

平成 23 年 5 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790445

研究課題名(和文) 水痘帯状疱疹ウイルス感染の新規エントリーレセプターの解明

研究課題名(英文) Newly Identification and Analysis of Entry Receptor of Varicella-Zoster Virus

研究代表者

末永 忠広 (SUENAGA TADAHIRO)

大阪大学・微生物病研究所・助教

研究者番号：20396675

研究成果の概要(和文)：私たちは、水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)上の分子グリコプロテインB(gB)と会合し、VZV感染の際のレセプターとして機能する分子として、神経組織特異的に発現するMAGという分子を同定した。VZVのMAG発現細胞への感染を、抗MAG抗体やより低分子量の分子で阻害することに成功した。

MAGは単純ヘルペスウイルス(HSV)のgBと会合し、HSVが神経組織に感染する際のレセプターとしても機能することがわかった。

研究成果の概要(英文)：We found that MAG expressing specifically in nerve tissues associates with glycoprotein B (gB) of varicella-zoster virus (VZV) and functions as a receptor for VZV during infection. VZV infection of MAG-expressing cells can be inhibited with anti-MAG antibody and with some smaller molecules than antibody.

We also found that MAG is a receptor of herpes simplex virus (HSV) during infection of nerve tissues.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・ウイルス学

キーワード：水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)、グリコプロテイン、エントリー、膜融合、神経組織指向性、単純ヘルペスウイルス(HSV)

1. 研究開始当初の背景

(1) ヘルペスウイルス属の感染では、エンベロープ分子が宿主細胞上の特異的受容体と結合し、エンベロープと宿主細胞膜との膜融合が引き起こされる。私たちは、ヒト単球などに発現し、免疫制御を司る Paired Immunoglobulin Like Receptor α (PILR α)が単純ヘルペスウイルス(HSV)のグリコプロテインB(gB)に対する宿主細胞側の特異的受

容体として感染時の膜融合に重要な役割を担うことを発見した (*Cell: 2008*)。特に、今まで HSV の gD レセプターと知られていた HVEM(*Cell: 1996*)や Nectin(*Science: 1998*)が gD と会合するだけでは十分でなく、gB が PILR と会合することが重要であることを明らかにした。

(2) HSV と同じ α ヘルペスウイルスに属する水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)は、主に小児

の水痘と、既感染高齢者及び免疫力低下者に発症する帯状疱疹の原因ウイルスである。一方、VZVはHSV同様、脳炎、脊髄炎などを引き起こし、神経節に潜伏感染するなど、神経組織指向性が高いウイルスである。VZVはHSVと相同性が高いが、HSVの必須エンベロープであるgDを有さない等、感染機構は大きく異なる。VZVの感染にはgE、gB、gHが必須のエンベロープ分子といわれており、最近になってgEに対する受容体としてInsulin degrading enzyme (IDE)が報告された (*Cell: 127:305 2006*)。しかし、IDEは多臓器に発現しており、VZVの神経組織への指向性は説明できないと考えられた。

2. 研究の目的

(1) VZVの神経組織に特異的に発現している受容体候補として、VZV gBと会合する分子Myelin-Associated Glycoprotein (MAG)を同定したので、MAGとgBの会合が、gEとIDEの会合とどのように作用して、VZVの感染を可能にするかを解析する。

(2) VZVにおいても、HSVと同様に、感染に際して、膜融合が必須である。しかし、VZVの膜融合のメカニズムは明らかになっていないので、MAGとgBの会合が、gEとIDEの会合を含めた、VZVの膜融合機構を明らかにする。

(3) これらを踏まえて、gBとMAGなどVZVのグリコプロテインと宿主受容体の会合を阻害することによる、VZVの感染制御法を探索する。

(4) MAG以外のVZV感染に関与する、宿主側の受容体を同定する。

3. 研究の方法

(1) MAGもしくはIDEもしくはMAGとIDEを発現した細胞に、細胞内にエンターするとGFPを発光するVZV (GFP-VZV)を感染させる。感染効率を蛍光顕微鏡やフローサイトメトリーにて解析する。

(2) MAGもしくはIDEもしくはMAGとIDEを発現した細胞とVZV gB, gE, gHを発現させた細胞による膜融合アッセイを行う (図1)。

(3) MAG発現細胞にGFP-VZVを感染させる際に、MAGとgBの会合を阻害する物質を添加し、VZVの感染阻害が可能かどうか蛍光顕微鏡やフローサイトメトリーにて解析する。

