

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15447

研究課題名（和文）HSV-2の新規CTL回避機構の解明

研究課題名（英文）Novel CTL evasion mechanism of HSV-2

研究代表者

小柳 直人（Koyanagi, Naoto）

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：90738121

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：CTLによるHSV感染細胞障害からの回避を司るHSVタンパク質を複数同定した。その中の一つのHSVタンパク質について回避機構を解析した。その結果、このHSV因子はCTLにHSV抗原を提示するMHC-Iの細胞表面発現抑制に関与しないことが示唆された。よってHSVはMHC-I経路以外を標的とした、CTLによるHSV感染細胞傷害を回避する機構を獲得していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HSVによる多彩な宿主免疫回避機構はHSV病態発現に強く寄与していると考えられる。特に、潜伏感染したHSVが何度も再発する原因として、HSVはCTLなどの獲得免疫からの高度な回避機構を獲得していると思われる。本研究成果はCTLによるHSV感染細胞障害を回避する機序の一端を明らかにした点で、学術的に高い意義を有していると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We identified several HSV proteins that are responsible for evasion from HSV-infected cell damage by CTLs. We analyzed the evasion mechanism of one of these HSV proteins. The results suggest that this HSV factor was not involved in downregulating cell surface expression of MHC-I, which presents HSV antigens to CTLs. Thus, HSV has evolved a mechanism to evade HSV-infected cell damage by CTLs targeting pathways other than the MHC-I pathway.

研究分野：ウイルス学

キーワード：HSV-2 CTL 免疫回避

1. 研究開始当初の背景

単純ヘルペスウイルス (HSV) はヒトに口唇ヘルペス、性器ヘルペス、皮膚疾患、眼疾患、脳炎、新生児ヘルペスなど多様な病態を引き起こす。抗 HSV 薬 (アシクロビル等) が開発された今日においても脳炎患者の約 7 割は社会復帰できない程の後遺症が残る、もしくは死に至る。臨床応用可能な HSV ワクチンは未だ開発されておらず、世界市場における HSV 感染症の医療費は年間約 3,000 億円に達している。一方で、遺伝子改変した HSV を応用した腫瘍溶解性ウイルス療法が悪性腫瘍の新規治療法として広く臨床試験が進められており、2015 年にはメラノーマを対象とした遺伝子組換え HSV 製剤が欧米で初めて医薬品として承認されている。このように HSV は医学的に非常に重要なウイルスであり、HSV 研究の重要性は明らかである。宿主に感染した HSV は終生潜伏感染し、宿主がストレス状態や免疫抑制状態、強い紫外線を受けるなど内的・外的刺激を受けた際に再活性化し、病態を発症する (回帰発症)。HSV が回帰発症を何度も繰り返す原因の一つとして、HSV が多様な宿主免疫回避機構を獲得していることが考えられる。本申請では、宿主免疫応答の中でも細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) に焦点を当てる。