

ウイルスからみた生命科学

野本 明男

2005-12-18

東大駒場授業

「†:このマークが付してある著作物は、第三者が有する著作物ですので、同著作物の再使用、同著作物の二次的著作物の創作等については、著作権者より直接使用許諾を得る必要があります。」

新興ウイルス感染症から学ぶ(その1)

新興ウイルスは人獣共通感染症ウイルスである

- 自然宿主と平和な共存関係にあったところへ、人間が入り込んだ。
- 人知れず存続してきたウイルスを現代社会が招き入れた。

人間の社会活動はたえまなく拡大する。

⇒新興感染症は次々と登場するであろう。

新興ウイルス感染症から学ぶ(その2)

マールブルグ病(1967年)

感染源は、ウガンダから空輸されたアフリカミドリザル
致死率23%の感染が、西ドイツ(マールブルグのベーリング研究所、
フランクフルトのエアリッヒ研究所)およびユーゴスラビア
(ベルグラード研究所)で。

(注): 同じ時期、東京にも500頭が輸送されている。

マールブルグ大学において、ウイルスが分離された。

(注): マスク、白衣、手袋といった古典的な防護で。

現在は、BSL (Biosafety level) 4

現在も、自然宿主は不明。

新興ウイルス感染症から学ぶ(その3)

ラッサ熱(1969年)

1969～1970年 ナイジェリアで病院内の集団感染。致死率36～67%
自然宿主はマストミス(大型の野ネズミ)。マストミスは発症せず、一生共存。
ウイルスは、アレナウイルス科のラッサウイルス。
ウイルスは、マストミスの尿に排出される。⇒人へのエアロゾル感染起こる。

(注): 輸入感染症の危機

1976年 シェラレオーネから帰国した米国人女性がラッサウイルスに感染していること判明。接触の可能性ある552人が3週間にわたり監視下に。
この中には飛行機に乗り合わせた5人の日本人も。

1987年 シェラレオーネから帰国した日本人技師が東大医科研病院へ。
後にラッサ熱患者であると判明。

新興ウイルス感染症から学ぶ(その4)

エボラ出血熱(1976年以来何度も)

いずれの場合も、病院が感染拡大の役割を果たしている。

感染拡大の要因: 1. 滅菌していない注射器の反復使用

2. 死者を洗い、身仕度させる習慣(儀式)

3. 医療処置・手術の際に予防衣なし

(注): 最初の一名の犠牲者で済むかは、初期医療の問題

BSL4レベル

実験（検査）室

ワクチン

細菌：百日咳ワクチン、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、
コレラワクチン、レプトスピラ症ワクチン、肺炎球菌ワクチン

ウイルス：ポリオワクチン、インフルエンザワクチン、日本脳炎ワクチン、
麻疹ワクチン、おたふくかぜワクチン、風疹ワクチン、
狂犬病ワクチン、黄熱ワクチン、水痘ワクチン、
B型肝炎ワクチン、A型肝炎ワクチン

治療薬

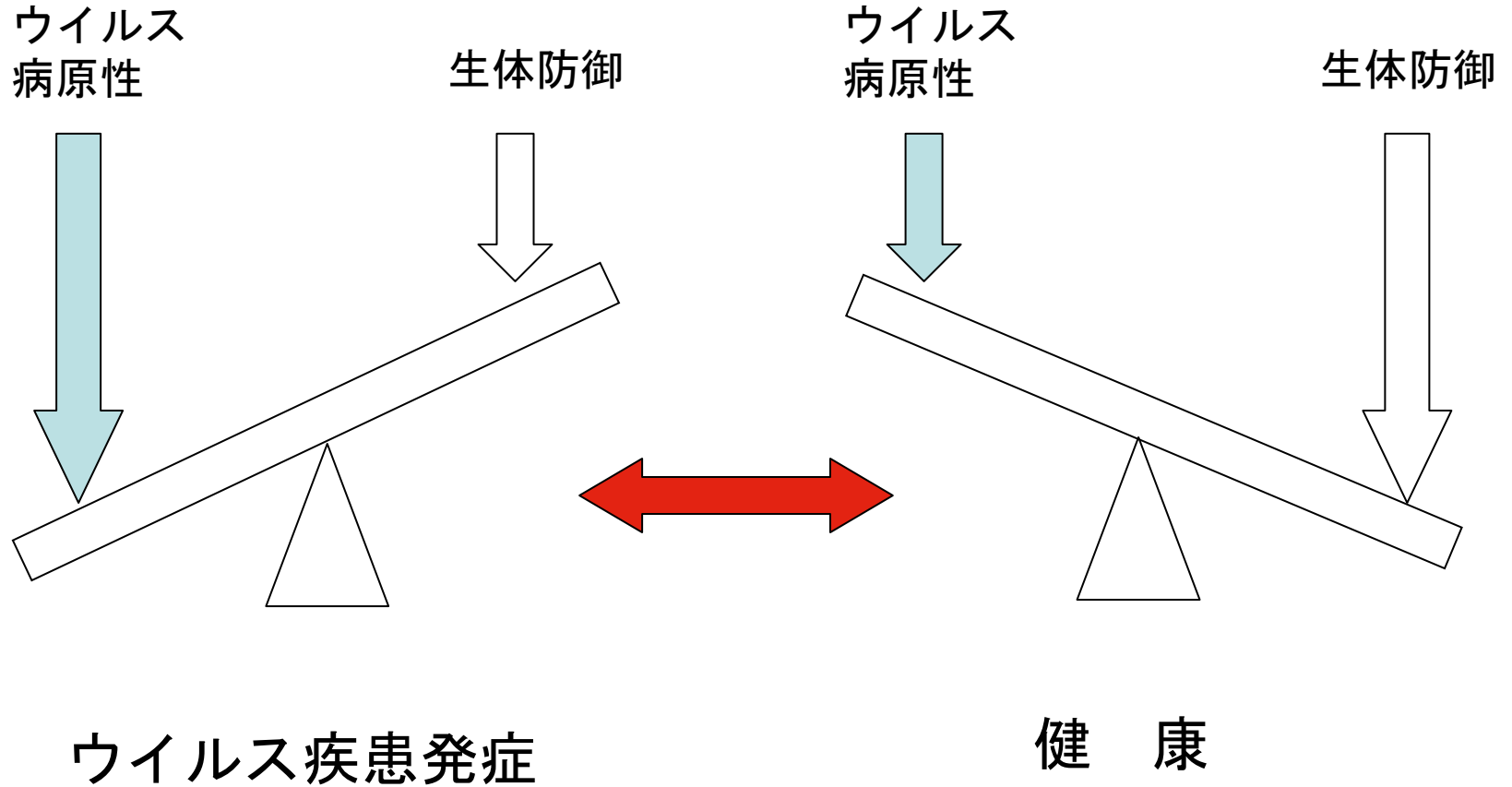
細菌： 多くの抗生物質

ウイルス： アシクロビル、アマンタジン、ザナミビル、リバビリン

ワクチン

病原微生物に対する
特異免疫を与える

ウイルス病原性と生体防御



ワクチン

- 生ワクチン
- 不活化ワクチン
- コンポーネントワクチン

予防ワクチン

- 全員
- リスクグループ
- 治療ワクチン(薬)

良いワクチンとは

- 経口投与
- 一回で有効
- 多価ワクチン

追求すべきこと

- 有効性
- 安全性
- 開発研究

ワクチン開発が困難な病原体

- 抗原性が多い
- 抗原性が変わる
- 再感染し発病する

新しいワクチン

- DNAワクチン
- 免疫賦活ワクチン
- 粘膜ワクチン

HIV

感染・発症
の分子基盤

不 明

ワクチン

困 難？

病 態

慢 性

病原性を知る (病原体トロピズム)