(4) MAGやPILRと相同性を有する分子を公共データベースなどから、レセプター候補分子を検索する。レセプター候補分子、VZV gB、gE、gHの細胞外領域と免疫グロブリン

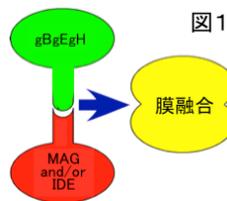


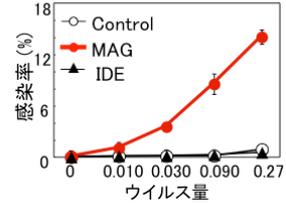
図1

の融合タンパク (gB-Ig、gE-Ig 等) を作製し、これらの分子が会合するかどうかを解析する。

4. 研究成果

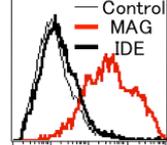
(1) MAGを発現させた細胞はVZVの感受性が增大したが、IDEを発現させた細胞は、コントロール細胞同様、

図2



VZVに感染しなかった。また、MAG発現細胞にさらにIDEを発現させても、MAG単独発現の場合と感染効率は変わらなかった (図2)。

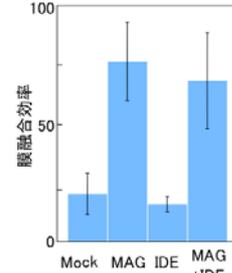
図3



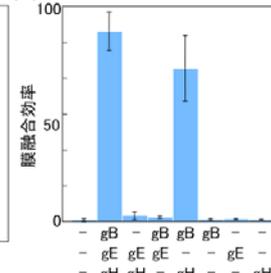
- gE-Igとの会合 ->

(2) ① MAG発現細胞はVZV gBだけでなく、gEとも会合した。私たちの検討では、分泌タンパクであるIDEは、IDE発現細胞表面においてはgEと会合しなかった (図3)。② MAG発現細胞はVZV gB、gE、gH発現細胞との膜融合を引き起したが、IDE発現細胞では、コントロール細胞同様、gB、gE、gH発現細胞との膜融合を引き起せなかった (図4 A)。③ gB、gH発現細胞は、gB、gE、gH発現細胞 MAG発現細胞と同様に膜融合を引き起した (図4 B)。

図4 (A)



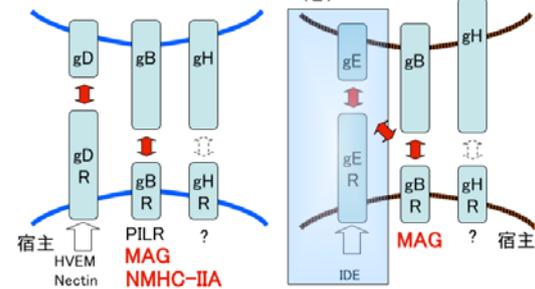
(B)



細胞は、gB、gE、gH発現細胞 MAG発現細胞と同様に膜融合を引き起した (図4 B)。

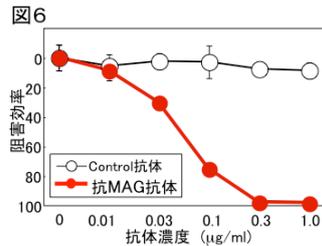
④ 以上のことから、VZVの膜融合、細胞内侵入にはgEとIDEの会合は必須ではないことが判明した (図5)。また、VZVの膜融合、細胞内侵入は、gB、gHによって引き起され、少なくとも、宿主側のgBの受容体が必要であることがわかった。gHの受容体が必要かど

図5



うかは、今後の検討課題である。

(3) VZV gB と MAG の会合が、VZV の神経組織への感染に重要であることから、MAG 発現細胞に、VZV を感



染させる際に、抗 MAG 抗体を添加した。すると、VZV 感染は抗 MAG 抗体で阻害され、コントロール抗体では阻害されなかった (図 6)。しかし、抗 MAG 抗体は、マウス生体内に投与すると、神経障害を引き起こし、また、抗 MAG 抗体産生性ニューロパチーはヒトでも知られていることから、抗体以外のより低分子量の物質を探索し、これによって、VZV の MAG 発現細胞へのエントリーを阻害することに成功した (末永ら論文準備中)。

