

日本学士院賞 受賞者

永井美之



専攻学科学目 ウイルス学

生年 昭和一四年八月

略歴 昭和四〇年 三月

同 四五年 三月

同 四五年 四月

同 四八年 五月

同 四九年 四月

同 五四年 四月

同 五九年 二月

平成 五年 四月

同 一〇年 六月

同 一二年 四月

同 一三年 四月

同 一七年 七月

名古屋大学医学部医学科卒業

名古屋大学大学院医学研究科博士課程満期退学

名古屋大学医学部助手

医学博士

ドイツ国 Justus-Liebig 大学ウイルス研究所研究員（昭和五一年六月まで）

名古屋大学医学部助教授

名古屋大学医学部教授

東京大学医科学研究所教授

国立感染症研究所エイズ研究センター長

名古屋大学名誉教授

富山県衛生研究所長

独立行政法人理化学研究所感染症研究ネットワーク支援センター長（現在に至る）

医学博士永井美之氏の「パラミクソウイ

ルス病原性の分子基盤の解明と新規発現

ベクターの創出」に対する授賞審査要旨

永井美之氏はパラミクソウイルス科の代表的ウイルスであるニューカッスル病ウイルス (NDV) とセンドライウイルスを主な研究対象として、パラミクソウイルス病原性発現の分子基盤を解明した。さらに、センドライウイルスを用いたリバースジェネティクスの系を確立し、ウイルスの必須遺伝子とアクセサリ遺伝子の機能を明確に位置づけた。この系を足場として、新しい作用基盤に立つセンドライウイルスベクターを開発し、今後の先端医療に新たな視点から取り組み得るベクターとしての可能性を提示した。さらに、エイズ研究において、ウイルス糖鎖の機能解析という新しい研究側面を展開した。永井氏の業績は以下の四項目に集約される。

(1) パラミクソウイルス病原性の宿主プロテアーゼ依存性の発見

培養細胞系で増殖したセンドライウイルスの感染性発現には、ウイルスのF糖蛋白質がトリプシンで切断されることが必要とされていた。永井氏は、同じパラミクソウイルス科のNDVを用い、NDV

ではF糖蛋白質が細胞質内輸送途上、ゴルジ装置でF₁とF₂にプロセスされ、感染性をもつことを明らかにした。留学先のユストス・リッビヒ大学で入手したNDVの強毒株は全身の臓器に感染して致死性を示す。弱毒株は一部臓器のみに感染し、非致死性である。永井氏はこの違いを検討し、「NDV病原性のプロテアーゼ依存性現象」を発見した。すなわち、ウイルスと細胞膜の融合による感染の開始に働く糖蛋白質「F」が全臓器に普遍的に発現しているプロテアーゼにより切断活性化されるか、限定臓器のみに発現している特異なプロテアーゼによってしか活性化されないかによって感染領域が決まる。帰国後プロテアーゼ切断の特異性を区別するF糖蛋白質内の分子モチーフを決定、さらに、強毒ウイルスのみを認識する全身で発現するプロテアーゼ、および弱毒ウイルスを認識する局所性のプロテアーゼカテゴリーを同定し、プロテアーゼ依存性病原性発現の分子基盤を確定した。この「病原性のプロテアーゼ依存性パラダイム」は、ウイルス病原性の初めての分子的理解を担っただけではなく、現在大問題になっている鳥インフルエンザウイルスの高病原性と低病原性の違いにも適用されるなど、ウイルス病原性解明における意義は非常に大きい。

(2) リバースジェネティクスの確立によるパラミクソウイルスの

増殖と病原性の理解

パラミクソウイルスをはじめ、マイナス鎖RNAゲノムをもつウイルスでは、リバーシジェネティクスの基盤となるRNAをDNAに変換し、再びウイルスとして回収する技術は新しい課題であった。永井氏はセンダイウイルスを用い、早期に、国際的にみても比類ない高効率でウイルスを回収する系を確立した。この技術を駆使して、パラミクソウイルス学における積年の課題を次々と決着させた。とくに、ウイルス増殖にとつて必須ではないという位置づけにあり、その機能も謎に包まれていた二個のアクセサリー遺伝子は、いずれも培養細胞内の増殖においては必須ではないが、個体レベルの病原性発現においては決定的に重要な役割を担うことを世界で初めて証明した。その機能の核心は、それぞれ、インターフェロン系への拮抗とIFN3に依存するが未解明の自然免疫系への拮抗にあることを発見した。以上の成果は、他のパラミクソウイルスの研究においてもアクセサリー遺伝子を焦点にし、ウイルス学と免疫学との新たな接点を拓くという今日の学問的潮流を生む契機となった点で画期的である。

