

ヘルペスウイルスの感染機構

川口 寧

ヘルペスウイルスは、100 kbp 以上の大型な DNA ゲノムをもつウイルスである。ヘルペスウイルスは、牡蠣といった無脊椎動物から高等哺乳動物に至るまで様々な宿主から約 130 種類が分離されており、それぞれの宿主に固有の病態を引き起こす。よって、ヘルペスウイルスは、医学、獣医学、畜産、水産といった多領域において重要なウイルス群である。ヘルペスウイルスの大きな特徴は、ウイルス粒子を産生しない潜伏感染をすることにある。生体内に侵入したヘルペスウイルスは、発症の有無にかかわらず特定の臓器・組織に潜伏感染する。そして、宿主がストレスや免疫抑制といった状態に陥った際、潜伏感染しているヘルペスウイルスは、再活性化・増殖し、頻繁に宿主に再び病態を引き起こす。この潜伏感染するという特徴が、ヘルペスウイルス感染症の制御を困難にしている。本総説では、ヘルペスウイルスのプロトタイプである単純ヘルペスウイルスをモデルとし、近年急速に明らかになりつつあるヘルペスウイルスの増殖・潜伏感染の分子機構を概説する。

1. ヘルペスウイルス

ヘルペスウイルス目に属するウイルスを一般にヘルペスウイルスと呼ぶ。ヘルペスウイルスは、牡蠣といった無脊椎動物から高等哺乳動物に至るまで様々な宿主から約 130 種類が分離されており、それぞれの宿主に固有の病態を引き起こす。よって、ヘルペスウイルスは、医学、獣医学、畜産、水産といった多領域において重要なウイルス群である。

ヘルペスウイルス粒子は、ほぼ球状で、外側より、エンベロープ、テグメント、カプシドの主要構造からなる (図 1)。エンベロープは、宿主細胞由来の脂質 2 重膜である。エンベロープ上には、ウイルス特異糖タンパク質が存在し、ウイルスの細胞への侵入に大きな役割を果たしている。テグメントとは、ヘルペスウイルスに特徴的なウイルス構造であり、エンベロープとカプシドとの間に介在する

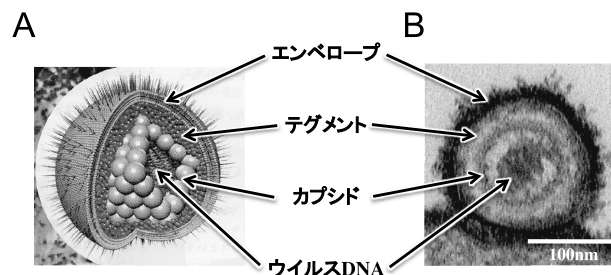


図 1 HSV 粒子 (A) 模式図 (B) 超薄切片電子顕微鏡像

タンパク質層である。ウイルスゲノムは、直鎖状の 2 本鎖 DNA として正 20 面体のカプシドに内包されている。ゲノムサイズ (130~250 kbp) および塩基組成 (GC 含量 32~75 モル%) は、各ヘルペスウイルスで多様性を示すが、それらはウイルスの中でも非常に大型である。ヘルペスウイルスはその大型の DNA ゲノムに数十~百以上のウイルスタンパク質をコードしている。

ヘルペスウイルスの最大の特徴は、潜伏感染することにある。生体内に侵入したヘルペスウイルスは、発症の有無にかかわらず特定の臓器・組織に潜伏感染する。潜伏感染部位は、各ヘルペスウイルスで多様性を示す。潜伏感染細胞では、ウイルスゲノムは環状化され宿主細胞の染色体から遊離したエピソーム上に存在し、限定されたウイルス遺伝子のみが発現している。感染性ウイルス粒子は産生され

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 (〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1)

Molecular mechanisms of herpes simplex virus infection
Yasushi Kawaguchi (Division of Molecular Virology, Department of Infection and Immunology, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, 4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan)

ない。宿主がストレスや免疫抑制といった状態に陥ったとき、潜伏感染しているヘルペスウイルスは、再活性化・増殖し、宿主に再び病態を引き起こす（回帰発症）。ヘルペスウイルスは回帰発症と潜伏感染を繰り返し、宿主に終生存続する。

本総説では、ヘルペスウイルス群の中で最も研究が進んでおり、その研究成果が多くヘルペスウイルス研究に効率的にフィードバックされている単純ヘルペスウイルス（HSV：herpes simplex virus）をモデルとし、その増殖・潜伏感染の分子機構を概説する。