(4) MAG は神経組織特異的に発現している分子であるが、VZV がヒトに感染する際は、まず扁桃などに存在する血球系細胞に感染し、その後、これら感染細胞に乗って、全身に運ばれるといわれている。従って、VZV の gB (もしくは gH) と会合する血球系細胞上の分子を同定することは、VZV の病態生理を理解する上で重要である。私たちは、VZV gB-Ig を用いて、gB-Ig と会合する、血球系細胞に特異的に発現している分子を見だし、現在解析中である。

(5) VZV と同じ、 α ヘルペスウイルス亜科に属する HSV の gB が MAG と会合することを報告した。HSV もまた、MAG 発現細胞での感染効率は、コントロール細胞に比較して増大し、MAG 発現細胞への感染は、抗 MAG 抗体で阻害された。さらに、MAG 発現細胞は、コントロール細胞に比べ、HSV gB、gD、gH を発現させた細胞と高い融合効率を示した。このことから、MAG は VZV だけでなく、HSV の神経組織へのエントリーにも関与していると考えられた (図 5)。

(6) HSV は神経組織、血球系細胞以外にも感染するが、その際の gB レセプターは不明であった。有井らと私たちは、広範な組織における HSV gB レセプターとして、Non-muscle myosin IIA を報告した (図 5)。

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 4 件)

- ① Ariei, J., Goto, H., Suenaga, T., Oyama, M., Kozika-Hata, H., Imai, T., Minowa, A., Akashi, H., Arase, H., Kawaoka, Y., and Kawaguchi, Y. Non-muscle myosin IIA is a functional entry receptor for herpes simplex

virus-1, *Nature*, 査読有, 467; 859-862, (2010)

- ② Ariei, J., Wang, J., Morimoto, T., Suenaga, T., Akashi, H., Arase, H., and Kawaguchi, Y. A Single Amino Acid Substitution in Herpes simplex virus 1 Envelope Glycoprotein B at a Site Required for Binding to the Paired Immunoglobulin-like Type 2 Receptor α (PILR α) Abrogates PILR α -dependent Viral Entry and Reduces Pathogenesis, *J. Virol.* 査読有, 84; 10773-10783, (2010)

- ③ Suenaga, T., Satoh T, Somboonthum P, Kawaguchi Y, Mori Y, Arase H., Myelin-associated glycoprotein mediates membrane fusion and entry of neurotropic herpesviruses, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有, 107; 866-871, (2010)

[学会発表] (計 12 件)

- ① 末永 忠広, 荒瀬 尚, 神経組織指向性 α ヘルペスウイルスのエントリーレセプター、第 58 回日本ウイルス学会 (シンポジウム)、2010.11.9、徳島県郷土文化会館 (徳島県)

- ② Tadahiro Suenaga, Pranee Somboonthum, Yasuko Mori, and Hisashi Arase. Interaction between Siglec and Varicella-Zoster Virus (VZV), IFRc-CSI joint symposium, 2010.11.2-5, Hangzhou (China)

- ③ Tadahiro Suenaga, Fuminori Arisawa, Pranee Somboonthum, Yasuko Mori, and Hisashi Arase., Interaction between Siglec and Varicella-Zoster Virus (VZV), 第 14 回国際免疫学会, 2010.8.24, 神戸国際展示場(兵庫県)

- ④ Tadahiro Suenaga, Fuminori Arisawa, Takeshi Satoh, Pranee Somboonthum, Yasuko Mori, Yasushi Kawaguchi and Hisashi Arase., Myelin-Associated Glycoprotein Associates with gB and is Involved in Membrane Fusion during Neurotropic Herpesvirus Infection, 35th International Herpesvirus Workshop, 2010.7.25, Salt Lake City, Utah (USA)

- ⑤ 末永忠広, 有澤史倫, Pranee Somboonthum, 森康子, 荒瀬尚, 水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) 新規エントリーレセプター、第 57 回日本ウイルス学会、2009.10.26、都市センターホテル (東京都)

〔その他〕
ホームページ等
<http://immchem.biken.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

末永 忠広 (SUENAGA TADAHIRO)
大阪大学・微生物病研究所・助教
研究者番号：20396675

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：