

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15138

研究課題名(和文) HSV細胞間感染受容体の同定

研究課題名(英文) Identification of receptor for cell-to-cell infection of HSV

研究代表者

有井 潤 (Arii, Jun)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：30704928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、単純ヘルペスウイルス(HSV)による細胞間感染に焦点を当てて解析し、HSV細胞間感染を促進する宿主因子を新たに同定した。本因子は、HSV細胞感染に重要な役割を担っているウイルスタンパク質gEと会合し、gEに依存した細胞感染に必要であった。HSVは生体内においてはほとんど細胞外ウイルスを放出せず、細胞間感染に伝播を依存していると考えられている。すなわち、HSV細胞間感染の分子機構の理解は、新しい抗ウイルス戦略構築の一助になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the mechanism of HSV cell-to-cell infection and identified new cellular factor which promotes cell-to-cell infection of HSV. This protein was interacted with viral gE, which is known to be important for cell-to-cell infection. Moreover, this protein was required for gE-dependent cell-to-cell infection. Thus, understanding of molecular mechanism of cell-to-cell infection of HSV may indicate new prophylactic and therapeutic approaches for the development of antiherpetic drugs.

研究分野：ウイルス学

キーワード：HSV glycoprotein 膜タンパク質 細胞間感染

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 単純ヘルペスウイルス (HSV) は、ヒトに脳炎、性器ヘルペス、眼疾患、新生児ヘルペスといった多様な疾患を引き起こす医学上重要なウイルスの一つである。多くの場合ウイルス学では、感染細胞から培養液に放出されたウイルスを“ウイルス液”として実験に用いる。HSV の場合、この cell free のウイルスによって引き起こされる感染とは全く異なる感染様式として、ウイルス粒子が細胞外に放出されず直接隣の細胞に感染する方法 (細胞間感染) が存在することが知られている。特に生体内においてはほとんど cell free のウイルスが検出されず、主に細胞間を伝播していると考えられている。また細胞間感染は、薬剤や抗体のアクセスに抵抗するため、抗ウイルス戦略上無視できない。このように細胞間感染の重要性は明らかである一方で、cell free のウイルスによる感染と比較して、その複雑さからあまり研究はされておらず、詳細なメカニズムは全く分かっていない

(2) HSV 細胞間感染にはウイルスのコードする gE が必要であり、細胞間に gE 受容体が存在すると考えられてきた。また HSV による細胞間感染の効率、細胞種ごとに大きく異なる。特に HeLa 細胞は、single step の HSV 増殖はほかの細胞同様に効率よく行えるものの、plaque 形成能が極端に低い。HeLa 細胞では細胞感染を仲介する因子が低発現となっていると考えた。

## 2. 研究の目的

本申請は、HSV 細胞間感染に関与する宿主因子を同定し、その詳細なメカニズムを明らかにすることを目的とする。特に細胞間感染受容体の同定を試みる。

## 3. 研究の方法

(1) HSV 感染細胞より gE を Myc 抗体および Flag 抗体で免疫沈降したのち、高感度質量解析器に供することで、gE と結合する宿主因子を網羅的に同定した。

(2) Vero 細胞の cDNA library を HeLa 細胞に導入し、HSV による plaque 形成能が上昇したものを選抜し、挿入されていた cDNA を決定することで、HSV 細胞間感染を促進する宿主因子を探索した。

(3) 上記二つのスクリーニングから、共通して得られたもの、すなわち gE と会合し、HSV 細胞間感染を促進する因子に注目して解析を行った。

## 4. 研究成果

(1) 上記二つのスクリーニングからともに得られた候補因子 gEbp1 を得た。gEbp1 は

真核細胞に広く保存された膜タンパク質である。

(2) gEbp1 は gE 依存的に HSV の細胞間感染を促進した。また gEbp1 の発現抑制は、gE 依存的な細胞間感染を阻害した。すなわち、この宿主膜タンパク質は、HSV 細胞間感染に必須と考えられる。

本研究によって同定された新規宿主因子 gEbp1 は、これまで存在が予測されてきた gE 受容体となり得ると考えられる。すなわち、gE と会合し、細胞感染を促進する機能がある。実際に、gEbp1 の外来性発現は、細胞間感染がほとんど起こらない HeLa 細胞だけでなく、細胞間感染が効率的におこる A549 細胞においても細胞間感染を増強し、巨大な plaque を形成させる。現在、細胞間の膜融合や、感染性粒子の細胞接着面への輸送など、gEbp1 が直接促進しているステップを検証しているところである。gEbp1 の解析から、これまで不明であった HSV 細胞間感染の分子機構の一面を明らかにできるのではないかと考えられる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

Y. Maruzuru, T. Ichinohe, R. Sato, K. Miyake, T. Okano, T. Suzuki, T. Koshiba, N. Koyanagi, S. Tsuda, M. Watanabe, **J. Arie**, A. Kato, and Y. Kawaguchi. (2018) Herpes Simplex Virus 1 VP22 Inhibits AIM2-dependent Inflammasome Activation to Enable Efficient Viral Replication. **Cell Host & Microbe** 23:254-265 査読あり doi: 10.1016/j.chom.2017.12.014.