2. HSV 感染症

HSV は、ヒトに脳炎、口唇ヘルペス、性器ヘルペス、皮膚疾患、眼疾患、全身性の新生児ヘルペスウイルスといった多様な疾患を引き起こす¹⁾。脳炎においては、無治療の場合、致死率は70～90%に達する²⁾。抗ヘルペスウイルス剤を使用しても10～20%が死に至り、2/3に中および重度の後遺症が残る。比較的統計がはっきりしているアメリカ合衆国では、HSV脳炎は年間約1,500人、性器ヘルペスは年間約50～70万人、角膜ヘルペスは年間約30万人、新生児ヘルペスには年間約1,500人が罹患する^{3,4)}。さらに、性器ヘルペスはエイズウイルスの感染危険度を2～4倍程度増加させるという報告もある³⁾。このように、HSVは医学上極めて重要なウイルスである。一方、一部の弱毒化したHSVが癌を特異的に殺傷する能力があることが明らかにされた⁵⁾。現在臨床試験段階であるが、HSVは‘癌のウイルス療法’という新たな癌治療法に利用されている⁶⁾。

HSV感染症には、ノーベル賞の受賞対象である抗ウイルス剤アシクロビルをはじめとして効果的な抗ウイルス剤が開発されている¹⁾。それにもかかわらず、上記のように多くのHSV感染症患者が問題となっているのは、HSVが他のヘルペスウイルス同様に潜伏感染するからである。現在までに開発されている抗HSV剤は、ウイルスが増殖期（溶解感染期）のウイルス感染細胞を標的としている。よって、潜伏感染している感染細胞には、既存の抗HSV剤は全く効果を示すことができない。つまり、一度HSVに感染してしまうと、潜伏感染部位からHSVを除去することは既存の抗HSV剤では不可能である。再発性のヘルペス疾患患者、特に、再発性の性器ヘルペス患者は、年数回の再発の度に抗HSV剤を服用し、それを何年も続けなければならない。この点が、HSV感染症の最大の問題点である。最近では、発症時の治療量より少量の抗HSV剤を長期間に渡って投与する再発抑制療法が国内でも保険適応となり、効果をあげている。しかし、再発性HSV感染症の根治は現時点では不可能であり、再発抑制療法においても

患者は、毎日抗HSV剤を飲み、それをかなり長期間続けなければならない。このような状況を打破するためには、(i) ワクチンや感染防御が可能な抗ウイルス剤によるHSV初感染の防御、(ii) 頻発する回帰発症を防ぐワクチンの開発、(iii) 潜伏感染しているHSVの除去といった新しい抗HSV戦略の構築が必要である。しかし、精力的な研究にもかかわらず、いずれに関しても効果的な予防・治療法は未だに確立されていない。これら新しい治療法の開発には、HSV感染における詳細な増殖・潜伏感染機構や宿主応答機構を明らかにすることが必要であることは言うまでもない。

3. HSV の生活環 (図2)

HSVは初感染後、感染局所の粘膜上皮細胞で増殖する。病態を引き起こすことは希であり、ほとんどが不顕性感染であると考えられている。局所で増殖したHSVは、病態発症の有無にかかわらず、感染局所を支配する知覚神経末端に感染する。そして、ウイルス粒子がアクソン内を逆行輸送され、三叉神経節または仙髄神経節に到達し、一過性の増殖後、ウイルス粒子を産生しない潜伏感染に移行する。潜伏しているHSVは、ある種の宿主の変化（紫外線照射、感冒、月経、免疫抑制、ストレス）によって再活性化され、ウイルス粒子の産生が再開される。再活性化されたウイルスはアクソン内を順行輸送され、再び局所に病態を引き起こす。このように、HSVは潜伏・再活性化を繰り返し、宿主に終生存続する。

4. HSV 増殖感染・潜伏感染の分子機構 (図3)

(I) HSV の増殖感染

(i) HSV の細胞侵入

HSVの細胞への侵入には、五つのエンベローブ糖タンパク質（glycoprotein B (gB), gC, gD, gH および gL）が関与している（図4）。HSVの細胞への吸着は、gBおよびgCが細胞表面のヘパラン硫酸群に結合することによって引き起こされる^{7,8)}。この吸着過程は必須ではないが、効率的なHSVの細胞侵入に寄与していると考えられている。その後、gBおよびgDがそれぞれの宿主細胞受容体と結合することによってウイルスエンベローブと宿主細胞膜が融合し、ウイルスの細胞への侵入が開始される。gB受容体としては、NM-IIA (non-muscle myosin IIA)⁹⁾、PILR α (paired immunoglobulin-like type 2 receptor α)¹⁰⁾およびMAG (myelin associated glycoprotein)¹¹⁾が、gD受容体としては、nectin¹²⁾、CD270 (別名、HVEM: herpesvirus entry mediator)¹³⁾および、3-O 硫酸化転移酵素で硫酸基が付加されたヘパラン硫酸¹⁴⁾が同定されている。HSVの生活環を鑑みると、HSVのin vivoでの主要標的細胞は上皮細胞と神経細胞である（図2）。また、HSVはほとんど全ての培養