これまでに HSV 因子 ICP47 は小胞体膜に局在する transporter associated with antigen processing (TAP) と相互作用することによって、小胞体内腔へのウイルス抗原の輸送を阻害する。その結果、ウイルス抗原・主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex, MHC) クラス I 複合体の細胞表面への提示が抑制され、CTL によるウイルス感染細胞の傷害回避に寄与する [Cell 77: 525-535, 1994; Nature 375: 415-418, 1995]。このように HSV は CTL による傷害からの回避機構を獲得している。一方で、HSV 因子による CTL 回避が実際に生体レベルでの効率的なウイルス増殖や病原性発現に寄与しているかについては不明な点が多い。このように、HSV による細胞性免疫制御機構の生体レベルにおける意義の解明が不十分であることが、HSV が回帰発症を何度も繰り返す原因の理解の遅れにつながっていると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は「CTL による HSV-2 感染細胞傷害からの回避を司る新規 HSV-2 因子の同定および生体レベルにおける病原性発現機構の解明」を目的とする。HSV 因子 ICP47 とマウス TAP との結合能はヒト TAP との結合能に比べて非常に弱く、マウス由来の細胞では MHC-I による細胞表面への抗原提示を効率的に阻害できない [Nature 375: 415-418, 1995]。よって、マウスを用いた HSV 感染モデルでは、ICP47 による TAP 機能の阻害を介した CTL 回避がどれほど病原性発現に影響するかは不明である。一方、申請者は共著者として、HSV-1 がコードするプロテインキナーゼ (PK) である Us3 が CTL からの傷害回避に寄与することを明らかにしている。Us3 は MHC-I の細胞表面量を抑制し、HSV-1 感染細胞を CTL による傷害から回避する。さらに、マウス HSV 感染モデルにおいて、Us3 による CTL 回避は感染部位における効率的な HSV-1 増殖に重要であることを明らかにしている [PLoS One 8: e72050, 2013]。このように、培養細胞レベルで明らかにした HSV 因子による免疫回避機構が生体レベルで HSV 増殖や病原性発現に重要であることを明らかにすることは、HSV 感染症の全体像を理解する上で非常に重要であると考えられる。HSV は HSV-1 と HSV-2 の 2 つの血清型に分類され、遺伝子の保存性は約 83% であることから、主要な HSV 因子の機能は HSV-1 と HSV-2 で広く保存されている。上記の ICP47 についても、HSV-1、HSV-2 のどちらにおいても TAP と相互作用し、その機能を阻害する。一方で、HSV-1 と HSV-2 は高い遺伝子の保存性にも関わらず、ヒトにおいて病態発現への影響が大きく異なる。よって本研究では特に性器ヘルペスの再発をより高頻度に起こす HSV-2 に着目し、HSV-2 による CTL 回避機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 約 80 種類の HSV-2 遺伝子発現プラスミドライブラリーを作製する。
- (2) 培養細胞に HSV-2 遺伝子発現プラスミドおよび MHC-I に提示される HSV 抗原を導入し、HSV 特異的 CTL と共培養し、CTL 応答が減弱する HSV-2 ウイルス因子を網羅的に同定する。
- (3) HSV ゲノム編集法を用いて、(2) で同定した HSV 因子の欠損変異ウイルスを作製する。
- (4) 野生体 HSV もしくは欠損変異 HSV 感染細胞と、HSV 特異的 CTL を共培養し、欠損変異によって CTL 応答が亢進する HSV-2 ウイルス因子を同定する。
- (5) 野生体 HSV 感染細胞に比べて欠損変異 HSV 感染細胞では CTL に抗原を提示する分子である MHC-I の細胞表面発現が亢進するか、フローサイトメーターを用いて解析する。
- (6) 欠損変異 HSV-2 をマウスに感染させ、マウス致死率やウイルス増殖、病態発現への影響を解析する。