- 増殖
- 体内伝播
- 感染病態

どの感染過程の研究からも

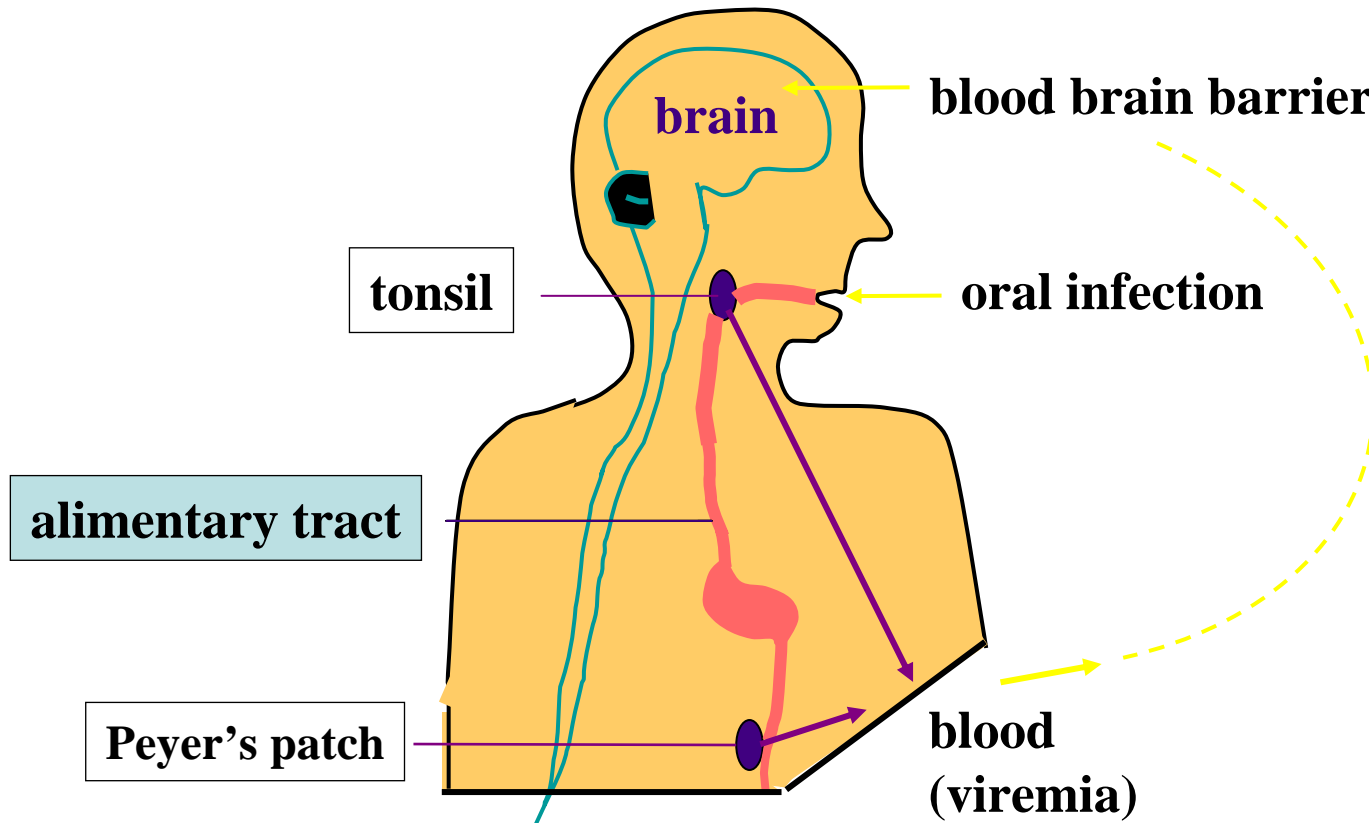
感染症制圧の戦略は生まれる

従来の考え方のワクチン： 中和抗体による感染・発症予防

感染阻止： 最初のターゲット細胞への感染過程の分子基盤解明

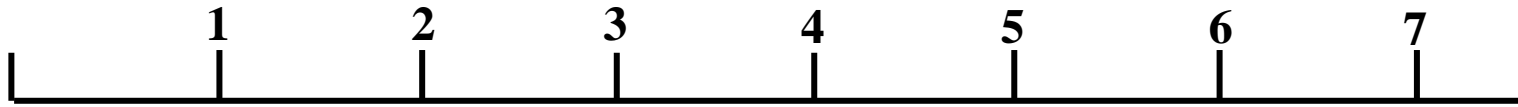
発症阻止： 感染から発症までの全過程の分子基盤解明

Dissemination of Poliovirus in Humans

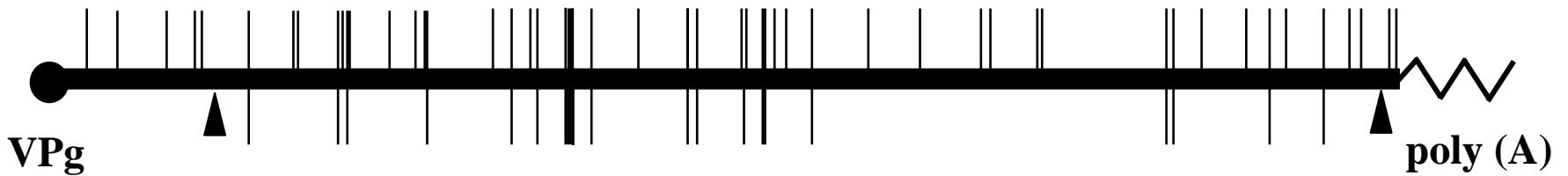


	alimentary tract	viremia	CNS
Virulent strain	○	○	○
Attenuated strain	○	×	×

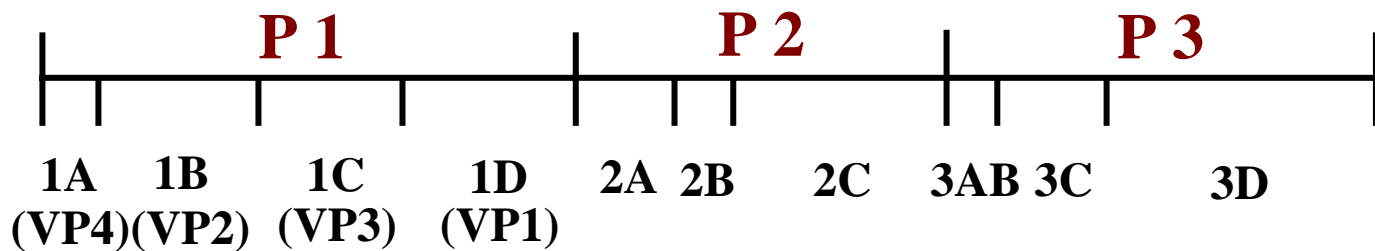
Length of Nucleotides (kb)