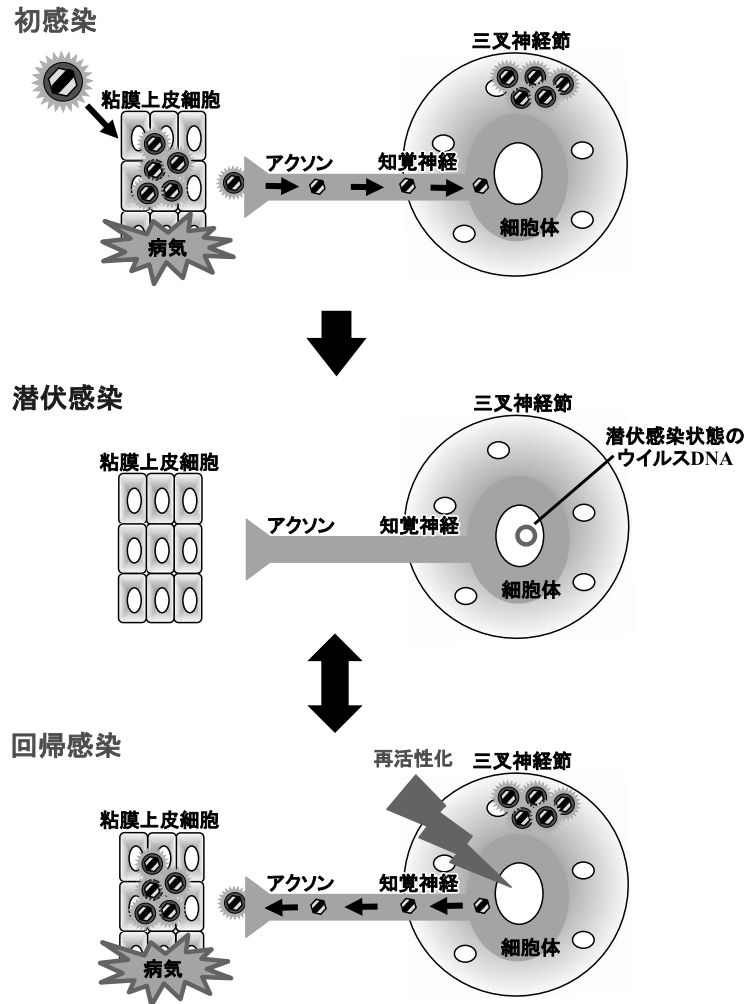


図2 HSV生活環 HSVは初感染後、感染局所の粘膜上皮細胞で増殖する。局所で増殖したHSVは、感染局所を支配する知覚神経末端に感染する。そして、ウイルス粒子がアクソン内を逆行輸送され、三叉神経節または仙髄神経節に到達し、一過性の増殖後、ウイルス粒子を産生しない潜伏感染に移行する。潜伏しているHSVは、ある種の宿主の変化(ストレスや免疫抑制)によって再活性化され、ウイルス粒子の産生が再開される。再活性化されたウイルスはアクソン内を順行輸送され、再び局所に病態を引き起こす。このように、HSVは潜伏・再活性化を繰り返す。

細胞株に感染する。これらの *in vivo* および *in vitro* での HSV 感染を説明する主要受容体としては、gB 受容体が NM-IIA、gD 受容体が nectin および CD270 であると考えられる。一方、マウス動物モデルを用いた解析から、PILR α も *in vivo* での HSV 増殖や病態発現に寄与していることが報告されている¹⁵⁾。この様に、HSV には多くの受容体が存在するが、これは HSV が様々な細胞種に感染し、多彩な病態を引き起こすことを反映しているかもしれない。また、HSV の細胞侵入経路に関しては、細胞種に依存して二つの経路が報告されている¹⁶⁾。一つは、宿主細胞膜上で、細胞膜とエンベロップが膜融合して侵入する経路、もう一つは、いったん HSV がエンドサイトーシスさ

れ、その後エンドソーム膜とエンベロップが膜融合して侵入する経路である。この二つの経路を決定因子の一つが、HSV 受容体であることが示唆されている¹⁷⁾。

エンベロップが細胞膜に融合し、カプシドが細胞内に侵入する際に、一部のテグメントタンパク質が細胞質に放出される。テグメントタンパク質群は、カプシドとの位置関係からインナーテグメントとアウターテグメントに分類され、放出されるテグメントの多くはアウターテグメントである。放出されるテグメントタンパク質には、転写因子、核酸分解酵素、プロテインキナーゼ等が含まれており、効率的な感染成立に寄与していると考えられている¹⁾。代表例である UL41 (別名 VHS (virion host shut off)) は、RNase