4. 研究成果

- (1) HSV 特異的な CTL 応答を減弱させる HSV-2 ウイルス因子を複数同定した。
- (2) (1)で同定した HSV-2 ウイルス因子の一部について HSV ゲノム編集法を用いて欠損変異 HSV-2 を作製した。
- (3) (2)で作製した欠損変異 HSV-2 を用いて、各ウイルスタンパク質が HSV 特異的 CTL 応答に与える影響を評価した。その結果、一部の HSV-2 タンパク質がウイルス感染細胞において CTL 応答の抑制に寄与することが示唆された。
- (4) (3)で同定した CTL 応答を抑制する HSV-2 因子がウイルス感染細胞において MHC-I の細胞表面発現に影響するか評価した。その結果、この HSV-2 因子は MHC-I の細胞表面発現に影響しないことが示唆された。
- (5) (3)で同定した CTL 応答を抑制する HSV-2 因子がウイルス感染におけるマウス致死率やウイルス増殖、病態発現に影響するか評価した。その結果、この HSV-2 因子はマウス致死性、末梢におけるウイルス増殖および病原性発現に寄与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fukui Ayano, Maruzuru Yuhei, Ohno Shiho, Nobe Moeka, Iwata Shuji, Takeshima Kosuke, Koyanagi Naoto, Kato Akihisa, Kitazume Shinobu, Yamaguchi Yoshiki, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 14(4)
2. 論文標題 Dual impacts of a glycan shield on the envelope glycoprotein B of HSV-1: evasion from human antibodies <i>in vivo</i> and neurovirulence	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 mBio	6. 最初と最後の頁 e0099223
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/mbio.00992-23	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukui Ayano, Maruzuru Yuhei, Takeshima Kosuke, Koyanagi Naoto, Kato Akihisa, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 67
2. 論文標題 Establishment of a system to quantify wild type herpes simplex virus-induced cell-cell fusion reveals a role of N-glycosylation of HSV-1 envelope glycoprotein B in cell-cell fusion	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology and Immunology	6. 最初と最後の頁 114~119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1348-0421.13050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takeshima Kosuke, Maruzuru Yuhei, Koyanagi Naoto, Kato Akihisa, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 96
2. 論文標題 Redundant and Specific Roles of A-Type Lamins and Lamin B Receptor in Herpes Simplex Virus 1 Infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0142922
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/jvi.01429-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Maeda Fumio, Kato Akihisa, Takeshima Kosuke, Shibasaki Misato, Sato Ryota, Shibata Takuma, Miyake Kensuke, Kozuka-Hata Hiroko, Oyama Masaaki, Shimizu Eigo, Imoto Seiya, Miyano Satoru, Adachi Shungo, Natsume Tohru, Takeuchi Koh, Maruzuru Yuhei, Koyanagi Naoto, Jun Ariei, Yasushi Kawaguchi	4. 巻 96
2. 論文標題 Role of the Orphan Transporter SLC35E1 in the Nuclear Egress of Herpes Simplex Virus 1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0030622
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/jvi.00306-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arii Jun, Takeshima Kosuke, Maruzuru Yuhei, Koyanagi Naoto, Nakayama Yoshitaka, Kato Akihisa, Mori Yasuko, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 96
2. 論文標題 Role of the Arginine Cluster in the Disordered Domain of Herpes Simplex Virus 1 UL34 for the Recruitment of ESCRT-III for Viral Primary Envelopment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0170421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01704-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 小柳 直人, 加藤 哲久, 竹島 功高, 丸鶴 雄平, 川口 寧
2. 発表標題 アミノ酸保存性に基づいて見出されたHSV-2 UL13 キナーゼの新規活性制御機構の解明
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福井 文望, 丸鶴 雄平, 野邊 萌香, 小柳 直人, 竹島 功高, 加藤 哲久, 川口 寧
2. 発表標題 単純ヘルペスウイルス1型エンベロープ糖タンパク質における特定の糖鎖修飾はウイルスの病態発現に寄与する
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸鶴 雄平, 小柳 直人, 加藤 哲久, 川口 寧
2. 発表標題 単純ヘルペスウイルスVP22のDNA結合能はウイルス感染によって誘導されるAIM2 inflammasome活性化からの回避に必須である
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1 . 発表者名 Naoto Koyanagi, Akihisa Kato, Kosuke Takeshima, Yuhei Maruzuru and Yasushi Kawaguchi
2 . 発表標題 Regulatory mimicry of cyclin-dependent kinases by conserved herpesvirus protein kinases
