酸化を受けるアダプター蛋白質3BP2の機能に着目して研究を継続している。昨年度は3BP2によるマクロファージの食食の調節機構について分子メカニズムを解明し報告を行った。様々なシグナル伝達因子をCRISPR/Cas9システムを用いて欠損させたノックアウト細胞株や、3BP2の様々な変異体を3BP2欠損細胞株に発現させた細胞株を複数樹立し、Sykによる3BP2のチロシンリン酸化が食食やケモカイン遺伝子の発現誘導の調節に必要な不可欠であることを明らかにした。

我々がこれまでに行った研究から、Sykによる3BP2のチロシンリン酸化は様々な免疫細胞の機能調節に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、3BP2のチロシンリン酸化が個体レベルの免疫応答にどのような影響を及ぼすのか分かっていない。この問題を解決するために、CRISPR/Cas9システムを用いてチロシンリン酸化部位をフェニアラニンに置換した非リン酸化型3BP2を発現するノックインマウスを製した。現在、B細胞における3BP2の機能に焦点を当て、解析を進めている（第一研究室）。

2) ウイルス-宿主相互作用の分子生物学的研究

偏性細胞内寄生体であるウイルスは宿主細胞内の様々な高分子を利用して増殖する。その一方、宿主側にはインターフェロン（IFN）を中核とする自然免疫システムも備わっている。本研究室では、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌の病原体であるC型肝炎ウイルス（HCV）を主な研究対象として、その増殖に影響する宿主因子の研究を行っている。

その結果、例えば、宿主のチロシンキナーゼc-Abi1がHCVの非構造蛋白質NS5Aのチロシンリン酸化を介してウイルス粒子形成過程に資することを明らかにしている。c-Abi1阻害薬は急性骨髄性白血病治療薬として知られるが、本研究の結果はc-Abi1阻害薬がある種のウイルス性疾患の治療薬として転用できる可能性があることを示唆している。また、我々は、HCVとIFNとの相互作用についても解析を行っている。その結果、I型IFNとIII型IFNとは細胞内シグナル伝達におけるSTAT1蛋白質依存性に違いがあることを見出した。様々なウイルスが宿主細胞内のSTAT1を標的としてIFNのシグナル伝達を阻害することがわかっているが、本研究の結果はこのようなウイルスに対しては一部の型のIFNが有効に働かざることを示唆している。

本研究室では、また、外部研究機関との共同研究も行っている。愛知医科大学とは、マウスに急性肺炎を引き起こすセンダイウイルスをモデルとして、呼吸器系病原ウイルスが宿主の感染防御機構に対抗する手段を解明するべく、共同研究を行っている。

以上のような研究を進めることによって、ウイルス性疾患の病態をより深く理解し、その治療法を模索するための分子基盤を提供するための一助としたい。（第二研究室）

3) 微生物学の研究と感染症の教育に重点を置いた国際交流

福井大学医学部とインドネシア・アイルランガ大学医学部との学部間協定に基づき、本年度12月にアイルランガ大学の医学生が本学を訪問し、当研究室（ゲノム科学・微生物学分野）のほか、麻酔科学、循環器内科学にて日本人医学生とともに4週間の研修に参加した。

本事業の前身となる国際交流は2011年に開始され、毎年1～2名の本学医学生が引率教員とともにインドネシアを訪問し、その実績を経て2016年には医学教育に関する学部間協定が調印されている。（第一・第二研究室）

#### キーワード

生化学、ウイルス学、ゲノム編集、遺伝子改変マウス、Syk、C型肝炎ウイルス、病原体-宿主相互作用、国際交流

#### 業績年の進捗状況

1) CRISPR/Cas9システムを使い、3BP2遺伝子欠損マウスおよびSykによるチロシンリン酸化部位をフェニアラニンに置換した3BP2変異体を発現するマウス（Y183Fノックインマウス）を製した。マウスにおける3BP2蛋白質の発現は脾細胞で高く、B細胞受容体を刺激するとSykを介した3BP2のチロシンリン酸化が見られた。この現象は、Y183Fノックインマウス由来の脾細胞では殆ど見られなかった。現在これらのマウスを使い、3BP2が胸腺依存性抗原に対する抗体産生にどのように関わるのか解析を進めている。

