

帰国後 2 週間以内に提出してください (厳守) A4 用紙 4 枚以内

(海外・国内) インターンシップ報告書

2017 年 10 月 6 日提出

氏名	平野 港
所属	公衆衛生学教室
学年	4 年
活動先名	Duke-NUS Graduate Medical School, Singapore
期間 ① (出発日―帰札日) ② (インターンシップ 実施開始日―終了日)	① 2017 年 9 月 1 日-10 月 1 日 ② 2017 年 9 月 4 日-9 月 29 日

・活動目的及びインターンシップ先を選択した理由

デングウイルスが引き起こすデング熱・デングショック症候群は世界人口の 1/3 が感染リスクにあるとされる、蚊媒介性ウイルス感染症である。その疫学的重要性から、フラビウイルス属ウイルスのなかでも特に研究が盛んに行われており、シンガポールはその中心地の一つである。私が現在研究を行っているダニ媒介性脳炎ウイルスはデングウイルスと同属のフラビウイルス属に属するが、両ウイルスはかなり前の年代に分岐したとされ、その性状はウイルス間で異なっている。私は今回のインターンシップを通し、ウイルスの感染機構について理解を深めたいと考えた。特に、蚊媒介性のデングウイルスについて、ウイルスゲノムが制御するウイルス感染・病態メカニズムをダニ媒介性フラビウイルスと比較することにより、フラビウイルス全般にわたる多角的な知識を身につけることを目的の 1 つとした。

また、私は現在のキャリアパスとして、大学等の研究機関に所属し、学術的な視点から One Health に貢献することを志望している。海外での研究生活を経験することで、研究技術だけでなく、日本国外における研究者としてのあり方を学びたい。具体的には、以下の 4 点について学びたいと考えた。(1) 海外におけるポストドクローラルフェローの受入状況と受入条件。(2) 博士課程後期やポストドクローラルフェローのキャリア形成に必要な経験、教育歴、および自己学習の内容。(3) 将来的に PI として独立する上で、必要な予算や学生の獲得方法。(4) 共同研究の為人脈形成から研究開始までの経緯。このインターンシップは将来的に研究者として自立するための視点を確立するための経験を得ることも目的とした。

活動先で受け入れ研究者となる Dr. Eng Ong Ooi は、感染現象の分子メカニズムから疫学的な性状解析までデングウイルスに関する研究を精力的に推進している。また、2015 年度のリーディングプログラムにおける Leading Seminar に私が学生ホストとして招聘した経緯もあり、Dr. Ooi は本インターンシップに関してよく理解しており、受け入れに大変好意的であった。

・ 活動内容・ 成果（2,000 字程度、活動内容が判る様な写真や図表を加えて下さい）

本インターンシップはシンガポール国立大学の Duke-NUS Graduate Medical School（以下 Duke-NUS）において行われた（写真 1）。同大学はアジア随一の規模および研究力を持つ大学であり、Times 社の大学国際競争力ランキングにおいても上位にランキングされている。また、英語を公用語とする利点を活かし世界中から学生および研究者を集めており、非常に国際色豊かである。Duke-NUS はシンガポール、ひいてはアジアの生命医学研究の推進および産学連携の強化を目的として 2005 年に設立された。シンガポール科学技術研究庁およびシンガポールヘルスサービス（同国を代表する医療組織）と非常に密接に連携しており、臨床展開を見据えた研究を行っている。Duke-NUS は 5 つの研究領域を主要領域として極めて活発に研究を行っており、私はその中でも Emerging Infectious Disease Programs にてインターンを行った。



写真 1 Duke-NUS Medical School

受入研究者である Dr. Ooi は病理専門医としてのバックグラウンドを持ち、デング熱・デングショック症候群の病原機構の解明および予防法の開発に関する研究を行っている。特に、ウイルス遺伝子を任意の形に組み替えるリバーシジェネティクス法を利用し、適切な免疫を惹起するよう遺伝子レベルでデザインされたワクチンの開発を研究の中心に据えている。Dr. Ooi の研究室には総計 16 名が所属している（写真 2）。人数の上では中規模であるが、そのうち 6 名が学生ではなく研究を主要な業務とするポスドクであり、非常にアクティブな研究室であると言える。獣医学研究院および人獣共通感染症リサーチセンターにはポスドクが中心的な構成員となっている研究室はなく、このような研究環境は新鮮な経験であった。また、上記の様に Duke-NUS 自体が臨床展開を主眼としていることもあり、同研究室においても国内外の製薬会社との共同研究を中心に行う職員が 1 名所属しており、デングウイルスに対する抗ウイルス薬の薬効評価などを行っていた。北海道大学においても産学連携は重要な課題である。しかし、専門職員を大学側が配置し職務を行うほど密接な連携は行われておらず、非常に参考になった。



写真 2 研究室メンバーとの会食

本インターンシップではデングウイルスのリバーシジェネティクス法を学ぶことを大きな目的として設定した。リバーシジェネティクス法とは、ウイルスの遺伝子をプラスミドに組み込み、そこから人工的にウイルスを再合成する手法である。ウイルス遺伝子への人工的な変異導入や外