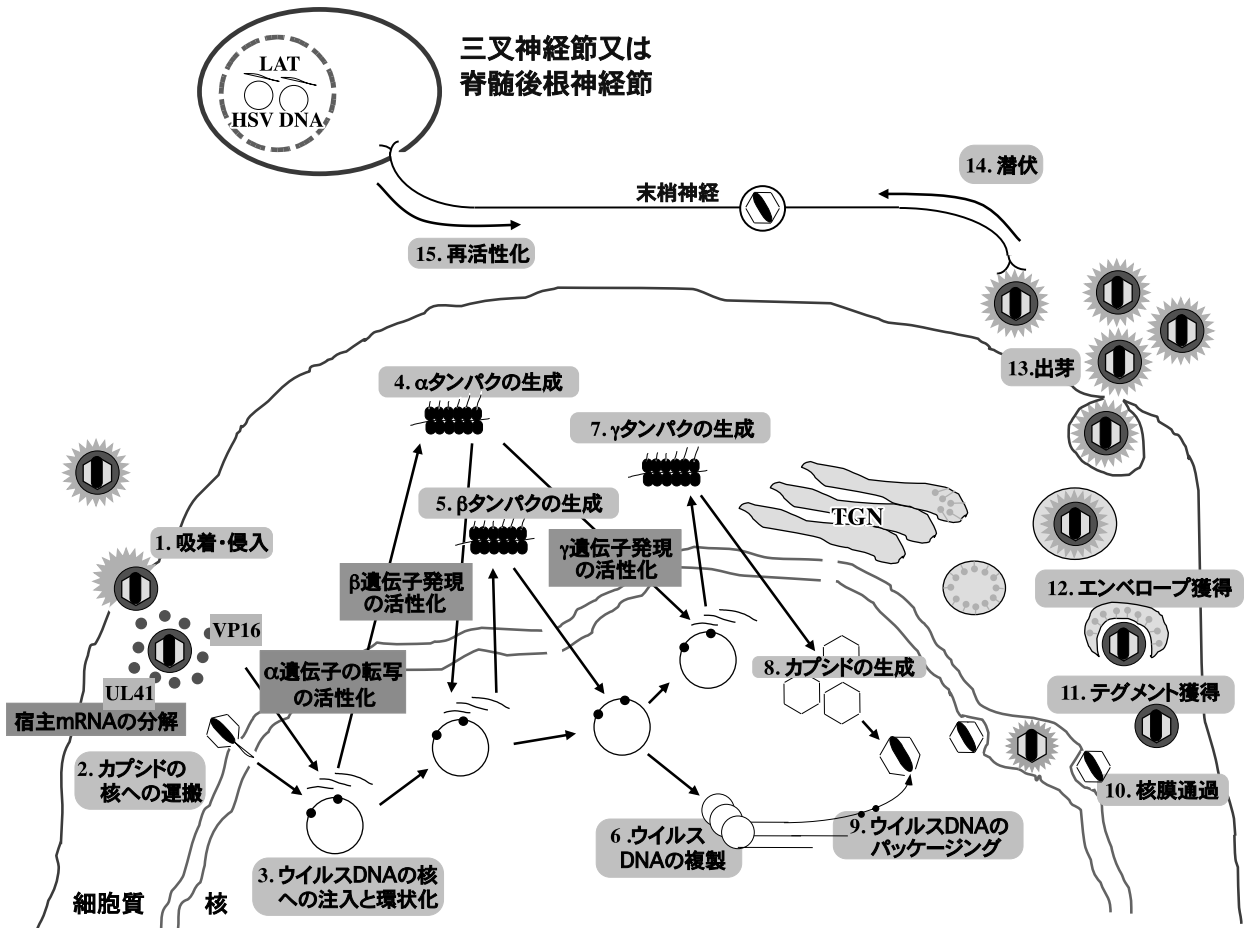


図3 HSVの増殖・潜伏感染機構 1. HSVは複数のレセプターを介して宿主細胞に侵入する。ウイルスの細胞への侵入後、ウイルス粒子中のテグメントタンパク質であるUL41およびVP16が細胞質へ放出される。UL41は宿主のmRNAを分解することによって宿主タンパク質の合成を阻害し、ウイルスタンパク質の選択的な翻訳に寄与する。VP16は核に運ばれる。2. カプシドは核膜孔まで運ばれ、ウイルスDNAを核に放出する。3. 核内でウイルスDNAは環状化する。4. テグメントタンパク質であるVP16により α 遺伝子群の転写が活性化される。核で合成されたウイルスmRNAは細胞質へ運ばれ α タンパク質に翻訳される。 α タンパク質は核に運ばれ、 β 、 γ 遺伝子の発現を制御する。5. α タンパク質によって β 遺伝子群の発現が活性化され、 β タンパク質が生成される。6. β タンパク質群はウイルスDNAの複製に関与するタンパク質を多く含む。これらの作用によりウイルスDNAはローリングサイクル機構で複製され、中間体として巨大なコンカテマーを形成する。7. ウイルスDNAの複製が行われると、 γ 遺伝子群が発現する。8. γ タンパク質群には主にウイルス粒子の構造タンパク質が含まれ、空のカプシドが生成される。9. カプシド生成後、中間体であるコンカテマーがウイルスゲノムの大きさに開裂したウイルスDNAがカプシドへパッケージングされる(ヌクレオカプシド)。10. ヌクレオカプシドは核膜内膜でいったん一次エンベロープを獲得することによって核内外膜間に出芽し、次に、一次エンベロープと核外膜が融合することによってヌクレオカプシドが細胞質に放出される。11. その後、ヌクレオカプシドは細胞質でテグメントタンパク質を獲得し、12. 細胞質内のトランスゴルジネットワークで最終エンベロープを獲得する。13. 最終エンベロープを獲得したウイルス粒子はエクソサイトーシスで細胞外へ放出される。14. 局所のHSVは末梢神経を上向き、三叉神経節または脊髄後根神経節に潜伏する。潜伏中のウイルスDNAはエピゾーム状に存在し、LATのみが転写される。15. ストレス等の刺激によって再活性化されたウイルスは末梢神経を下向き、局所で増殖し回帰発症を引き起こす。