2) 愛知医科大学との共同研究として、ウイルス性肺炎のマウスモデルで用いられるセンダイウイルスに関し、このウイルスが感染マクロファージによる酸化窒素の産生を抑制する分子機構を明らかにした。一酸化窒素はマクロファージが抗ウイルス作用を現す過程で産生する分子のひとつである。本研究はセンダイウイルスが宿主の感染防御機構に対抗する新たな仕組みを明らかにしたものと見える（Innate Immunity誌に論文公表）。

3) 金沢医科大学の村松教授、旭川医科大学の谷口教授との間で、神経系におけるアセチルコリンの薬理学的動態についての共同研究を継続し著書を発表した。

4) インドネシア共和国アイルランガ大学医学部との感染症に関する国際交流（医学教育）は、2016年に締結された学部間協定に基づき、今年度福井大学から1名、アイルランガ大学から2名の医学生が約1か月間訪問し、臨床・基礎医学それぞれ2週間ずつの研修を行った。

#### 特色等

最新のゲノム編集技術を使って製した遺伝子改変マウスを対象として、マイクロレイヤリアルタイムPCRによる遺伝子発現調節の解析、ELISAによるサイトカイン産生の解析、フローサイトメトリーを使った細胞表現型の解析などを行い、細胞レベルで起こる様々な生命現象を数値化して研究を進めている。（第一研究室）

第一研究室では蛋白質のチロシンリン酸化を介したシグナル伝達機構に関する研究を長年にわたって進めており、この方面に関する研究リソースの蓄積がある。第二研究室ではこれを活用してウイルス-宿主相互作用の研究を行っている。細胞遺伝学的研究では遺伝子欠損細胞株を用いることにより当該遺伝子の機能を明らかにする。従来、マウスでは遺伝子K0マウスに由来する細胞を用いて研究を行ってきたが、ヒトの場合、一般的に利用できる遺伝子K0技術のないことが研究の足枷となっていた。これに対し、近年、CRISPR/Cas9システムを利用した遺伝子K0技術が開発され、ヒト由来細胞株の遺伝子K0に用いられるようになってきた。本研究室では、この技術を導入することによって、ヒト肝細胞株でしか増殖できないC型肝炎ウイルスの研究を進展させることができた。（第二研究室）

インドネシア共和国アイルランガ大学医学部との感染症に関する国際交流（医学教育）は、2016年に締結された学部間協定に基づき、今年度アイルランガ大学から2名の医学生が約1か月間訪問し、臨床・基礎医学それぞれ2週間ずつの研修を行った。また新たに医学部等国際交流委員会を立ち上げ（定）、共同研究を基盤とした医学教育の国際交流を戦略的に推進する取り組みを新たに開始し、今年度は福井大学からアイルランガ大学に1名派遣したほか、新たにイギリスのパーミンガム市立大学にて細菌学実習の指導を行った。（第一・第二研究室）

#### 本学の理念との関係

我々の研究は第三期中期計画における2-①「医学部・同附属病院では、地域の直面する少子高齢化や過疎化に対応するため、がん、発達障害や認知症、アレルギー・免疫疾患等の様々な疾患の克服を目指した先進的研究とともに・・・（中略）・・・学術誌への英語論文掲載数や研究成果の具体化件数等を第2期中期目標期間より増加させる。特に、がん、脳、アレルギー・免疫の分野では、第2期中期目標期間より20%以上増加させる。」に該当する。当研究室の「病原微生物感染に対する宿主因子についての研究」は前年度に引き続き広義のアレルギー・免疫の分野に該当する。

国際医学教育交流については、グローバル②「学生の国際交流を一層盛んにするために・・・（中略）・・・全学として受け入れ外国人留学生数と海外派遣日本人学生数を第2期中期目標期間末と比較して、それぞれ15%増加させる」に該当する。

## 3. 研究実績

区分		編数	インパクトファクター（うち原著のみ）
		2018年分	2018年分
和文原著論文		0	—
英文論文	ファーストオーサー	0	0 (0)
	コレスポンディングオーサー	0	0 (0)
	その他	1	2.173 (2.173)
	合計	1	2.173 (2.173)

## (A) 著書・論文等

## (1) 英文：著書等

## a. 著書

## b. 著書（分担執筆）

1822001

Muramatsu, I., Masuoka, T., Uwada, J., Yoshiki, H., Yazama, T., Lee, K. S., Sada, K., Nishio, M., Ishibashi, T., and Taniguchi: Akaike A., Shimohama S., Mitsu Y.: A new aspect of cholinergic transmission in the central nervous system., 45-58, 201804, ISBN: 978-981-10-8488-1\_3