N. Koyanagi, T. Imai, K. Shindo, A. Sato, W. Fujii, T. Ichinohe, N. Takemura, S. Kakuta, S. Uematsu, H. Kiyono, Y. Maruzuru, **J. Arie**, A. Kato and Y. Kawaguchi. (2017) Herpes simplex virus-1 evasion of CD8+ T cell accumulation contributes to viral encephalitis. **J. Clin. Invest.** 127: 3784-3795. 査読あり doi: 10.1172/JCI92931.

R. Kobayashi, A. Kato, H. Sagara, M. Watanabe, Y. Maruzuru, N. Koyanagi, **J.**

Arii and Y. Kawaguchi. (2017) Herpes Simplex Virus 1 Small Capsomere-Interacting Protein VP26 Regulates Nucleocapsid Maturation. **J. Virol.** 91: e01068-17. 査読あり doi: 10.1128/JVI.01068-17.

F. Maeda, J. Arii, Y. Hirohata, Y. Maruzuru, N. Koyanagi, A. Kato and Y. Kawaguchi. (2017) Herpes Simplex Virus 1 UL34 Protein Regulates the Global Architecture of the Endoplasmic Reticulum in Infected Cells. **J. Virol.** 91: e00271-17. 査読あり doi: 10.1128/JVI.00271-17.

J. Arii, K. Shindo, N. Koyanagi, A. Kato and Y. Kawaguchi. (2016) Multiple Roles of the Cytoplasmic Domain of Herpes Simplex Virus 1 Envelope Glycoprotein D in Infected Cells. **J. Virol.** 90: 10170-10181. 査読あり <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5105654/>

S. Oda, J. Arii, N. Koyanagi, A. Kato, and Y. Kawaguchi. (2016) The Interaction between Herpes Simplex Virus 1 Tegument Proteins UL51 and UL14 and Its Role in Virion Morphogenesis. **J. Virol.** 90: 8754-8767. 査読あり doi: 10.1128/JVI.01258-16.

Y. Maruzuru, N. Koyanagi, N. Takemura, S. Uematsu, D. Matsubara, Y. Suzuki, J. Arii, A. Kato and Y. Kawaguchi. (2016) p53 is a Host Cell Regulator during Herpes Simplex Encephalitis. **J. Virol.** 90: 6738-6745. 査読あり doi: 10.1128/JVI.00846-16.

A. Kato, T. Ando, S. Oda, M. Watanabe, N. Koyanagi, J. Arii and Y. Kawaguchi. (2016) Roles of Us8A and its Phosphorylation Mediated by Us3 in Herpes Simplex Virus 1 Pathogenesis. **J. Virol.** 90: 5622-5635. 査読あり doi: 10.1128/JVI.00446-16.

Y. Sato, A. Kato, Y. Maruzuru, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, J. Arii and Y. Kawaguchi.

(2016) Cellular Transcriptional Coactivator RanBP10 and Herpes Simplex Virus 1 ICP0 Interact and Synergistically Promote Viral Gene Expression and Replication. **J. Virol.** 90: 3173-3186. 査読あり doi: 10.1128/JVI.03043-15.

K. Shindo, A. Kato, N. Koyanagi, H. Sagara, J. Arii, and Y. Kawaguchi. (2016) Characterization of a herpes simplex virus 1 (HSV-1) chimera in which the Us3 protein kinase gene is replaced with the HSV-2 Us3 gene. **J. Virol.** 90: 457-473. 査読あり doi: 10.1128/JVI.02376-15.

Y. Sato, A. Kato, J. Arii, N. Koyanagi, H. Kozuka-Hata, M. Oyama and Y. Kawaguchi. (2016) Ubiquitin-Specific Protease 9X in Host Cells Interacts with Herpes Simplex Virus 1 ICP0. **J. Vet. Med. Sci.** 78: 405-410. 査読あり doi: 10.1292/jvms.15-0598.