活性を有し、宿主のmRNAを分解することによって宿主タンパク質の合成を阻害する¹⁾。VP16は核に移行し、ウイルス遺伝子の発現に大きな役割を果たす(後述)¹⁾。

細胞内に侵入したカプシドは、細胞質内の微小管に沿って逆行性に核膜孔へと輸送される。その際、カプシドに付着しているインナーテグメント群が宿主細胞のモータータンパク質であるダイニンおよびそのコファクターであるダ

イナクチンと相互作用することによってカプシドは微小管上を輸送される¹⁸⁾。核膜孔に到達したカプシドは、そこでウイルスDNAを核内に注入する。

(ii) HSVの核内イベント

核内に注入されたウイルスDNAは環状化し、ウイルス遺伝子の転写が開始される。ウイルスの遺伝子は、その発

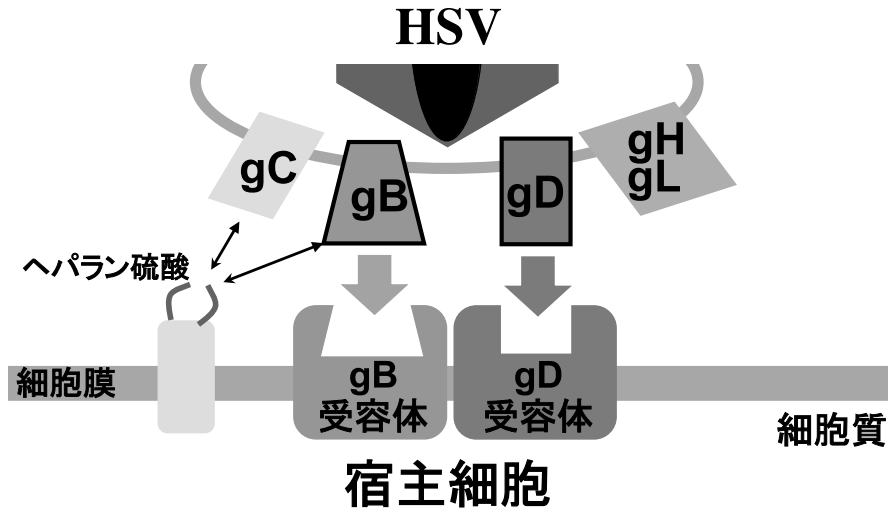


図4 HSVの細胞侵入機構 gBおよびgCが細胞表面のヘパラン硫酸群に結合することによってHSVの細胞への吸着が引き起こされる。その後、gBおよびgDがそれぞれの宿主細胞受容体と結合することによってエンベロープと宿主細胞膜が融合し、ウイルスの細胞への侵入が開始される。

現時期によって3群 (α , β , γ) に大別され、それぞれの発現はカスケード状に制御されている¹⁾。最初に発現する α 遺伝子群のプロモーター領域には、VP16 response element とよばれる配列が共通に存在する。テグメントタンパク質として感染細胞に持ち込まれたVP16は、宿主転写因子 Oct-1 および HCF と複合体を形成後、VP16 response element に結合して α 遺伝子の発現を活性化する¹⁾。VP16/HCF/Oct-1 複合体による α 遺伝子発現の活性化機構は、以下のようにその詳細が明らかになりつつある。