1822002

Muramatsu, I., Masuoka, T., Uwada, J., Yoshiki, H., Yazama, T., Lee, K. S., Sada, K., Nishio, M., Ishibashi, T., and Taniguchi: Akaike A., Shimohama S., Mitsu Y.: A new aspect of cholinergic transmission in the central nervous system., 45-58, 201804, ISBN: 978-981-10-8488-1\_3

## c. 編集・編集・監修

## (2) 英文：論文等

## a. 原著論文（審査有）

1822003

Odkhuu E, Komatsu T, Koide N, Naiki Y, Takeuchi K, Tanaka Y, Tzolomgyn B, Jambalgaaniin U, Morita N, Yoshida T, Gotoh B, Yokochi T.: Sendai virus C protein limits NO production in infected RAW264.7 macrophages., *Innate Immun*, 24((7)), 430-438, 201810, #2.173

## b. 原著論文（審査無）

## c. 原著論文（総説）

## d. その他研究等実績（報告書を含む）

## e. 国際会議論文

## (3) 和文：著書等

## a. 著書

## b. 著書（分担執筆）

## c. 編集・編集・監修

## (4) 和文：論文等

## a. 原著論文（審査有）

## b. 原著論文（審査無）

## c. 総説

## d. その他研究等実績（報告書を含む）

## e. 国際会議論文

## (B) 学会発表等

## (1) 国際学会

## a. 招待・特別講演等

## b. シンポジスト・パネリスト等

## c. 一般講演（口演）

## d. 一般講演（ポスター）

## e. 一般講演

## f. その他

## (2) 国内学会（全国レベル）

## a. 招待・特別講演等

## b. シンポジスト・パネリスト等

1822004

定 清直: Syk阻害薬: 基礎的背景と病態への展望, 第61回日本腎臓学会学術総会, IgA腎症治療の新展開, 新潟市, 20180609, 日本腎臓学会誌, 60(3), 288, 2018

## c. 一般講演（口演）

## d. 一般講演（ポスター）

1822005

千原一泰, 竹内健司, 宮本大輔, 定清直: ゲノム編集マウスを利用したB細胞におけるアダプター蛋白質3BP2の機能解析, 第91回日本生化学会大会, 京都市, 20180926

## e. 一般講演

## f. その他

## (3) 国内学会（地方レベル）

- a. 招待・特別講演等
- b. シンポジスト・パネリスト等
- c. 一般講演（口演）
- d. 一般講演（ポスター）
- e. 一般講演
- f. その他

## (4) その他の研究会・集会

- a. 招待・特別講演等
- b. シンポジスト・パネリスト等
- c. 一般講演（口演）
- d. 一般講演（ポスター）
- e. 一般講演
- f. その他

1822006

定 清直、竹内健司、千原一泰：ゲノム編集を用いた貪食細胞におけるアダプター蛋白質3BP2の機能解析，平成30年度北陸腸内細菌研究会，金沢市，20180714

## (C) 特許等

区分	内容（発明の名称）	発明者又は考案者
----	-----------	----------

## (D) その他業績

## 4. グラント取得

## (A) 科研費・研究助成金等

区分	プロジェクト名	研究課題名	代表者名	分担者名	期間（年度）	金額（配分額）
区分	研究種目	課題名	代表者名	分担者名	期間（年度）	金額（配分額）
文部科学省科学研究費補助金	基盤研究(C)	ウイルス感染宿主因子としてのテロシンキナーゼAb1の新しい役割	定 清直	千原 一泰、竹内 健司	2018	1560000

## (B) 奨学寄附金

受入件数	2
受入金額	350000

## 5. その他の研究関連活動

## (A) 学会開催等

区分	主催・共催の別	学会名	開催日	開催地
----	---------	-----	-----	-----

## (B) 学会の実績

学会の名称	役職	氏名
日本生化学会	代議員	定 清直
日本生化学会	評議員	定 清直
日本感染症学会	評議員	定 清直
日本ウイルス学会	一般会員	定 清直
日本分子生物学会	一般会員	定 清直
米国免疫学会	一般会員	定 清直
日本細胞生物学会	一般会員	千原 一泰
日本分子生物学会	一般会員	千原 一泰
日本生化学会	一般会員	千原 一泰
日本分子生物学会	一般会員	竹内 健司
日本ウイルス学会	一般会員	竹内 健司

## (C) 座長

国内学会（全国レベル）	学会名	氏名
シンポジウム等	日本生化学会北陸支部第36回大会	千原 一泰