

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22524

研究課題名（和文）スパコンを利用したビッグデータ解析に基づくヘルペスウイルス翻訳後修飾の包括的解析

研究課題名（英文）Comprehensive analysis of post-translational modification of herpesvirus based on big data analysis using supercomputer

研究代表者

川口 寧（KAWAGUCHI, Yasushi）

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：60292984

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：単純ヘルペスウイルス（HSV）がコードする蛋白質の翻訳後修飾の網羅的同定、および分子動学的（MD）シミュレーションによって機能制御を担うHSV蛋白質の翻訳後修飾を同定した。本翻訳後修飾はHSV蛋白質の機能ドメインの運動性を低下させることによってHSV蛋白質の効率的な機能発現を担っ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生活環を司る感染特異的な翻訳後修飾は、理想的な抗HSV剤の創薬標的となりうることから、本技術基盤の創成および各HSV蛋白質の翻訳後修飾の意義の解明は重要な研究課題であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We have comprehensively identified post-translational modifications (PTM) of the proteins encoded by herpes simplex virus (HSV). Among the HSV proteins, PTM of the proteins responsible for HSV functional regulations were identified by molecular dynamics (MD) simulation. It was suggested that PTM is responsible reducing the motility of the functional domain of HSV proteins.

研究分野：ウイルス学

キーワード：HSV 蛋白質翻訳後修飾 MDシミュレーション

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

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 剤 (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。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。HSV は、ウイルス特異的な蛋白質修飾酵素 (Ex. Deaminase, Kinase, Ubiquitin/SUMO E3 ligase 等) を複数コードしている。増殖を宿主に依存するウイルスにとって、全細胞機能の 95% 以上を制御する翻訳後修飾を、独自の酵素群によってハイジャックすることは、極めて効率のよい戦略であると想像される。実際、翻訳後修飾のひとつであるリン酸化修飾が、いくつもの HSV 蛋白質の機能制御に重要であり、HSV 増殖機構や病態発現機構を司ることが明らかになっている。今日では高感度質量解析系を用いた解析によって多くの HSV 蛋白質の翻訳後修飾が同定されていることから、これまで HSV 増殖や病態発現機構との相関が解明された蛋白質翻訳後修飾はごく一部であると考えられた。申請者はプロテオーム解析に精通しており、リン酸化修飾以外の多様な蛋白質翻訳後修飾に関するビッグデータも収集する体制を構築済みであった。しかしながら、翻訳後修飾情報に関するビッグデータを取得したとしても、従来の研究手法では、個々の翻訳後修飾の解析には莫大な時間を要するため、全情報を有効活用することは極めて困難であった。そこで申請者らは、「分子動学的 (MD) シミュレーションプログラム」により、翻訳後修飾に関するビッグデータ全体から機能的な修飾情報を効率的に抽出するという新たな基盤技術を創成し、HSV 増殖を制御する翻訳後修飾の同定およびその意義の解明を試みた。

2. 研究の目的

本研究は、以下を目的とする。

- (1) HSV 感染特異的な蛋白質翻訳後修飾の網羅的な同定
- (2) 機能的な翻訳後修飾を抽出できる *in silico* スクリーニング系の構築
- (3) HSV 感染特有のユニークな蛋白質制御機構が司る HSV 増殖機構の解明

3. 研究の方法

本研究ではペプチド質量情報データベース、申請者が独自に実施し、蓄積済みの HSV 感染細胞由来の膨大な質量解析情報を活用し、それらと超高速 MD シミュレーションを組み合わせることで HSV 増殖を制御する翻訳後修飾を効率的に抽出し、その意義を解明する。

- (1) HSV 感染細胞中の蛋白質翻訳後修飾に関するビッグデータを収集する。
- (2) 超高速 MD シミュレーション・プラットフォームを確立し、(1) で同定した蛋白質翻訳後修飾に関するビッグデータを解析し、各翻訳後修飾の分子振動における強度を、*in silico* スクリーニングする。
- (3) (2) で大きな分子振動への影響が認められた HSV 蛋白質の翻訳後修飾に関して、ゲノム編集法を駆使し、HSV 増殖に与える影響を多面的に (Ex. 子孫ウイルス産生量の解析、電子顕微鏡解析、結合因子解析、細胞内局在解析等) 解析する。