真核生物において、DNA はヒストンと緊密に相互作用し、クロマチン構造を形成する。近年、遺伝子発現制御は、ゲノム情報だけでは規定できず、ヒストンの化学修飾に起因するクロマチン構造の変化によっても制御されるという、いわゆるエピジェネティックな遺伝子発現制御機構が明らかになっている。ヒストンの化学修飾の状態によってクロマチン構造は、遺伝子発現が活性化されているユークロマチン構造や遺伝子発現が抑制されているヘテロクロマチン構造等に変化する。近年、このようなエピジェネティックな制御が、潜伏感染および潜伏感染時におけるHSVゲノムの遺伝子発現を調節していることが報告されている³⁾。ウイルス粒子中のウイルスDNAは、ヒストンと会合していないことが知られている。ウイルスによって核内に注入された裸のウイルスDNAは、トランスフェクション等で導入された外来DNAと同様に、ヘテロクロマチン構造を形成し、遺伝子のサイレンシングが起こると考えられる。実際に、潜伏感染時の α 遺伝子プロモーター領域には、抑制性のヒストン H3Lys9 メチル化を受けたクロマチンの急激な蓄積が引き起こされる¹⁹⁾。しかし、増殖感染細胞においては、ウイルス遺伝子の発現は活発に行わ

れなければならない。そのために、ウイルスは自身のゲノムDNAのクロマチン構造を変換させる必要がある。 α 遺伝子プロモーターに結合・活性化するVP16/HCF/Oct-1 複合体は、ヒストンの修飾酵素群を含む巨大な複合体を形成している。この複合体に含まれるLys特異的脱メチル化酵素LSD1およびヒストンメチル基転移酵素Set1またはMLL1の作用によって抑制性のヒストンH3Lys9メチル化修飾の阻害および活性化型ヒストンH3Lys4メチル化修飾の促進が引き起こされ、 α 遺伝子プロモーターは抑制性のヘテロクロマチン構造から活性化型のユークロマチン構造への変換が引き起こされることが報告されている¹⁹⁾。その結果、 α 遺伝子の発現が開始される。つまり、VP16はHSVの遺伝子発現を開始するスターター的な役割を果たしている。

α 遺伝子産物には、六つのウイルス因子 (ICP0, ICP4, ICP22, ICP27 および ICP47) が含まれており、それらの多くがHSV増殖感染において極めて重要な役割を果たしている。ICP4はDNA結合能を有し、ウイルス遺伝子発現制御の中心的な役割を果たしている¹⁾。ICP27はRNA結合能を有し、スプライシングやmRNAの輸送といったウイルス遺伝子の転写後調節を担っている²⁰⁾。ICP47は、ペプチドトランスポーターであるTAP (transporter associated with antigen processing) と相互作用することによってウイルスの抗原提示を阻害する。その結果、感染細胞が細胞傷害性T細胞の標的となることを回避することが報告されている^{21,22)}。ICP22は γ 遺伝子の一部の発現を活性化することが報告されているが、その機能は不明な点が多い¹⁾。Ring Fingerドメインを有するICP0は、それ自身がE3ユビキチンライゲースとして機能し、特定の標的タンパク質

の分解に関与している。また、ICP0は標的タンパク質よりユビキチンを除去する宿主プロテアーゼであるUSP7 (ubiquitin specific protease 7) と強固に会合することが報告されており、標的因子によっては、その安定化にも関与する¹⁾。さらに、ICP0は、遺伝子のサイレンシングに関与するHDAC/LSD1/CoREST/REST複合体に作用し、その機能を抑制する²³⁾。また、ICP0は概日周期の制御転写因子BMAL-1/CLOCK複合体と相互作用する^{24,25)}。CLOCKはヒストンをアセチル化し、遺伝子のサイレンシングを解除するヒストンアセチル化転移酵素である。ICP0は、HDAC/LSD1/CoREST/REST複合体およびBMAL-1/CLOCK複合体と相互作用することにより、ウイルスゲノムのクロマチン構造変化を誘導し、ウイルス遺伝子発現を活性化していると考えられている^{1,25)}。

α遺伝子が発現すると、これらの遺伝子産物がβ遺伝子の発現を活性化する。β遺伝子群は、DNAポリメラーゼ複合体、DNAプライマーゼ・ヘリカーゼ複合体などのウイルスDNA複製に必要なタンパク質やチミジンキナーゼ、リボヌクレオチド還元酵素などのデオキシリボヌクレオチド代謝に関わる酵素群をコードしている。HSVはDNA合成を制御するタンパク質をコードする遺伝子を多く保持しており、このことがin vivoでの増殖、すなわち、細胞周期が静止期にある細胞での増殖に重要な役割を果たしている¹⁾。β遺伝子群が発現するとウイルスDNAの複製が開始される。ウイルスDNAはローリングサイクル型の複製様式で進行し、中間体として巨大な分子量をもつコンカテマーが形成される¹⁾。

