

病因病態医学講座 ゲノム科学・微生物学

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

我々は、病原微生物の感染に対する宿主因子の研究を行っており、「病原菌と宿主との相互作用」の研究も推進しており、真菌や結核菌の受容体として知られるC型レクチン受容体(C-type lectin receptor: CLR)であるデクチン-1を介するシグナル経路、特に樹状細胞の転写因子NF- κ Bの活性化に、チロシキナーゼAbl結合タンパク質の一つであるアダプタータンパク質3BP2(Abl-SH3 domain-binding protein-2)が関与することを、3BP2遺伝子改変マウス(3BP2DL/DL, 3BP2KI/KI)を用いて解明した。また、「ウイルスと宿主との相互作用」として、C型肝炎ウイルス(hepatitis C virus: HCV)の増殖に影響する宿主因子の研究を推進している。最近我々は、AblがHCVの生活環、特にウイルス粒子形成の過程に関与することを、ゲノム編集により作製したAbl欠損培養肝細胞を用いて解明した。

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

福井大学で1991年に発見された非受容体型チロシキナーゼ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るなど臨床応用への道筋が開かれている。当研究室ではSykの基質として同定された3BP2の生理的役割について解析をすすめ、3BP2が単球による食作用に関与することを報告している。さらに3BP2の個体レベルでの機能を明らかにするために、CRISPR/Cas9システムを用いて独自に3BP2機能欠損マウス(3BP2 DL/DLマウス)と、チロシリン酸化部位をフェニル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(3BP2 KI/KIマウス)を作製した。本学発のこれらのマウスを用い、3BP2が免疫応答をどのように調節するのかの解析を継続している。(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。一方、宿主細胞側はインターフェロン(IFN)応答や二重鎖RNA(dsRNA)応答などの自然免疫応答によってウイルス増殖を抑制しようとする。本研究室では、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌の病原体であるHCVを主たる研究対象として、ウイルス増殖に影響する宿主因子の研究を行うほか、IFN応答やdsRNA応答の研究を並行して実施している。CRISPR/Cas9法により作成したAbl欠損培養肝細胞を用いた解析により、宿主のAblがHCVの非構造蛋白NS5Aのチロシ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た。Abl阻害薬は慢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Abl阻害薬の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、HCVとIFNの相互作用については、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、海外との共同研究を実施している。さらにウイルス感染細胞に生じるdsRNAストレスの消長に関わる宿主因子についても解析中である。これらの研究を押し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

今年度事業として予定していた医学生相互短期留学による交流事業(インドネシア、Airlangga University)は、新型コロナウイルス感染拡大により昨年に続き中止となった。

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) 3BP2 DL/DLマウス由来の骨髄由来樹状細胞では、CLRの一つであるミンクル遺伝子の発現量低下がみられた。また、デクチン-1やミンクルによって誘導されるサイトカインの産生が著しく障害されることを見出した。そのメカニズムを解析すると、3BP2の機能欠損によりデクチン-1によるシグナル伝達分子の活性化が減弱することが分かった。一方、3BP2 KI/KIマウスを使った解析から、デクチン-1を介するサイトカインの産生にはSykによる3BP2のチロシリン酸化は必須でないことが示唆された。in vitro実験系の解析から、3BP2がアダプタータンパク質CARD9を介するNF- κ Bの活性化を調節する可能性が示唆された。以上の結果をまとめ、Biochemical Journal誌に発表した。(第一研究室)

2) HCVのウイルス粒子形成過程におけるAblの役割をより深く解明するべく、ゲノム編集によりAbl欠損ヒト肝細胞株を樹立し、解析を行った。その結果、HCVの非構造蛋白NS5AがAblの基質活性化因子として作用することによってウイルス粒子の形成を促進していることが明らかとなった。この結果をまとめ、Journal of Biological Chemistry誌に投稿、現在印刷中である。また、愛知医科大学との共同研究により、センダイウイルス感染食細胞内でdsRNAの発生をウイルスC蛋白質が抑えることによって細胞の食食機能を抑制していることを明らかにし、このことをFrontiers in Microbiology誌に発表した。さらに、ウイルス感染細胞に生じるdsRNAストレスの消長に関わる宿主因子の検索も行っている。(第二研究室)

特色等

1) 第一研究室ではCLRを介する自然免疫シグナル伝達機構に焦点を当て、ゲノム編集により作成した遺伝子改変マウス、種々のチロシキナーゼを欠損させた培養細胞を用いて解析を進めている。またリアルタイム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、レンチウイルスを使った再構成実験等を駆使し、遺伝子改変×網羅的解析の手法により、新たな感染免疫応答のメカニズムを明らかにしようとしている。(第一研究室)

2) 第二研究室ではウイルス感染に対する種々の宿主因子を欠損させた培養細胞を樹立し、培養HCVの感染実験系(ロックフェラー大学より分与)を用いて、ヒト肝細胞株でしか増殖できないHCVの研究を遂行している。またゲノム編集を用いて、ウイルス感染細胞に生じるdsRNAストレスの消長に関わる宿主因子も明らかにしようとしている。(第二研究室)