N. Maeda, A. Furukawa, K. Kakita, M. Anada, S. Hashimoto, S. Matsunaga, K. Kuroki, T. Ose, A. Kato, J. Arii, Y. Kawaguchi, H. Arase, and K. Maenaka. (2016) Rapid screening by cell-based fusion assay for identifying novel antivirals of glycoprotein B-mediated herpes simplex virus type 1 infection. **Biol. Pharm. Bull.** 39: 1897-1902. 査読あり [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/39/1/39\\_b16-00533/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/39/1/39_b16-00533/_article)

J. Arii, Y. Hirohata, A. Kato and Y. Kawaguchi. (2015) Nonmuscle Myosin Heavy Chain IIB Mediates Herpes Simplex Virus 1 Entry. **J. Virol.** 89: 1879-1888. 査読あり doi: 10.1128/JVI.03079-14.

Y. Hirohata, J. Arii, Z. Liu, K. Shindo, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, H. Sagara, A. Kato, and Y. Kawaguchi. (2015) Herpes simplex virus 1 recruits CD98 heavy chain and  $\beta$ 1 integrin to the nuclear membrane for viral

de-envelopment. **J. Virol.** 89: 7799-7812.  
査読あり doi: 10.1128/JVI.00741-15.

A. Kato, **J. Arie**, Y. Koyanagi, and Y. Kawaguchi. (2015) Phosphorylation of Herpes Simplex Virus 1 dUTPase Regulates Viral Virulence and Genome Integrity by Compensating for Low Cellular dUTPase Activity in the Central Nervous System. **J. Virol.** 89: 241-248. 査読あり doi: 10.1128/JVI.02497-14.

Z. Liu, A. Kato, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, **J. Arie**, and Y. Kawaguchi. (2015) Role of Host Cell p32 in Herpes Simplex Virus 1 De-envelopment During Viral Nuclear Egress. **J. Virol.** 89: 8982-8998. 査読あり  
<http://jvi.asm.org/content/89/17/8982.long>

〔学会発表〕(計 57 件)

**有井 潤** 単純ヘルペスウイルスと宿主細胞膜との相互作用 第 14 回ウイルス学キャンプ in 湯河原 (2017 年) [招待講演] Mizuki Watanabe, **Jun Arie**, Masayuki Shimojima, Naoto Koyanagi, Yuhei Maruzuru, Akihisa Kato and Yasushi Kawaguchi, Identification of a host cell membrane protein that interacts with HSV-1 gE and promotes viral cell-to-cell spread 42nd Annual International Herpesvirus Workshop (2017 年)

渡邊瑞季, **有井潤**, 下島昌幸, 加藤哲久, 川口寧 単純ヘルペスウイルス (HSV) の細胞間伝播を促進する宿主細胞膜タンパク質の同定 第 14 回ウイルス学キャンプ in 湯河原 (2017 年)

渡邊瑞季, **有井潤**, 下島昌幸, 加藤哲久, 川口寧 単純ヘルペスウイルス (HSV) の細胞間感染を促進する宿主タンパク質の同定 第 31 回ヘルペスウイルス研究会 (2017 年)

渡邊瑞季, **有井潤**, 下島昌幸, 川口寧 単純ヘルペスウイルス gE と相互作用して細胞間感染を促進する宿主因子の同定 第 160 回日本獣医学会学術集会 (2017 年) Mizuki Watanabe, **Jun Arie**, Masayuki Shimojima, Akihisa Kato, Yasushi Kawaguchi, A host cell membrane protein interacts with HSV-1 gE and promotes viral cell-to-cell spread 第 65 回日本ウイルス学会学術集会 (2017 年)

〔図書〕(計 2 件)

**有井 潤**, 川口 寧 (2017) ウイルス

とヒトとの共生関係 月刊細胞 659: 700-703. ニューサイエンス社

**有井 潤**, 川口 寧 (2015) 単純ヘルペスウイルスの潜伏感染—どのように宿主体内で生き残り再活性化するのか? 増刊「感染症—いま何が起きているのか」 実験医学 33: 2784-2789. 羊土社

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等  
東京大学 医科学研究所 ウイルス病態制御分野

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/kawaguchi-lab/KawaguchiLabTop.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有井 潤 (ARII, Jun)  
東京大学・医科学研究所・助教  
研究者番号 : 30704928

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究

川口 寧 (KAWAGUCHI, Yasushi)  
東京大学・医科学研究所・教授  
研究者番号 : 60292984

(4) 研究協力者

加藤 哲久 (KATO, Akihisa)  
東京大学・医科学研究所・助教

小柳 直人 (KOYANAGI, Naoto)  
東京大学・医科学研究所・特任研究員