3 . 学会等名 47th Annual International Herpesvirus Workshop (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Akihisa Kato, Ryoji Iwasaki, Kosuke Takeshima, Yuhei Maruzuru, Naoto Koyanagi and Yasushi Kawaguchi
2 . 発表標題 Identification of a cryptic HSV-1 protein, UL31.6, as a novel neurovirulence factor
3 . 学会等名 47th Annual International Herpesvirus Workshop (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Ayano Fukui, Yuhei Maruzuru, Shiho Ohno, Moeka Nobe, Shuji Iwata, Kosuke Takeshima, Naoto Koyanagi, Akihisa Kato, Shinobu Kitazume, Yoshiki Yamaguchi and Yasushi Kawaguchi
2 . 発表標題 Dual Impacts of a Glycan Shield on the Envelope Glycoprotein B of HSV-1: Evasion from Human Antibodies In Vivo and Neurovirulence
3 . 学会等名 47th Annual International Herpesvirus Workshop (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Moeka Nobe, Yuhei Maruzuru, Kosuke Takeshima, Naoto Koyanagi, Akihisa Kato, Yasushi Kawaguchi, Shungo Adachi, Fumio Maeda, Hideo Kusano and Tohru Natsume
2 . 発表標題 Relationship between Protein Expression Levels and Progeny Yield of HSV-1 Unveils a Rate-limiting Step for Virus Production
3 . 学会等名 47th Annual International Herpesvirus Workshop (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1. 発表者名 Kosuke Takeshima, Yuhei Maruzuru, Naoto Koyanagi, Akihisa Kato and Yasushi Kawaguchi
2. 発表標題 A-type Lamins and the Lamin B receptor Play Redundant and Specific Roles in Herpes Simplex Virus 1 Infection
3. 学会等名 47th Annual International Herpesvirus Workshop (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takanori Tannaka, Kosuke Takeshima, Yuhei Maruzuru, Naoto Koyanagi, Akihisa Kato and Yasushi Kawaguchi
2. 発表標題 Effective down-regulation of HSV-1 UL7 by Tyrosine phosphorylation in vitro and in vivo
3. 学会等名 47th Annual International Herpesvirus Workshop (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸鶴雄平、野邊萌香、福井文望、竹島功高、小柳直人、加藤哲久、川口 寧
2. 発表標題 1 細胞・亜集団・集団レベルの統合的解析による HSV-1 新規遺伝子発現制御機構の解明
3. 学会等名 第36回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹島功高、丸鶴雄平、小柳直人、加藤哲久、川口寧
2. 発表標題 HSV-1 感染における Lamin A/C、および LBR の重複した役割と Lamin A/C 特異的な役割の解明
3. 学会等名 第36回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 野邊萌香、丸鶴雄平、竹島功高、小柳直人、加藤哲久、川口寧
2. 発表標題 HSV-1 蛋白質量と子孫ウイルス産生量の直接的関係の解明
3. 学会等名 第36回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 劉少聰、丸鶴雄平、福井文望、竹島功高、小柳直人、加藤哲久、川口寧
2. 発表標題 単純ヘルペスウイルス ICP22 と FACT complex の相互作用はウイルスの遺伝子発現と病原性に寄与する
3. 学会等名 第36回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加藤哲久、岩崎亮二、竹島功高、中山佳尚、丸鶴雄平、小柳直人、川野秀一、川口寧
2. 発表標題 HSV-1 脳炎を制御する新規テグメント蛋白質 UL31.6 の性状解析
3. 学会等名 第36回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加藤哲久、播磨勇人、恒川雄二、五十嵐学、喜多村晃一、若江亨祥、竹島功高、丸鶴雄平、小柳直人、岡田尚巳、村松正道、川口寧
2. 発表標題 HSV-1 宿主抵抗性因子に対する新規回避機構の解明とその応用
3. 学会等名 第36回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福井文望、丸鶴雄平、野邊萌香、岩田修治、竹島功高、小柳直人、加藤哲久、川口寧
2. 発表標題 単純ヘルペスウイルス 1 型 glycoprotein B における Asn-141 上の糖鎖修飾はウイルスの病態発現とヒト グロブリンによる免疫回避に寄与する
3. 学会等名 第36回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 淡中崇徳、竹島功高、岩崎亮二、丸鶴雄平、小柳直人、加藤哲久、川口寧
2. 発表標題 HSV-1 UL7 の根幹的機能発現を司るリン酸化制御機構の生物学的意義
3. 学会等名 第36回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹島功高、丸鶴雄平、加藤哲久、小柳直人、川口寧
2. 発表標題 HSV-1感染における金属トランスポーターの役割
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸鶴雄平、野邊萌香、福井文望、竹島功高、小柳直人、加藤哲久、川口寧
2. 発表標題 1細胞から生体レベルの統合的解析によるHSV-1の新規遺伝子発現制御機構と創薬標的の解明
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 劉少聰, 丸鶴平, 福井 文望, 竹島功高, 小柳直人, 加藤哲久, 川口寧
2. 発表標題 HSV-1遺伝子発現制御因子ICP22とFACT complexとの相互作用とその意義
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩田修治, 小柳直人, 加藤哲久, 岩崎亮二, 淡中崇徳, 竹島功高, 丸鶴雄平, 川口寧
2. 発表標題 リン酸化によるHSV-1 UL41 RNase活性の適切な制御はin vivoにおける効率的なウイルス増殖および病原性発現に重要である
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加藤哲久, 播磨勇人, 恒川雄二, 五十嵐学, 喜多村晃一, 若江亨祥, 竹島功高, 丸鶴雄平, 小柳直人, 岡田尚巳, 村松正道, 川口寧
2. 発表標題 単純ヘルペスウイルス内因性免疫に対する新規回避機構の解明とヘルペス脳炎制御への応用
3. 学会等名 第70回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------