来遺伝子の挿入などが可能であり、現代のウイルス性状解析の中心となる手法のひとつである。デングウイルスはプラスミドの遺伝子配列の安定性に問題があり、リバーシジェネティクス法の確立に問題があった。Dr. Ooi らは、ウイルス遺伝子を6分節に分けてプラスミド化し、正確性の高い耐熱性 DNA 合成酵素にて PCR を行った後にウイルスを再構成するという手法により、この問題を回避しており、安定した実験を行ってきた。まず私は本手法を学ぶため、研究室にて同定されたワクチン作成に重要な遺伝子変異をデングウイルス2型に導入する、という課題を与えられた。この課題では、すでに樹立されていたリバーシジェネティクスの系に点変異を導入するものであったため、比較的スムーズに課題を達成することができた。そこで、自ら新たな実験課題を作成し、残りの期間実験を行った。

デングウイルスには1～4型の血清型が存在し、流行国においては定期的に循環するウイルスの血清型の置換が報告されている。シンガポールにおいても2013年に2型から1型への置換および、大規模な流行が報告された。私は、デングウイルス1型の遺伝子変異がこの血清型置換を引き起こしたのではないかと、この仮説のもと解析を行った。ウイルス遺伝子データベースであるViPRを用いて、2013年より前と後のデングウイルス1型の遺伝子配列を比較したところ、遺伝子の5'非翻訳領域に2塩基の連続した有意な変異が発見された(図3)。この遺伝子変異は流行後に高度に保存されていた。また、遺伝子RNAの構造予測ソフトウェアを用いた解析により、同変異は遺伝子RNAの立体構造を不安定化させることが示された。そこで、リバーシジェネティクス法により実際に同部位を変異させたウイルスを作出し、性状解析を試みることにした。野生型のウイルス遺伝子のプラスミド化および、変異導入の実験計画の立案までは行うことができたが、ウイルスを再合成し性状解析を行うまでは滞在時間が足りず、実施できなかった。

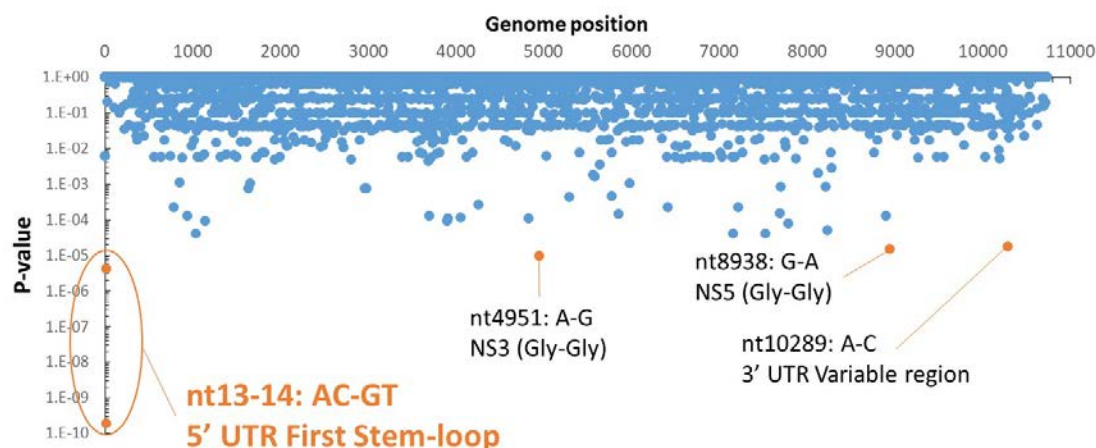


図3 2013年以降に認められたデングウイルス1型の遺伝子変異

- ・今後のキャリアパスを考える上でどのようにプラスになったか。

獣医学院および人獣共通感染症リサーチセンターの卒業生で、海外にポスドクとして就職する人数は決して多いとは言えず、また、海外に就職するため直接話を聞く機会が得づらかった。本インターンシップでは、Duke-NUS に所属する多くのポスドクから、どのような形で情報を収集しているか、将来的にどのようなキャリアパスを持っているかなどの情報収集ができたことが最も得難い経験であった。

・後輩へのアドバイス

博士課程の4年間は決して長いとは言えず、あっという間に過ぎ去ってしまいます。その間に私たちは博士号の為の研究をし、また就職先を見つけなければなりません。本インターンシップは卒業後の進路を決める上で非常に良い機会です。インターンシップとして、リアルに就職に結びつく可能性が高いところに飛びこんで見ましょう。現場でしか見られない・感じられないことは多くあると思います。

指導教員確認欄	指導教員所属・職・氏名 公衆衛生学教室・教授 荻和 宏明
---------	--

※1 電子媒体を国際連携推進室・リーディング大学院担当に提出して下さい。

※2 インターンシップ先の担当者が活動内容を証明した文書（署名入り）を提出して下さい。

※3 本報告書はリーディングプログラムキャリアパス支援委員会で内容を確認します。その後、教務委員会で単位認定を受けることになります。

提出先：VETLOG

内線：9545 e-mail: leading@vetmed.hokudai.ac.jp