γ遺伝子群はエンベロープ糖タンパク質、カプシドタンパク質、テグメントタンパク質といったウイルス粒子構造タンパク質をコードしている。一方、γ遺伝子産物は、ウイルス粒子の構造保持だけに機能するのではなく、感染細胞では制御因子として働き、ウイルスの効率的な増殖に寄与する場合が多い。その代表例が、HSVがコードするプロテインキナーゼ (PK: protein kinase) である。HSVは少なくとも二つのPK (Us3およびUL13) をコードしている。いずれもセリン/スレオニンPKであり、テグメントタンパク質である。興味深いことに、UL13およびUs3は宿主細胞PKを模倣することが明らかになっており、UL13は細胞周期依存PK (cdks: cyclin-dependent kinases)^{26,27)}、Us3はPKA (protein kinase A)²⁸⁾やAkt²⁹⁾等のAGC PKと基質指向性が類似している。いずれの宿主細胞PKも、いくつもの重要な細胞機構を制御するPKであることから、Us3およびUL13が宿主細胞制御の点で大きな役割を果たしていることが想像される。Us3に関しては近年研究が進展し、カプシドの核から細胞質への輸送 (後述)^{30,31)}、アポトーシスの抑制³²⁾、感染細胞の形態³³⁾、エンベロープ糖タンパク質の細胞内輸送³⁴⁾といった様々な感染現象を制御し

ていることが報告されている。また、これらの現象に関与するUs3基質も同定されつつあり、特に、Us3によるエンベロープ糖タンパク質gBのリン酸化は、カプシドの核から細胞質への輸送およびgBの細胞内輸送の両方を制御しており、このリン酸化がHSVの病原性発現に大きな役割を果たすことが明らかになっている^{31,34,35)}。

γ遺伝子産物が発現し、核内で空のカプシドが生成されると、ウイルスDNAの複製中間体であるコンカテマーがウイルスゲノムの大きさに開裂され、カプシドへパッケージングされる¹⁾。ウイルスゲノムを内包したカプシド (ヌクレオカプシド) は、最終的には、細胞質の膜オルガネラで最終エンベロープを獲得する。よって、ヌクレオカプシドは、核内から細胞質へ移動しなければならない。しかし、ヌクレオカプシドは直径約100 nmの正二十面体であり、これは核膜孔の通過許容サイズを超えている。つまり、HSVにはヌクレオカプシドの核膜孔非依存的な核から細胞質への輸送機構が必要である。HSVを含めたヘルペスウイルスは、核内膜を一次エンベロープとしてヌクレオカプシドに獲得させ、核内外膜間に出芽後、核外膜と一次エンベロープを融合させ、裸のヌクレオカプシドが細胞質に放出されるといった、細胞生物学では他に類を見ないユニークな輸送機構を進化させている。その際、ヌクレオカプシドの核内外膜間への出芽には、核内膜に存在するラミンの網目状構造を破壊し、ヌクレオカプシドが核内膜に直接アクセスできるようにしなければならない。また、核内膜で一次エンベロープを獲得したHSVが核外膜と融合するためには、核内膜に、膜融合に関与するエンベロープ糖タンパク質をリクルートしなければならない。これらの過程には、ウイルス因子UL31、UL34およびUs3が重要な役割を果たす。UL31およびUL34は複合体を形成し³⁶⁾、ラミン構造の変換に関与する宿主細胞PKC (protein kinase C)³⁷⁾およびエンベロープ糖タンパク質³⁸⁾を核内膜へリクルートすることが報告されている。Us3もラミンをリン酸化し³⁹⁾、また、Us3によるUL31のリン酸化がヌクレオカプシドの核内外膜間への出芽に寄与していることが明らかになっている⁴⁰⁾。一方、一次エンベロープを獲得したHSVと核外膜との融合には、エンベロープ糖タンパク質gBおよびgHが関与し⁴¹⁾、さらに、Us3によるgBのリン酸化がこの現象に寄与していることが示唆されている³¹⁾。

(iii) 細胞質におけるHSV粒子成熟

細胞質に放出されたヌクレオカプシドは、次にテグメントを獲得すると考えられている。テグメント獲得の場は不明な点が多く、VP16など一部のテグメントは核内で獲得されると考えられている⁴²⁾。また、アウターテグメント等は、エンベロープ糖タンパク質と相互作用することが報告されていることより、エンベロープと同時に獲得される可

能性もある(筆者ら,私信).エンベロープ獲得の場,つまり,HSV粒子最終成熟の場は,トランスゴルジネットワークであるという説が有力である^{43,44}.最終エンベロープを獲得したHSVはエクソサイトーシスによって細胞外へと放出される.

