

従来にないユニークな性状を呈する新規受容体を介したヘルペスウイルス侵入機構の解析

東京大学 医科学研究所 感染・免疫部門 ウイルス病態制御分野
川口 寧

研究目的

単純ヘルペスウイルス (HSV: herpes simplex virus) は、ヒトに脳炎、口唇ヘルペス、生殖器ヘルペス、皮膚疾患、眼疾患、全身性の新生児ヘルペスといった多様な疾患を引き起こす。最近申請者はHSVの主要受容体としてnon-muscle heavy chain II (NMHC-II) を同定した (Nature, 2010)。本研究では、申請者が独自に見出したNMHC-IIを介したHSV侵入機構やウイルス侵入開始時に引き起こされるユニークなNMHC-IIの細胞表面誘導機構をウイルス学的、細胞生物学的、および分子生物学的に解析することを目的とする。

結果

NMHC-IIにはNMHC-IIA, NMHC-IIB, NMHC-IICといった3つのアイソフォームが存在する。これら3つのアイソフォームの中でNMHC-IIAおよびNMHC-IIBが様々な細胞種で主要な役割を果たしていることが知られている。申請者は既に、NMHC-IIAがHSVの機能的受容体であることを報告したが、NMHC-IIBがHSVの受容体であるかは不明であった。NMHC-IIBは生体内において特に神経系の細胞に高発現していることが報告されている。神経細胞はHSVの主要標的細胞であるので、NMHC-IIBがNMHC-IIA同様にHSVの受容体であるかを明らかにすることは重要であると考えられる。そこで本研究では、NMHC-IIBがHSVの受容体となり得るかを解析した。結果は、以下の通りである。

- (i) COS-1細胞において、NMHC-IIAが発現せず、NMHC-IIBのみが特異的に発現していることを確認した。また、HSV感染直後のCOS-1細胞溶解液を用いた共免疫沈降法より、NMHC-IIAと同様に、HSVエンベロープ糖蛋白質gBが感染直後にNMHC-IIBと会合することが明らかになった (図1)。

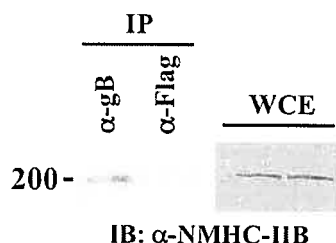


図1. HSVをCOS-1細胞に感染させた2分後に感染細胞を溶解し、抗gB抗体を用いた免疫沈降を行い、抗NMHC-IIB抗体を用いたイムノブロッティングで共沈降したNMHC-IIBを検出した。

- (ii) IC21細胞にNMHC-IIBを過剰発現する細胞株 (IC21/NMHC-IIB) を作製した。IC21/NMHC-IIB細胞株はコントロール細胞であるIC21/puroと比して、HSVの感受性が亢進していた。以上の結果から、NMHC-IIBはHSV感染を媒介できることが明らかとなった (図2)。

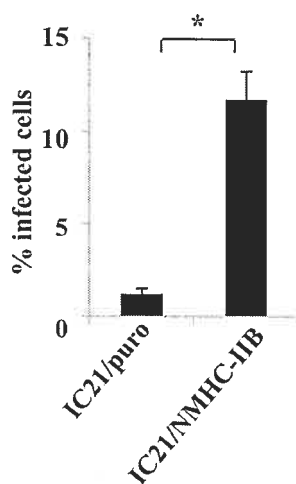


図2. IC21/puroおよびIC21/NMHC-IIBにHSVを感染させた際の感染陽性率。

(iii) COS-1細胞においてNMHC-IIBの発現をsh RNAでノックダウンさせた細胞株(COS/shNMHC-IIB)およびコントロールのsh RNAを発現する細胞株(COS/shControl)を複製した。COS/shNMHC-IIB細胞では、COS/shControl細胞と比して、HSVの感受性が有意に低下していた(図3)。

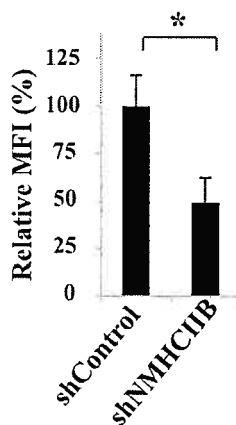


図3. COS/shControlおよびCOS/shNMHC-IIBにHSVを感染させた際の感染陽性率。

(iv) ウイルスエンベロープと細胞膜の融合にはHSVのエンベロープ糖蛋白質gB, gD, gH, gLが必要である。gB, gD, gH, gLを細胞に過剰発現している細胞とHSV受容体が発現している細胞を混合すると、エンベロープと細胞膜の融合を模倣した現象が引き起こされ、細胞融合が起こる(fusion assay)。COS-1細胞にgB, gD, gH, gLを過剰発現した細胞とCOS/shNMHC-IIB細胞との融合は、COS/shControl細胞とのそれと比して明らかに低下していた。以上のことより、NMHC-IIBはエンベロープと細胞膜との融合にも関与していることが示唆された(図4)。

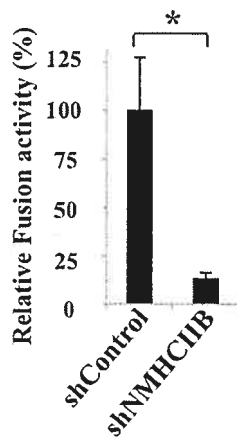


図 4. Fusion assayにおけるNMHC-IIBノックダウンの影響。

以上の結果からNMHC-IIBはNMHC-IIAと同様にHSVの機能的受容体であることが明らかになった。

考察

NMHC-IIの制御阻害剤は、培養細胞レベルだけでなく、動物病態モデルレベルでもHSV感染を阻害することを我々は既に報告している(Nature, 2010)。これらの知見は、NMHC-II自体、およびその制御機構を標的としてHSVに対する新しい抗ウイルス薬を開発できることを示唆している。本研究において、NMHC-IIAだけでなく、NMHC-IIBもHSVの機能的受容体であることが明らかになったことから、NMHC-IIAおよびNMHC-IIBに共通する構造や機能、さらには制御機構を標的とした抗HSV剤を開発することが、より効果的な抗ウイルス剤開発には重要であることが示唆された。

発表論文

T. Imai, J. Arii, A. Minowa, A. Kakimoto, N. Koyanagi, A. Kato and **Y. Kawaguchi**. (2011) Role of the Herpes Simplex Virus 1 Us3 Kinase Phosphorylation Site and Endocytosis Motifs in Envelope Glycoprotein B in Its Intracellular Transport and Neurovirulence. **J. Virol.** 85: 5003-5015.