different nucleotides



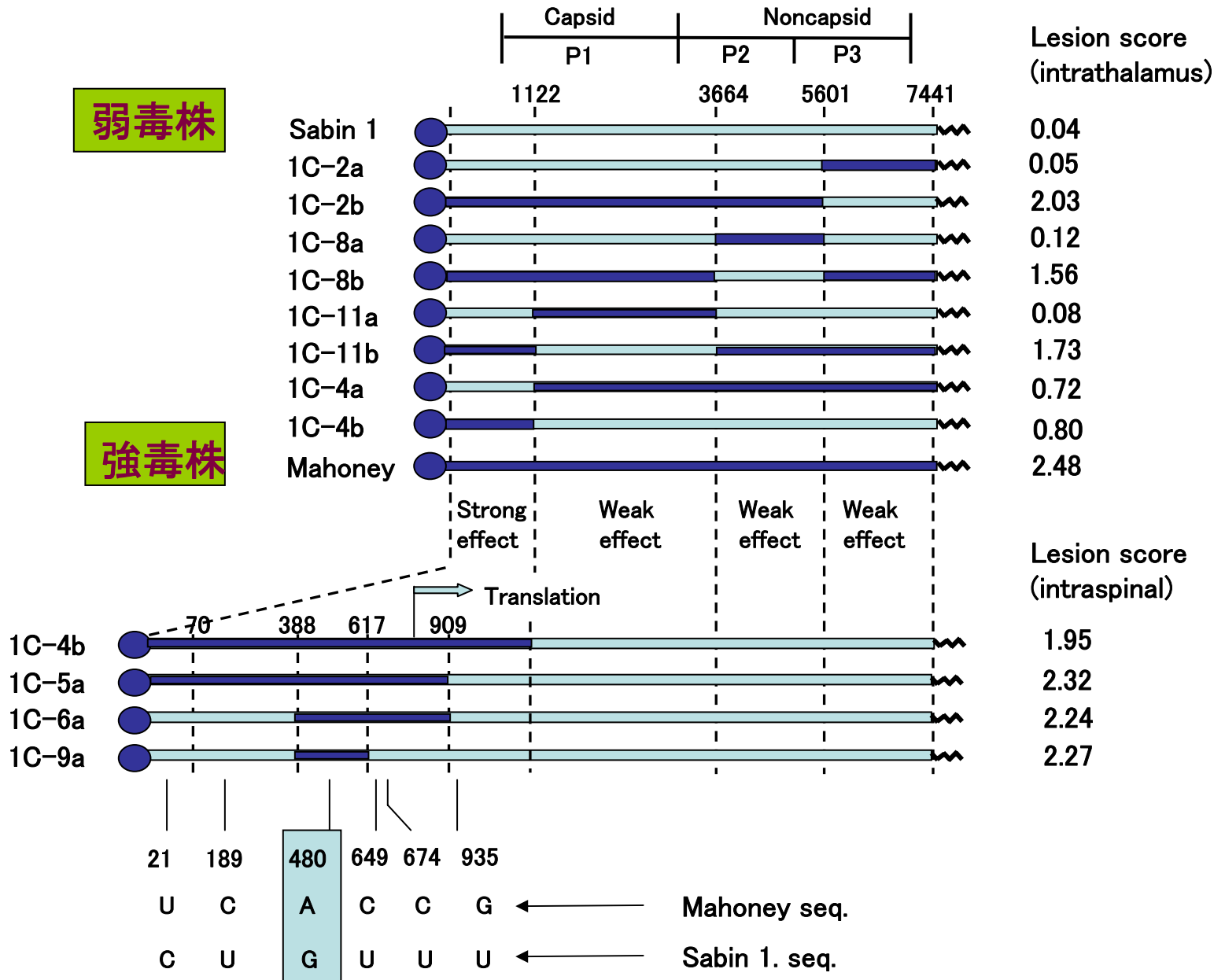
different amino acids



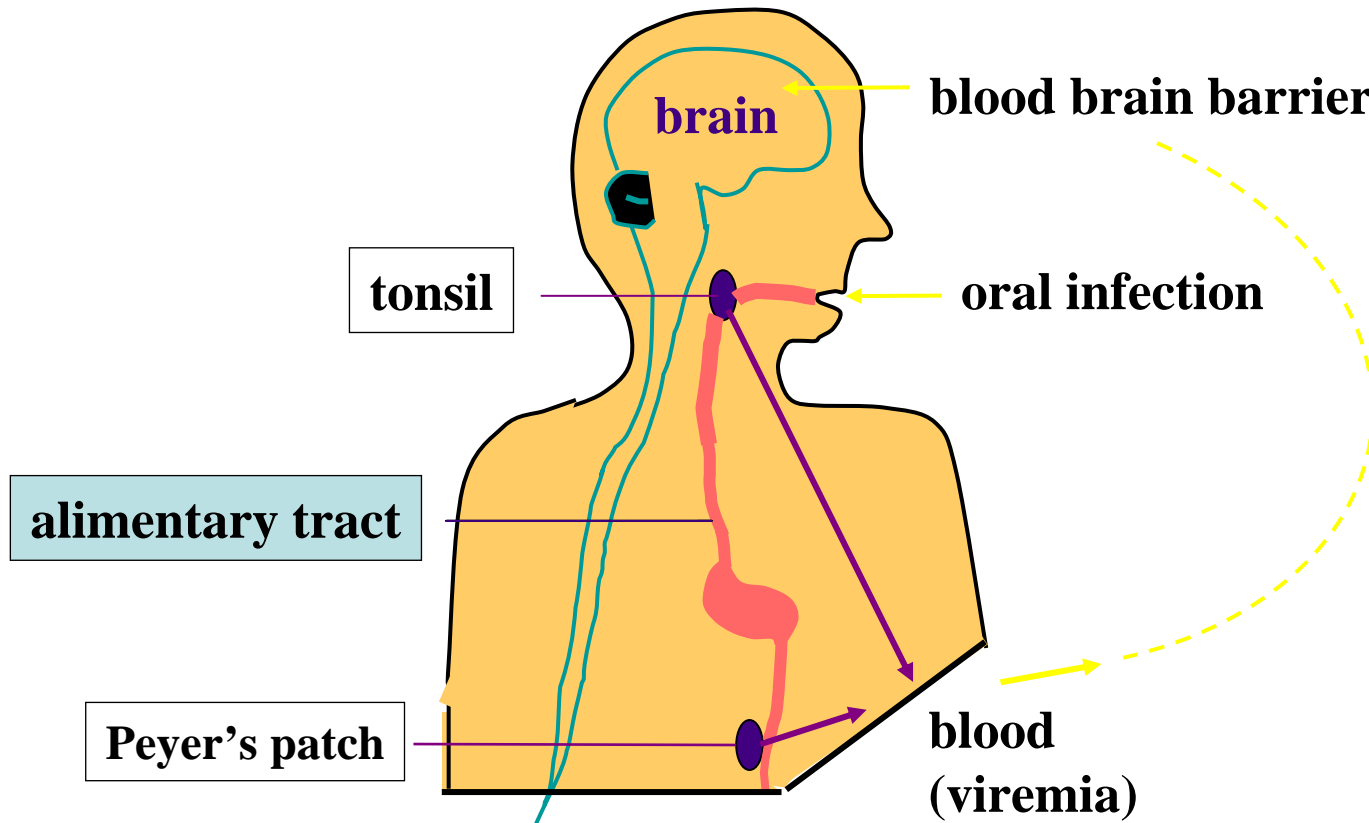
強毒株と弱毒株の組換え体ウイルスのゲノム構造

弱毒株

強毒株

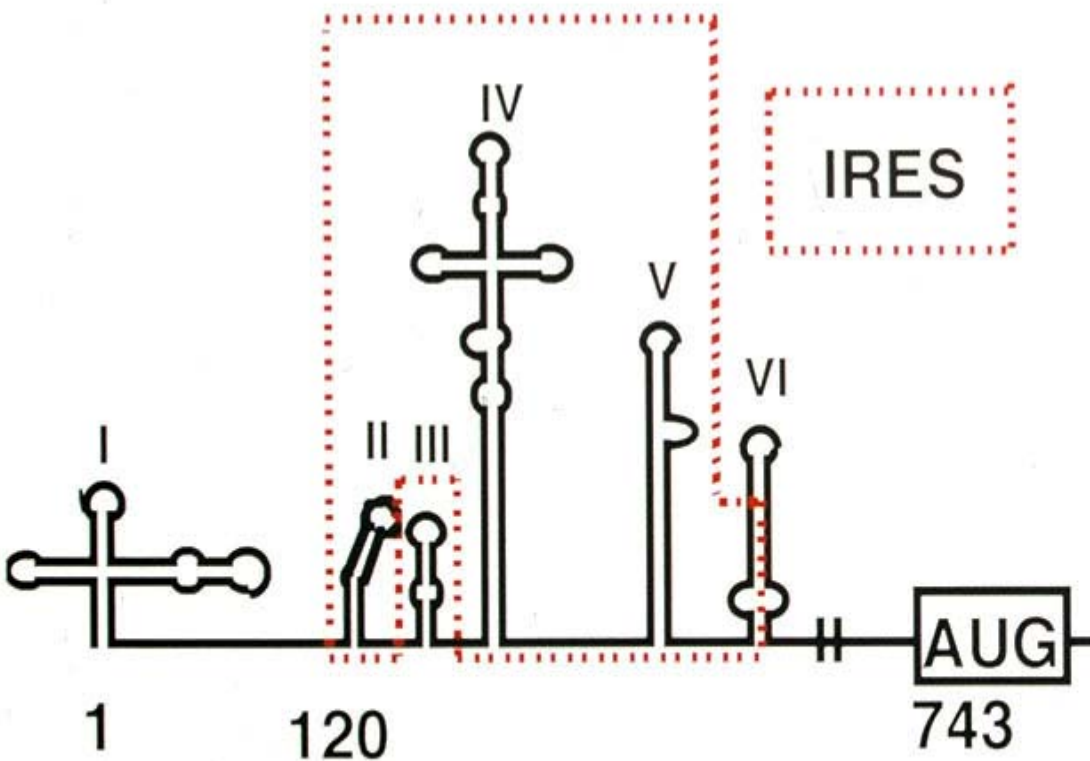


Dissemination of Poliovirus in Humans



	alimentary tract	viremia	CNS
Virulent strain	○	○	○
Attenuated strain	○	×	×

Poliovirus IRES and Host Factors



Cellular factors for IRES

La protein (SLVI)
PCBP-1,2 (SLI, IV)
PTB (SLV)