(3) 遺伝毒性のない高発現細胞質RNAベクター「センダイウイルスベクター」の創出

永井氏は、センダイウイルス・リバーシジェネティクスの成果を従来のウイルスベクターとは異なる遺伝毒性のない高発現細胞質

RNAベクター「センダイウイルスベクター」の創出へと発展させた。高効率で安全性の高いベクター設計が急速に進展し、蛋白質生産、遺伝毒性のない遺伝子治療、がん治療、エイズワクチンなどへの応用のための数多くの独自で、有望な開発が進み、臨床応用が現実性を持つに至った。とくに、困難を極めるエイズワクチンの開発競争のなかで、最も有望視されるワクチン手法を提案し、臨床試験を前提とした日米共同研究の開始に至ったことは特筆に値する。

(4) エイズウイルス糖鎖の網羅的解析

パラミクソウイルスなど他のウイルスエンベロープ蛋白質は高々数個の糖鎖を持つに過ぎないが、エイズウイルスエンベロープ蛋白質gp120は二十数個もの糖鎖をもつことに着目し、膨大な数のサルエイズウイルス糖鎖欠変異感染性cDNAクロンのパネルを作製し、ウイルス感染能成立に必要な糖鎖や、複数の糖鎖を欠失したウイルスに対して宿主免疫応答が変化することを明らかにした。これは、蛋白質骨格のみに集中しがちであったエイズウイルスエンベロープ蛋白質の構造と機能の研究に新たな方向性を提示し、かつ、新たなワクチンデザインに示唆を与えるものとして高く評価される。

以上、永井氏は、三十余年にわたり、複雑かつ高次の病原性の分子的理解を促すという形で世界のウイルス研究をリードした。さら

に、純学術的必要性から生まれたセンダイウイルス・リバーシジェネティクスを世界に発信するバイオテクノロジーに育て上げた。ウイルス学において、学理と技術の両面にわたり傑出した成果をあげたことに高く評価される。

注 研究項目(3)はデイチナベック社との共同研究である。

総論

1. NAGAI Y. (1993). Protease-dependent virus tropism and pathogenicity. *Trends Microbiol.* **1**, 81-87.
2. NAGAI Y. (1999). Paramyxovirus replication and pathogenesis. Reverse genetics transforms understanding. *Rev. Med. Virol.* **9**, 83-99.
3. NAGAI Y, Kato A. (2004). Accessory genes of the *Paramyxoviridae*, a large family of nonsegmented negative-strand RNA viruses, as a focus of active investigation by reverse genetics. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **283**, 197-248.
4. NAGAI Y, Inoue M, Iida A, Zhu Y-F, Hasegawa M, Kato A, Matano T. Sendai virus engineering: From reverse genetics to vector development (2007). In "Viral Expression Vectors (KL Helfferon ed.)", pp. 123-146, *Research Signpost, Transworld Research Network*, Kerala.

総論

1. NAGAI Y, Klenk H-D, Rott R. (1976). Proteolytic cleavage of the viral glycoproteins and its significance for the virulence of Newcastle disease virus. *Virology* **72**, 494-508.
2. NAGAI Y, Klenk H-D. (1977). Activation of precursors to both glycoproteins of Newcastle disease virus by proteolytic cleavage. *Virology* **77**, 125-134.
3. Toyoda T, Sakaguchi T, Imai K, Inocencio NM, Gotoh B, Hamaguchi M,

- NAGAI Y. (1987). Structural comparison of the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein between virulent and avirulent strains of Newcastle disease virus. *Virology* **158**, 242-247.
4. Gotoh B, Ogasawara T, Toyoda T, Inocencio NM, Hamaguchi M, NAGAI Y. (1990). An endoprotease homologous to the blood clotting factor X as a determinant of viral tropism in chick embryo. *EMBO J.* **9**, 4189-4195.
5. Ogasawara T, Gotoh B, Suzuki H, Asaka J, Shimokata K, Rott R, NAGAI Y. (1992). Expression of factor Xa and its significance for the determination of paramyxovirus tropism in the chick embryo. *EMBO J.* **11**, 467-472.
6. Ohnishi Y, Shioda T, Nakayama K, Iwata S, Gotoh B, Hamaguchi M, NAGAI Y. (1994). A furin-defective cell line is able to process correctly the gp160 of human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* **68**, 4075-4079.
7. Kato A, Sakai Y, Shioda T, Kondo T, Nakanishi M, NAGAI Y. (1996). Initiation of Sendai virus multiplication from transfected viral cDNA or RNA with negative or positive sense. *Genes Cells* **1**, 569-579.
8. Kato A, Kiyotani K, Sakai Y, Yoshida T, NAGAI Y. (1997). The paramyxovirus, Sendai virus, V protein encodes a luxury function required for viral pathogenesis. *EMBO J.* **16**, 578-587.
9. Yu D, Shioda T, Kato A, Hasan MK, Sakai Y, NAGAI Y. (1997). Sendai virus-based expression of HIV-1 gp120: reinforcement by the V(-) version. *Genes Cells* **2**, 457-466.
10. Kurotani A, Kiyotani K, Kato A, Shioda T, Sakai Y, Mizumoto K, Yoshida T, NAGAI Y. (1998). The Sendai virus C proteins are categorically nonessential gene products but silencing their expression severely impairs viral replication and pathogenesis. *Genes Cells* **3**, 111-124.
11. Ohgimoto S, Shioda T, Mori K, Nakayama EE, Hu H, NAGAI Y. (1998). Location specific, unequal contribution of the N-glycans in SIV gp120 to viral infectivity and removal of multiple glycans without disturbing infectivity. *J.*