4. 研究成果

- (1) 学術論文として公開されている、もしくはこれまでに独自に実施した高感度質量解析によって得られた HSV 感染細胞中の蛋白質翻訳後修飾に関するビッグデータを収集、統合した。
- (2) (1) で同定した蛋白質翻訳後修飾に関して、超高速 MD シミュレーションを実施し、分子振動が大きい HSV 蛋白質の抽出を実施した。
- (3) (2) で大きな分子振動への影響が認められた HSV 蛋白質の翻訳後修飾に関して、独自に確立済みの HSV ゲノム編集法によって 1 アミノ酸変異を導入した組換え HSV を作出した。この組換え HSV を多面的に性状解析した結果、同定した翻訳後修飾は当該 HSV 蛋白質の機能ドメインの運動性を低下させ、本 HSV 蛋白質の効率的な機能発現を担っていることが示唆された。また、マウスを用いた HSV-1 感染実験において、本翻訳後修飾は HSV 病原性発現に極めて重要であることが示唆された。本知見は MD シミュレーションにより、効率的に機能的な HSV 蛋白質の翻訳後修飾のスクリーニングが可能となることを示唆する。また、この手法は宿主因子にも応用可能である。HSV 感染時の宿主因子の翻訳後修飾のビッグデータ、および超高速 MD シミュレーションを組み合わせることで、HSV 感染特異的に誘導される宿主因子の翻訳後修飾が HSV 増殖や病原性発現に与える影響の解明が可能であると考えられる。それらによって得られた知見は、宿主因子

を標的とした新規抗 HSV 剤の開発の基盤情報となると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Fumio Maeda, Akihisa Kato, Kosuke Takeshima, Misato Shibazaki, Ryota Sato, Takuma Shibata, Kensuke Miyake, Hiroko Kozuka-Hata, Masaaki Oyama, Eigo Shimizu, Seiya Imoto, Satoru Miyano, Shungo Adachi, Tohru Natsume, Koh Takeuchi, Yuhei Maruzuru, Naoto Koyanagi, Jun Arii, 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 -
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 オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Akihisa, Adachi Shungo, Kawano Shuichi, Takeshima Kousuke, Watanabe Mizuki, Kitazume Shinobu, Sato Ryota, Kusano Hideo, Koyanagi Naoto, Maruzuru Yuhei, Arii Jun, Hatta Tomohisa, Natsume Tohru, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of a herpes simplex virus 1 gene encoding neurovirulence factor by chemical proteomics	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-18718-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shibazaki Misato, Kato Akihisa, Takeshima Kosuke, Ito Jumpei, Suganami Mai, Koyanagi Naoto, Maruzuru Yuhei, Sato Kei, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 94
2. 論文標題 Phosphoregulation of a Conserved Herpesvirus Tegument Protein by a Virally Encoded Protein Kinase in Viral Pathogenicity and Potential Linkage between Its Evolution and Viral Phylogeny	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01055-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01055-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takeshima Kosuke, Arii Jun, Maruzuru Yuhei, Koyanagi Naoto, Kato Akihisa, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 93
2. 論文標題 Identification of the Capsid Binding Site in the Herpes Simplex Virus 1 Nuclear Egress Complex and Its Role in Viral Primary Envelopment and Replication	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01290-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01290-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Joo Sunyi, Suwanto Aldina, Sato Ayuko, Nakahashi-Ouchida Rika, Mori Hiromi, Uchida Yohei, Sato Shintaro, Kurashima Yosuke, Yuki Yoshikazu, Fujihashi Kohtaro, Kawaguchi Yasushi, Kiyono Hiroshi	4. 巻 12
2. 論文標題 A role for the CCR5-CCL5 interaction in the preferential migration of HSV-2-specific effector cells to the vaginal mucosa upon nasal immunization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mucosal Immunology	6. 最初と最後の頁 1391 ~ 1403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41385-019-0203-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Arii Jun, Takeshima Kosuke, Maruzuru Yuhei, Koyanagi Naoto, Kato Akihisa, Kawaguchi Yasushi	4. 巻 93
2. 論文標題 Roles of the Interhexamer Contact Site for Hexagonal Lattice Formation of the Herpes Simplex Virus 1 Nuclear Egress Complex in Viral Primary Envelopment and Replication	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e00498-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.00498-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Yasushi Kawaguchi
2. 発表標題 Molecular Mechanisms of Herpes Simplex Virus Infection
3. 学会等名 第19回あわじ感染と免疫国際フォーラム / The Neo-Virology Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川口 寧
2. 発表標題 単純ヘルペスウイルス感染の分子機構
3. 学会等名 第50回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小柳直人, 加藤哲久, 丸鶴雄平, 有井潤, 川口寧
2. 発表標題 HSV UL13 プロテインキナーゼの新規キナーゼ活性制御機構の解明
3. 学会等名 第33回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村南美, 加藤哲久, 五十嵐学, 丸鶴雄平, 小柳直人, 有井潤, 川口寧
2. 発表標題 HSV-1 Us3 protein kinaseの基質特異性を司るリン酸化制御機構の解明
3. 学会等名 第33回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akihisa Kato, Nami Kimura, Naoto Koyanagi, Yuhei Maruzuru, Jun Arii, Manabu Igarashi, Yasushi Kawaguchi
2. 発表標題 Regulatory mechanism of the substrate specificity of Us3 protein kinase encoded by herpes simplex virus-1
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川口 寧
2. 発表標題 単純ヘルペスウイルスの増殖・病態発現機構
3. 学会等名 第33回ヘルペスウイルス研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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

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
---------	---------