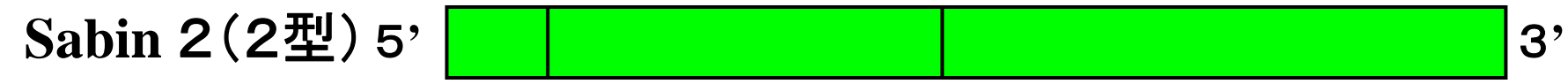
IRES: Internal Ribosome
Entry Site

Genetic stability of nucleotides that influence the attenuation phenotype of poliovirus.

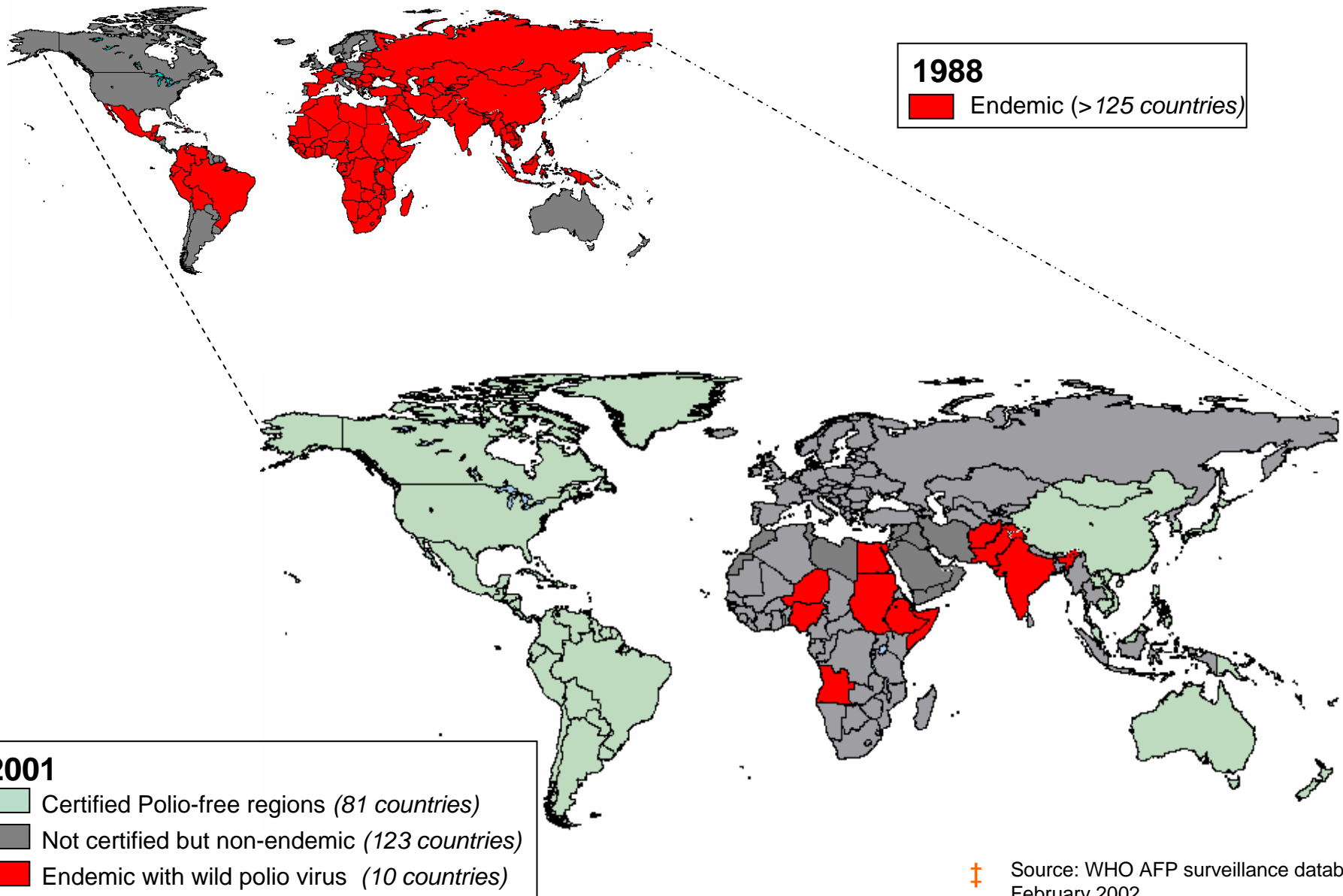
N480(Type 1)
N481(Type 2)
N472(Type 3)

Nucleotide in Sabin strain genomes	G	A	U
Nucleotides detected in excreted viruses	G(83%)	A(28%)	U(0%)
	C(100%)	A(17%)	G(72%)

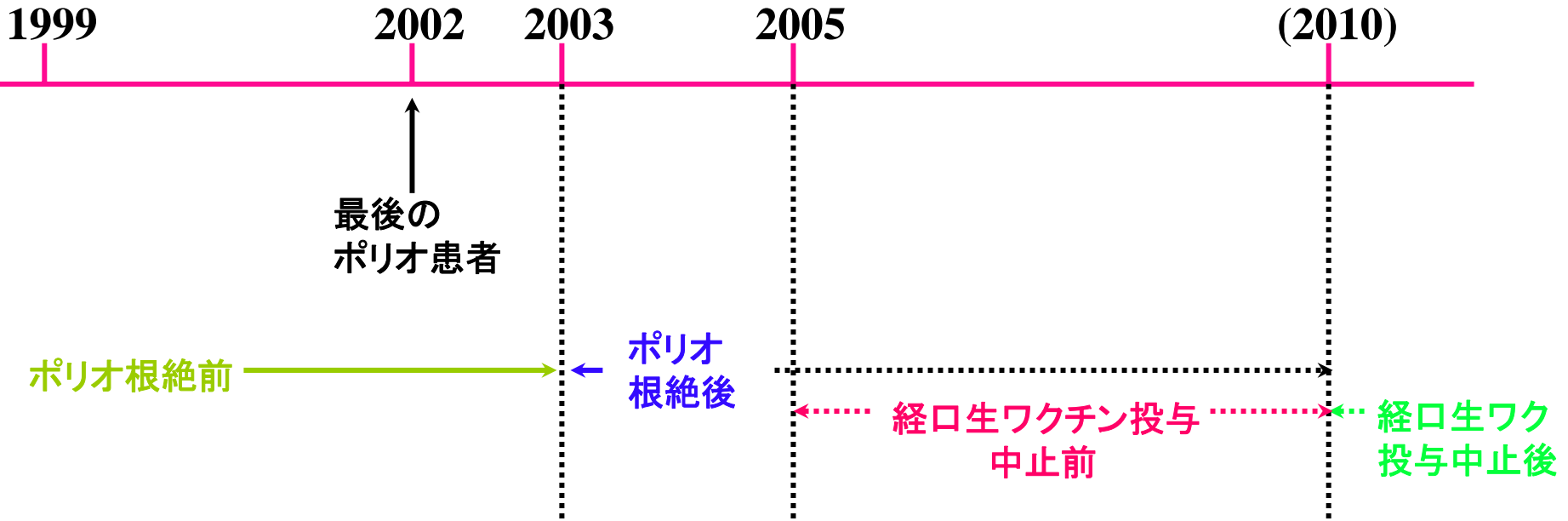
候補株



Polio Eradication Progress, 1988 - 2001



ポリオ根絶計画のWHOポリシー(2000年)