- Virology* **72**, 8365-8370.
12. Gotoh B, Takeuchi K, Komatsu T, Yokoo J, Kimura Y, Kato A, Kurotani A, NAGAI Y. (1999). Knockout of the Sendai virus C genes eliminates the viral ability to prevent the interferon- α/β mediated responses. *FEBS Lett.* **459**, 205-210.
 13. Kato A, Kiyotani K, Hasan MK, Shiota T, Sakai Y, Yoshida T, NAGAI Y. (1999). Sendai virus gene start signals are not equivalent in reinfection capacity: Moderation at the F gene. *J. Virology* **73**, 9237-9246.
 14. Kano M, Matano T, Nakamura H, Takeda A, Ariyoshi K, Mori K, Sata T, NAGAI Y. (2000). Elicitation of protective immunity against simian immunodeficiency virus by a recombinant Sendai virus expressing the Gag protein. *AIDS* **14**, 1281-1282.
 15. Yonemitsu Y, Kitson C, Ferrari S, Farley R, Griesenbach U, Judd D, Steel R, Scheid P, Zhu J, Jeffery PK, Kato A, Hasan MK, NAGAI Y, Fukumura M, Hasegawa M, Geddes DM, Alton E WFW. (2000). Efficient gene transfer to airway epithelium using recombinant Sendai virus. *Nature Biotechnol.* **18**, 970-973.
 16. Li H-O, Ueda Y, Asakawa M, Kuna H, Hirata T, Lee Y-S, Fukumura M, Iida A, Kato T, NAGAI Y, Hasegawa M. (2000). A cytoplasmic RNA vector derived from non-transmissible Sendai virus with efficient gene transfer and expression. *J. Virology* **74**, 6564-6569.
 17. Mori K, Yasutomi Y, Ohgimoto S, Nakasone T, Takamura S, NAGAI Y. (2001). A quintuple deglycosylation mutant of SIMvac 239 in the mouse macaques. Robust primary replication, severely impaired chronic infection and elicitation of potent immunity against the wild-type strain. *J. Virology* **75**, 4023-4028.
 18. Masaki I, Yonemitsu Y, Yamashita A, Sata S, Tani M, Komori K, Nakagawa K, Hou X, NAGAI Y, Hasegawa M, Sugimachi K, Suetishi K. (2002). Angiogenic gene therapy for experimental critical limb ischemia: acceleration of limb loss by overexpression of vascular endothelial growth factor 165 but not of fibroblast growth factor-2. *Circ Res.* **17**, 966-973.
 19. Kato A, Cortese-Grogan C, Moyer SA, Sugahara F, Sakaguchi T, Kubota T, Otsuki N, Kohase M, Tashiro M, NAGAI Y. (2004). Characterization of the amino acid residues of Sendai virus C protein that are critically involved in its interferon antagonism and RNA synthesis down-regulation. *J. Virology* **78**, 7443-7454.
 20. Kinoh H, Inoue M, Washizawa K, Yamamoto T, Fujisawa S, Tokusumi Y, Iida A, NAGAI Y, Hasegawa M. (2004). Generation of a recombinant Sendai virus that is selectively activated and lyses human tumor cells expressing matrix metalloproteinases. *Gene Ther.* **11**, 1133-1145.
 21. Matano T, Kobayashi M, Igarashi H, Takeda A, Nakamura H, Kano M, Sugimoto C, Mori K, Iida A, Hirata T, Hasegawa M, Yuasa T, Miyazawa M, Takahashi Y, Yasunami M, Kimura A, O'Connor DH, Watkins DL, NAGAI Y. (2004). Cytotoxic T lymphocyte-based control of simian immunodeficiency virus replication in a preclinical AIDS vaccine trial. *J. Exp. Med.* **199**, 1706-1718.
 22. Yoshizaki M, Hironaka T, Iwasaki H, Ban H, Tokusumi Y, Iida A, NAGAI Y, Hasegawa M, Inoue M. (2006). Naked Sendai virus vector lacking all of the envelope-related genes: reduced cytopathogenicity and immunogenicity. *J Gene Med.* **8**, 1151-1159.
 23. Kato A, Kiyotani K, Kubota T, Yoshida T, Tashiro M, NAGAI Y. (2007). Importance of the anti-interferon capacity of Sendai virus C protein for pathogenicity in mice. *J. Virology* **81**, 3264-3271.
 24. Kiyotani K, Sakaguchi T, Kato A, NAGAI Y, Yoshida T. (2007). Paramyxovirus Sendai virus V protein counteracts innate virus clearance through IRF-3 activation, but not via interferon, in mice. *Virology* **359**, 82-91.