本学の理念との関係

当研究室では本学および医学部の理念に則り、医学、なかでもゲノム科学・微生物学分野における真理を深く追求し、研究・大学院教育・学部教育・社会貢献・地域連携・国際交流に貢献し、次世代につながるための不断の努力を継続している。さらに第四期中期目標・中期計画において、我々の研究は中期計画(8)-5「がん、神経、免疫・アレルギー・炎症性疾患等の先端的・実践的な医学研究に基づいた新たな医療技術の開発や地域医療の向上を目指し、各分野の根幹をなす、(中略)、アレルギー・炎症性疾患の分子病態研究と新規治療法の開発等に注力するとともに、超高齢化社会に対応する地域医療研究との相補的発展を実現する。」に沿って遂行している。

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)	
		2016~2021年分	2022年分	2016~2021年分	2022年分
和文原著論文		1	0	—	—
	ファーストオーサー	2	0	9.268(9.268)	0(0)
英文論文	コレスポンディングオーサー	2	1	9.268(9.268)	5.485(5.485)
	その他	5	0	21.443(21.443)	0(0)
	合計	7	1	30.711(30.711)	5.485(5.485)

(A) 著書・論文等

(1) 英文：著書等

a. 著書

b. 著書(分担執筆)

c. 編集・編集・監修

(2) 英文：論文等

a. 原著論文(審査有)

2222001

Daisuke Miyamoto, Kenji Takeuchi, Kazuyasu Chihara, Shigeharu Fujieda, Kiyonao Sada: Protein tyrosine kinase Abl promotes hepatitis C virus particle assembly via interaction with viral substrate activator NS5A, Journal of Biological Chemistry, 298(4), 10184, 202204, DOI: 10.1016/j.jbc.2022.101804, #5.485

業績一覧

- 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
 - 2222002** 定 清直, 竹内健司, 千原一泰: 感染宿主因子としてのチロシキナーゼAblの新しい役割, 生化学, 95(1), 96-99, 202303, DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2023.950096
 - d. その他研究等実績（報告書を含む）
 - 2222003** 定 清直: ケルビズム (cherubism), 生化学, 95(1), 117-117, 202303
 - 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
 - c. 一般講演（口演）
 - 2222004** 宮本大輔, 竹内健司, 千原一泰, 藤枝重治, 定 清直: チロシキナーゼAblはウイルス基質活性化因子NS5Aとの相互作用によりC型肝炎ウイルス粒子形成を促進する, 第95回日本生化学会大会, 名古屋市, 20221110
 - d. 一般講演（ポスター）
 - 2222005** 千原一泰, 坪川亜優美, 千原悠里, 竹内健司, 藤枝重治, 定 清直: アダプター蛋白質3BP2はC型レクチン受容体dectin-1を介するサイトカインの産生とNF- κ Bの活性化を制御する, 第45回日本分子生物学会年会, 幕張メッセ, 20221202
 - 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）
 - 2222006** 定 清直, 酒巻一平, 岩崎博道: 福井大学における感染症医療人材養成事業（UF-IDEEP）と特色あるカリキュラム「感染症」の新設, 第65回日本感染症学会中日本地方会学術集会, 長崎市, 20221103
 - 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

業績一覧

(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	研究期間	金額（配分額）
文部科学省科学研究費補助金	基盤研究(C)	3BP2が真菌に対する免疫応答を調節する新たなメカニズムの解明	千原 一泰	定 清直, 竹内 健司	20220401-20250331	¥1,430,000
文部科学省科学研究費補助金	基盤研究(C)	二重鎖RNAストレスからの回復における二重鎖RNA処理機構の解明	竹内 健司	千原 一泰, 定 清直	20200401-20230331	¥1,170,000
文部科学省科学研究費補助金	基盤研究(C)	チロシンキナーゼAb1によるウイルス粒子産生の制御機構	定 清直	千原 一泰, 竹内 健司	20200401-20230331	¥1,430,000

区分	機関名	課題名	研究者名	研究期間	契約金額
共同研究	学校法人金沢医科大学	細胞内アセチルコリン受容体を介する神経伝達機構の解明とアルツハイマー病治療戦略	定 清直	20220401-20240331	¥0

区分	機関名	課題名	研究者名	研究期間	契約金額
----	-----	-----	------	------	------

(B) 養学寄附金

受入件数	1
受入金額	¥300,000

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	一般会員	定 清直
米国免疫学会	一般会員	定 清直
日本分子生物学会	一般会員	定 清直
日本ウイルス学会	一般会員	定 清直
日本感染症学会	一般会員	定 清直
日本医学教育学会	一般会員	定 清直
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
日本細胞生物学会	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	千原 一泰

(C) 座長

国内学会 (全国レベル)	学会名	氏名
一般講演（口演）	第95回日本生化学会大会	定 清直

(D) 学術雑誌等の編集

学術雑誌等の名称	査読・編集	委員長（主査）・委員の別	氏名	査読編数
----------	-------	--------------	----	------

(E) その他