(野生株存在)

(野生株根絶)

(OPV 投与中止)

野生株
ワクチン株

BSL2
BSL2

BSL3
BSL2

BSL4
BSL3

BSL: Bio-safety level

Circulating VDPVs detected

Country	Number of cases	Virus type	
Egypt	32	Type 2	1982~
1993			
Hispaniola	17	Type 1	2000~
2001			
Philippines	3	Type 1	2001

Long-term carriers

Developed Countries

OPV → IPV → no poliovirus
no
immunization

Many Developing Countries

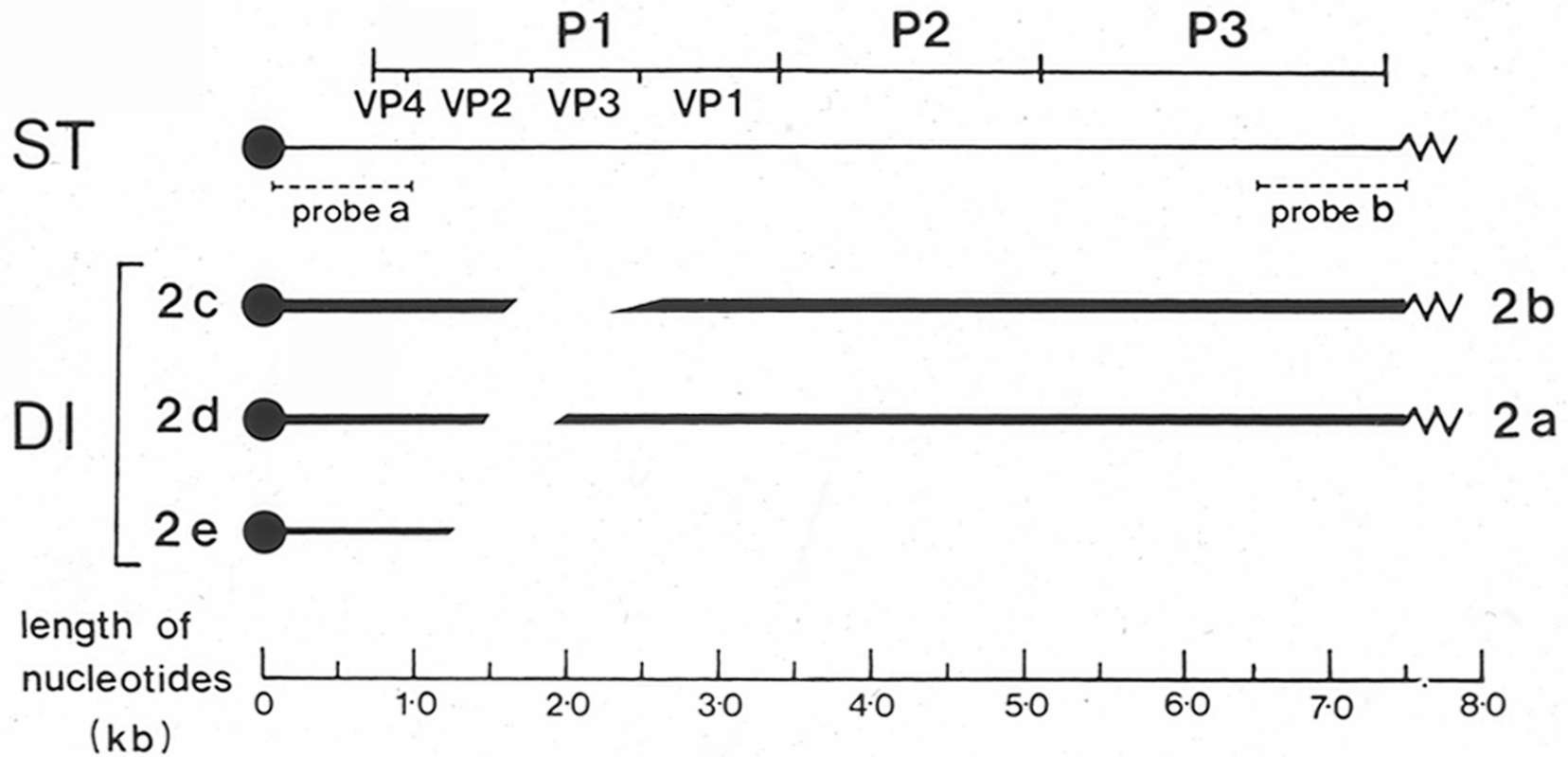
OPV

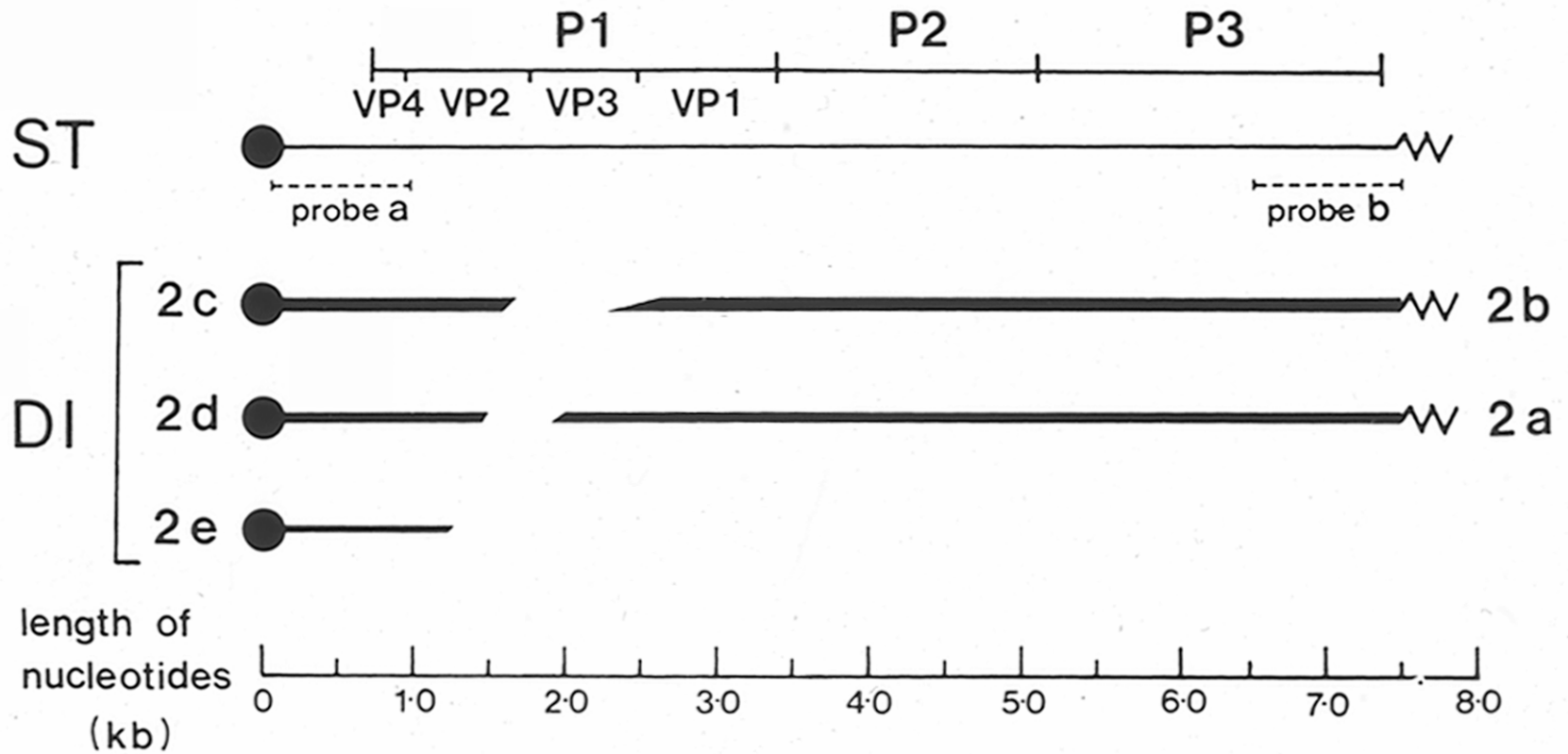


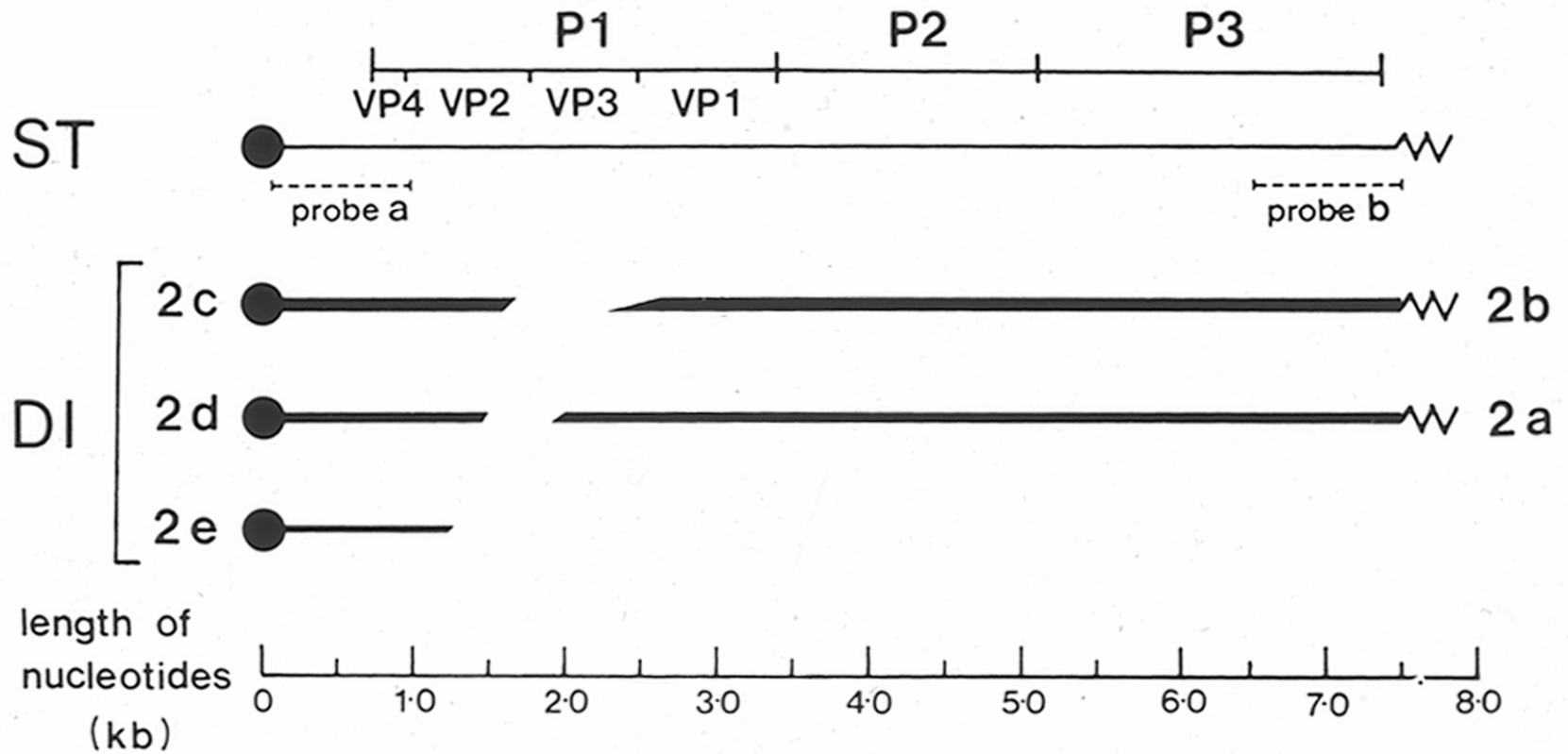
no immunization

anti-PV drugs at low costs

