

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2017

課題番号：26713017

研究課題名(和文)単純ヘルペスウイルスによる侵入および核膜通過過程の解析

研究課題名(英文)Studies on entry and nuclear egress of Herpes Simplex Virus

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) 18,300,000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)による膜通過機構に焦点を当てて解析した。その結果、HSVによる膜通過に貢献する新規ウイルス因子および宿主因子を同定し、その分子機構の一端を明らかにした。ウイルス感染環の中で膜通過は必要不可欠なステップであり、これらの成果は、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 by which HSV passes through cellular membranes. We successfully identified several viral or cellular factors which promote passage through cellular membranes of HSV. As these steps are essential for viral life cycle, our results 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 糖タンパク質 膜タンパク質 核膜 細胞膜

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 単純ヘルペスウイルス (HSV) はヒトに口唇ヘルペス、脳炎、性器ヘルペス、眼疾患といった多様な病態を引き起こし、関連する医療費はアメリカ合衆国で年間 30 億ドルと試算されるほど大きな問題となっている。HSV には核酸アナログであるアシクロビルという治療薬が存在するが、公衆衛生上は不十分であり、まったく異なる機序の薬剤が期待されている。生きた宿主細胞の中でしか増えることができないウイルスにとって、宿主細胞の膜通過は必要不可欠なステップである。同時にいずれもウイルス感染に特異的な現象であり、そのメカニズムの解明は新しい抗ウイルス戦略に寄与すると考えられる。

(2) エンベロープウイルスである HSV は、その感染環の中で宿主細胞の膜通過を 4 回行う必要がある。すなわち多くのウイルスが行う細胞侵入および細胞内小胞への出芽に加えて、核膜通過と呼ばれる、核内膜から核膜腔への出芽および核膜腔から核外膜への fusion である。細胞侵入と核膜通過は、引き起こされる場がまったく異なるものの、ウイルス糖タンパク質によるウイルス粒子と宿主膜の融合が必要とされるなどの共通点を持つ。

### 2. 研究の目的

細胞侵入と核膜通過という、いずれも HSV 感染環で極めて重要であるものの、まったく異なる過程は、共通したウイルス因子によって引き起こされている。これらのウイルス因子が結合し、影響を与える宿主因子やシステムも共通している可能性がある。本研究はこの二つの過程を同時に解析することで、二つのメカニズムをとともに明らかにすることを旨とする。

### 3. 研究の方法

HSV 感染環に寄与する宿主因子を解析するため、恒常的に shRNA を発現する細胞あるいは CRISPR/Cas9 システムを用いて遺伝子を欠損させた細胞を作製した。また HSV 因子の未知の機能を解析するため、ウイルスゲノムにアミノ酸置換変異を導入し、変異型ウイルスを解析した。

### 4. 研究成果

(1) 研究代表者は、これまで HSV の fusion タンパク質 gB に対する宿主の受容体として NMHC-IIA を報告している。NMHC-IIA は上皮細胞や多くの培養細胞において高発現しているが、HSV のもう一つの標的細胞である神経細胞においてはほとんど発現していない。神経細胞に発現する gB 受容体として新たに NMHC-IIB を報告した。この報告により、生体内における HSV の指向性は gB 受容体の存在で説明可能となった。

(2) HSV の細胞侵入に必須の HSV 糖タンパク質である gD に注目し、機能不明であった細胞内領域の意義を解析した。gD の細胞内領域は、宿主膜の膜変性を引き起こす能力があり、HSV 粒子形成やウイルス増殖に貢献していた。HSV は細胞質において感染性のウイルス粒子を形成するが、その具体的な機能は不明であった。gD を始めとした糖タンパク質の能力によってウイルス粒子形成が引き起こされている可能性を提示できたと考えられる。

(3) 核内膜からの出芽における膜の切断は、これまで HSV 因子が自らの活性で行うと考えられてきたが、宿主機構が担っていることを明らかにした。またこのシステムは、HSV 非感染のある種の遺伝性疾患患者由来の細胞においても、核内膜の切断をになっていることを明らかにした。

### 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 22 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. Arie 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. Arij**, 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. Arij**, 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. Arij**, 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. Arij**, 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. Arij** 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. Arij** 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. Arij**, 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. Arij**, 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. Arij**, 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. Arij**, 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. Arij**, 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. Arij**, 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. Arii**, 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>  
R. Kobayashi, A. Kato, S. Oda, N. Koyanagi, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, **J. Arii**, and Y. Kawaguchi. (2015) Function of the Herpes Simplex Virus 1 Small Capsid Protein VP26 is Regulated by Phosphorylation at a Specific Site. **J. Virol.** 89: 6141-6147. 査読あり doi: 10.1128/JVI.00547-15.

Y. Hirohata, A. Kato, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, N. Koyanagi, **J. Arii** and Y. Kawaguchi. (2015) Interactome Analysis of Herpes Simplex Virus 1 Envelope Glycoprotein H. **Microbiol. Immunol.** 59: 331-337. 査読あり doi: 10.1111/1348-0421.12255.

H. Fujii, A. Kato, M. Mugitani, Y. Kashima, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, **J. Arii**, and Y. Kawaguchi. (2014) The UL12 Protein of Herpes Simplex Virus 1 Is Regulated by Tyrosine Phosphorylation. **J. Virol.** 88: 10624-10634. 査読あり doi: 10.1128/JVI.01634-14.

A. Kato, Y. Hirohata, **J. Arii**, and Y. Kawaguchi. (2014) Phosphorylation of Herpes Simplex Virus 1 dUTPase Up-regulated Viral dUTPase Activity to Compensate for Low Cellular dUTPase Activity for Efficient Viral Replication. **J.**

**Virol.** 88: 7776-7785. 査読あり doi: 10.1128/JVI.00603-14.

② Y. Maruzuru, K. Shindo, Z. Liu, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, **J. Arii**, A. Kato and Y. Kawaguchi. (2014) The Role of Herpes Simplex Virus 1 Immediate-Early Protein ICP22 in Viral Nuclear Egress. **J. Virol.** 88: 7445-7454. 査読あり doi: 10.1128/JVI.01057-14.

② Z. Liu, A. Kato, K. Shindo, T. Noda, H. Sagara, Y. Kawaoka, **J. Arii**, and Y. Kawaguchi. (2014) Herpes simplex virus 1 UL47 interacts with viral nuclear egress factors UL31, UL34 and Us3, and regulates viral nuclear egress. **J. Virol.** 88: 4657-4667. 査読あり doi: 10.1128/JVI.00137-14.

〔学会発表〕(計72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]

**有井 潤** ラパトアセッション DNAウイルス 第62回ウイルス学会学術集会 (2014年) [招待講演]

〔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.

**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.

〔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) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

川口 寧 (KAWAGUCHI, Yasushi)

東京大学・医科学研究所・教授

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