New OPV with high genetic stability

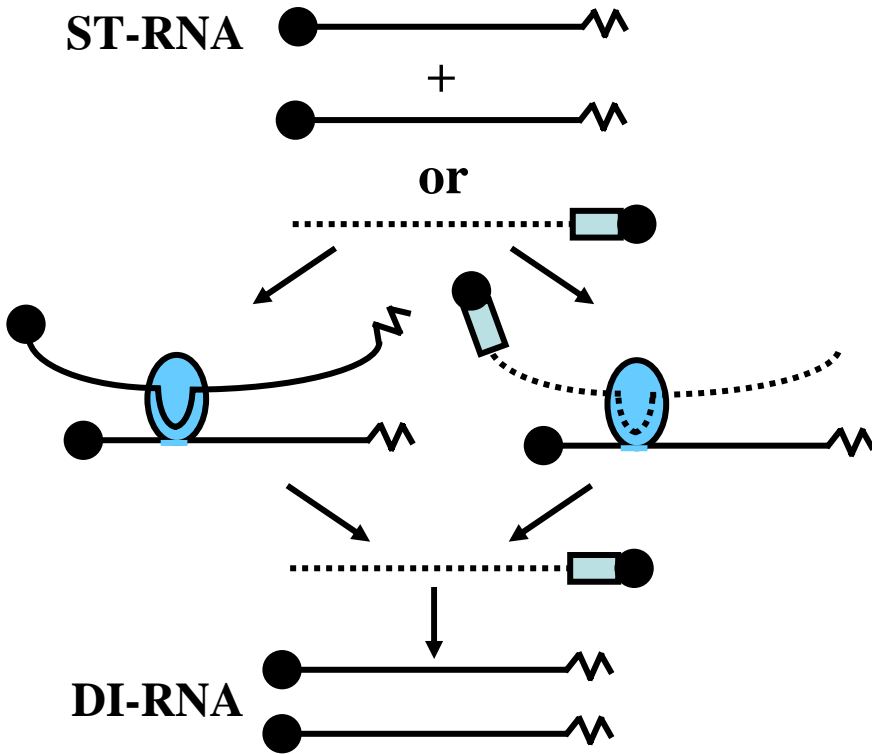






Supporting sequence-loop Model

Generation of DI particles

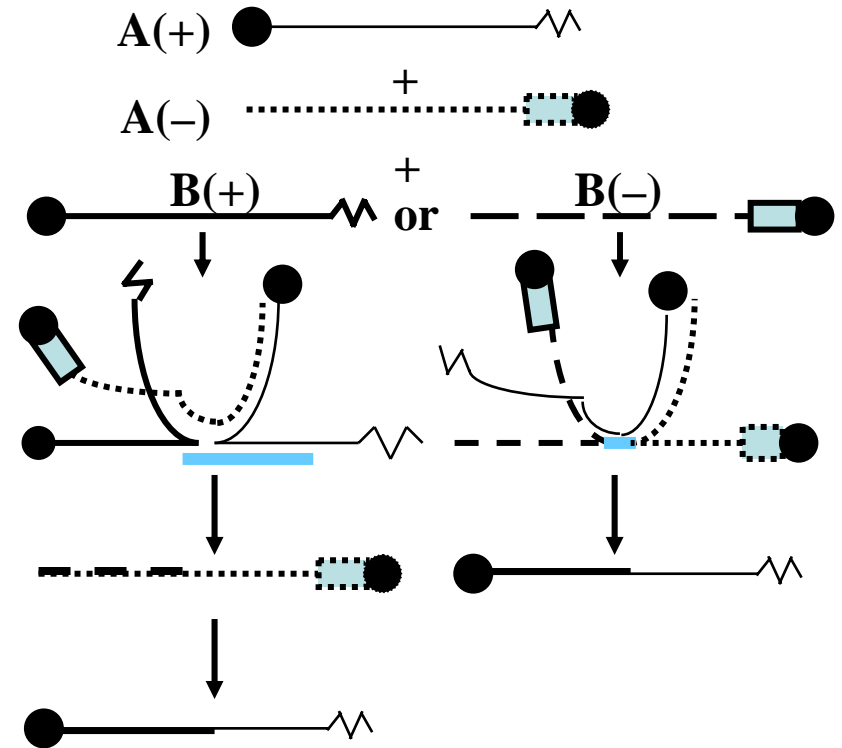


ST-RNA: RNA of Standard virus

DI-RNA: RNA of DI particle

● : VPg ⌘ : polyA □ : polyU

Generation of recombinants



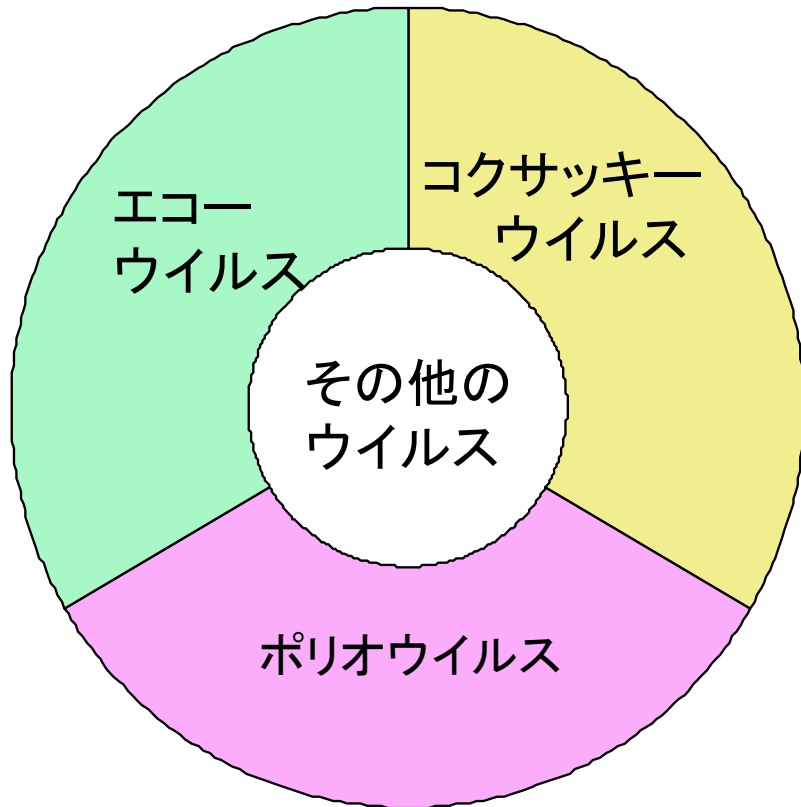
A(+): +Strand of strain A

A(-): -Strand of strain A

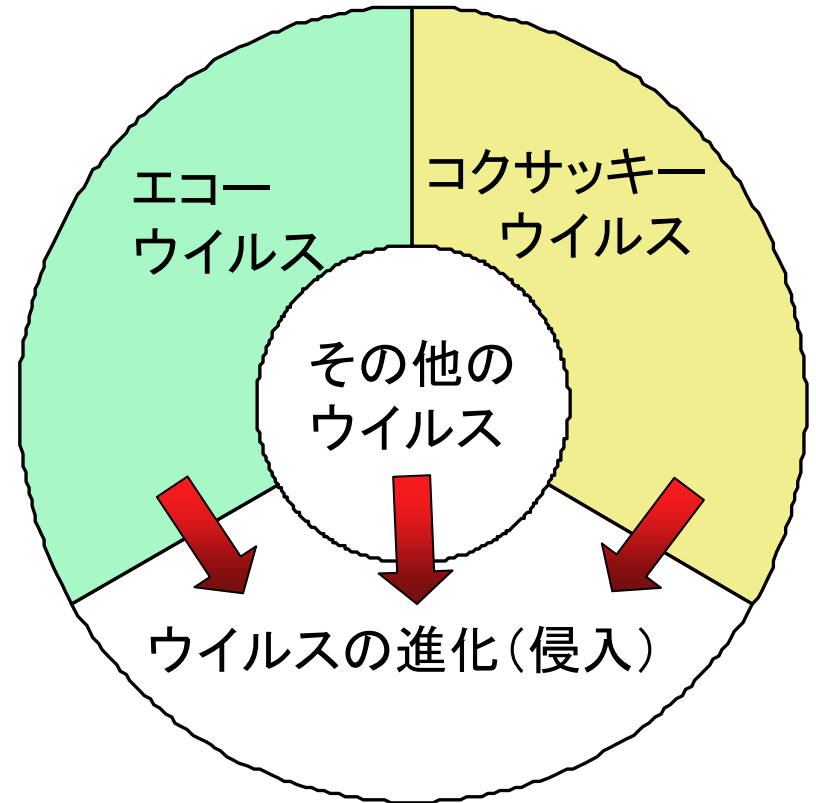
B(+): +Strand of strain B

B(-): -Strand of strain B

エンテロウイルス世界の勢力図



現在の世界



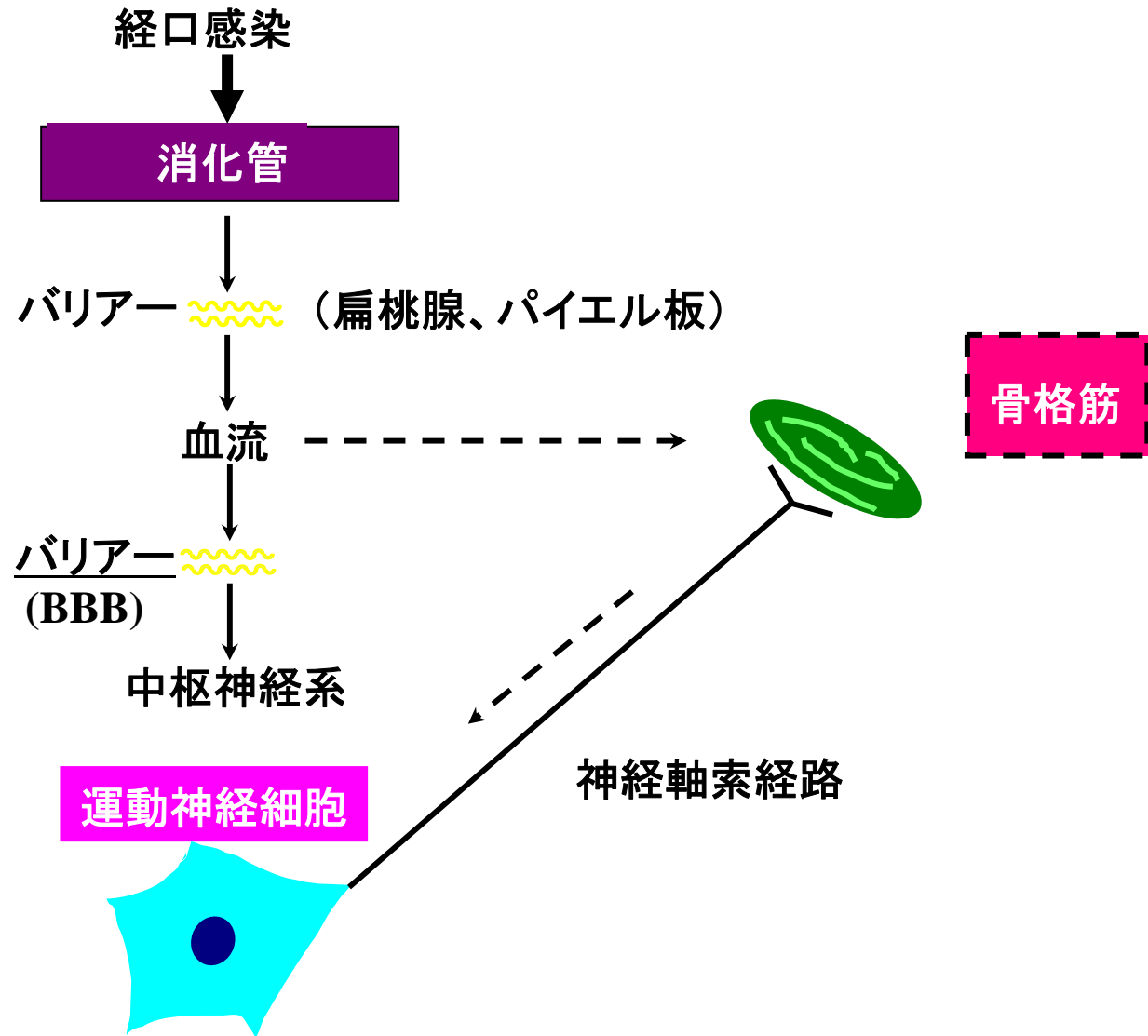
ポリオウイルス根絶後

病原微生物

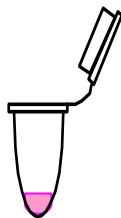
有用微生物

その他の微生物

ポリオウイルスの複製と体内伝播



PV RNA 複製活性測定方法



欠損変異体 cDNA より *in vitro*
合成した RNA



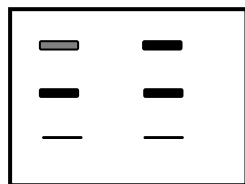
DEAE-dextran 法で RNA
トランスフェクション





HeLa 単層培養細
胞 in 6 ウェルプ
レート



トランスフェクション2時間後お
よび8時間後にRNAの抽出

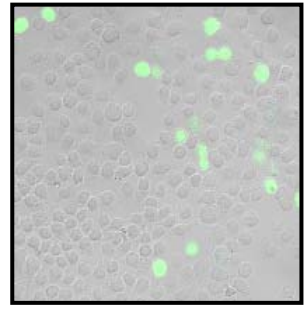


Slot blot 法による PV RNA の検出
プローブは5' 非翻訳領域 のcDNA

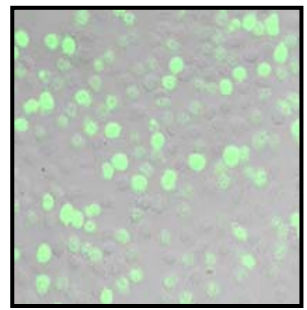
VV-P1   *in vitro* 合成した PV 欠損変異体 RNA

HeLa 単層培養細胞

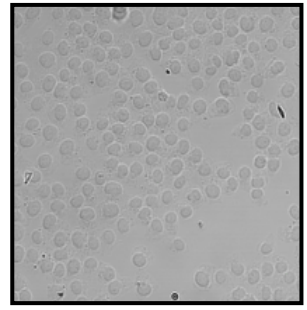
継代1



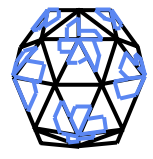
継代2

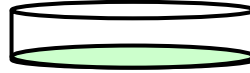


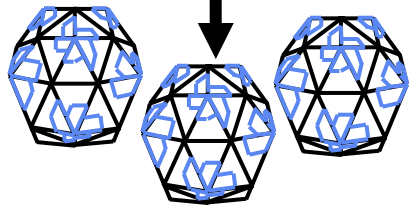
Mock



PV 欠損変異体 RNA を含んだ DI 粒子形成



VV-P1  DI 粒子の継代

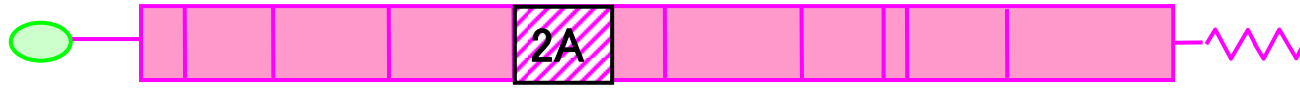


PV 欠損変異体 RNA を含んだ DI 粒子の増幅

SDS 処理によりVV-P1を除去

PV 欠損変異体 RNA のパッケージング

2A プロテアーゼの機能

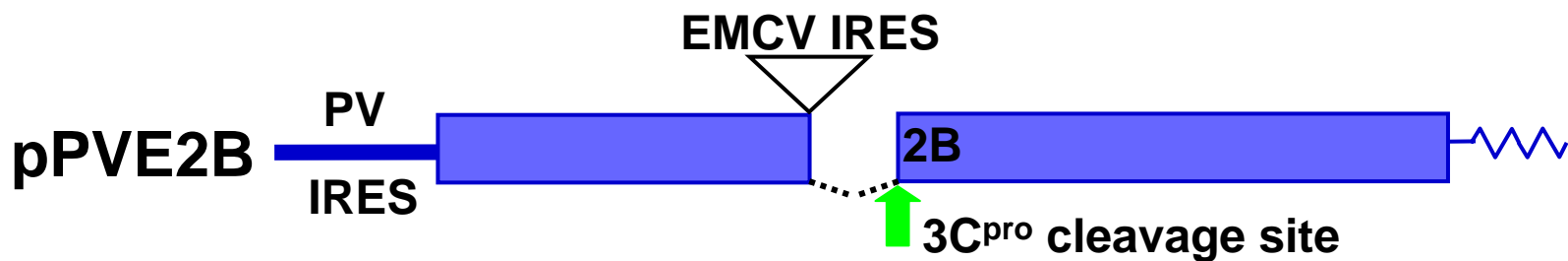
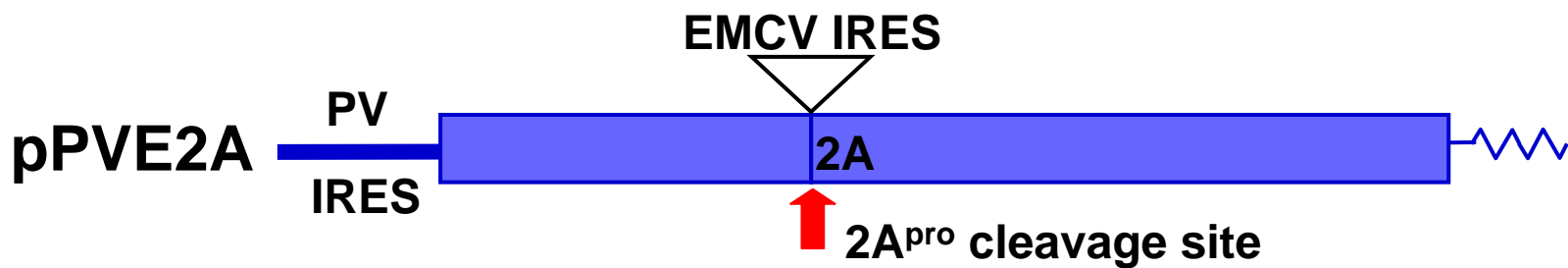
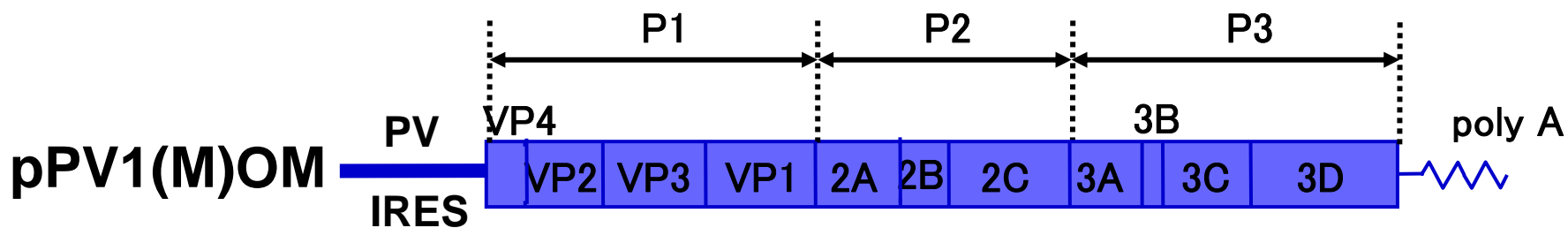


ウイルス RNA 複製

- ・必須ではないが、RNA 複製にある程度関与
- ・翻訳開始効率を高める

感染細胞に与える影響

- ・キャップ依存性翻訳の阻害
- ・細胞変性効果 (Cytopathic effect ; CPE)



発現ベクター: pSVA14

ポストゲノムのポリオ研究