(II) HSVの潜伏感染

局所で増殖したHSVはエンベロープと知覚神経アクソン末端の細胞膜を融合させることによってカプシドをアクソン内に侵入させる.カプシドはアクソン内を逆行性輸送され,神経節内の神経細胞体に到達する.その際の機構は,増殖感染時におけるカプシドの核への輸送に類似しており,カプシドに付着しているインナーテグメント群が宿主細胞のモータータンパク質であるダイニンおよびそのコファクターであるダイナクチンと相互作用することによって微小管を輸送される⁴⁸.カプシドは増殖感染時と同様に核膜孔に輸送され,ウイルスDNAを核内に注入し,ウイルスDNAは核内で環状化する.神経細胞内では,環状ウイルスDNAは宿主染色体から遊離したエピソーム状に存在し,ほとんど全てのウイルス遺伝子の発現は抑制されウイルスは潜伏感染状態となる.潜伏感染細胞において,唯一恒常的に高発現しているウイルス遺伝子はLAT(latency associated transcript)と呼ばれる転写物である.LATは,約8kbの転写物がスプライシングされた1.5kbおよび2.0kbのイントロンである.イントロンは通常不安定であり分解されやすいが,LATが安定に発現するのはラリアット構造によるものである⁴¹.LATには抗アポトーシス作用があることが報告されており,LATの抗アポトーシス作用が潜伏感染細胞の生存に寄与していることが示唆されている⁴⁵.

潜伏感染細胞では,LAT遺伝子領域は活性化型のヒストン修飾が見られ,他の領域は抑制性のヒストン修飾が観察される^{46,47}.つまり,潜伏感染細胞においては,ウイルスDNAのLAT領域はユークロマチン構造をとることによって遺伝子発現が活性化され,他の領域はヘテロクロマチン構造をとることによって遺伝子発現が抑制されていることが示唆される.さらに興味深いことに,LATがウイルス遺伝子プロモーターにおけるユークロマチンからヘテロクロマチンへの構造変換を促進していることが報告されている⁴⁷.このように,エピジェネティックな制御が増殖感染と潜伏感染におけるウイルス遺伝子の発現制御に大きな役割を果たし,その制御にLATが関与していることが明らかになりつつある.

潜伏感染細胞においてLAT以外のウイルス遺伝子の発現を効率的に抑制するためには,それらの遺伝子発現に中心的な役割を果たしている α 遺伝子産物の発現を抑制することが効果的であると考えられる.上記のようにVP

16/HCF/Oct-1複合体は,ヒストン修飾酵素群とさらなる複合体を形成し,ウイルスDNAを活性化型のクロマチン構造に変換させることにより,ウイルス遺伝子発現を活性化する.Oct-1は α 遺伝子プロモーターにこれらの複合体をリクルートするのに重要だと考えられるが,神経細胞では,その発現が著しく低下しているという報告がある⁴⁸.また,HCFに関しては,非神経細胞では核内に局在するが神経細胞では細胞質に局在する⁴⁹.興味深いことに,HCFはウイルスの再活性化に伴い,核に移行する.これら α 遺伝子プロモーターの活性化に関与する宿主因子の神経細胞およびHSV感染ステージ特異的な発現・局在パターンが α 遺伝子プロモーターの活性化を阻害し,潜伏感染の維持に寄与していると考えられる.また,最近,潜伏感染時においてLAT遺伝子領域から幾つかの'small non-coding RNA'が発現していることが報告された⁵⁰.Micro-RNA(miRNA)やshort interfering RNA(siRNA)に代表される'small non-coding RNA'は,遺伝子発現を抑制することが知られている.実際に,LAT遺伝子領域にコードされているsmall non-coding RNAは, α 遺伝子産物であるICP4およびICP0の発現を抑制する.LATはこれらsmall non-coding RNAの前駆体であり, α 遺伝子産物の発現を抑制することによって増殖感染時のウイルス遺伝子発現を抑制し,潜伏感染の維持に寄与しているというモデルが提唱されている.

HSV抗体陽性の場合,免疫抑制剤を投与した移植患者において,高率にHSVの回帰発症が見られる.よって,HSVに対する宿主免疫応答がHSVの潜伏感染維持に関与している可能性が示唆される.実際,潜伏感染している神経細胞の周辺にHSV特異的なCD8+T細胞の浸潤がみられる⁵¹.さらに,潜伏感染状態にある神経細胞節からCD8+T細胞を除去するとHSVの再活性化が亢進され⁵¹,逆に,CD8+T細胞を加えると再活性化が抑制されることが報告された⁵².HSVの潜伏感染の維持に宿主免疫応答,特に,CD8+T細胞が関与していることが推察される.

現在のモデルでは(図5),局所の粘膜上皮細胞では,Oct-1の発現,HCFの核局在,VP16/HCF/Oct-1複合体によるヘテロクロマチンからユークロマチンへの構造の変換によって α 遺伝子が発現し,さらに,VP16やICP0の作用によってウイルスゲノム全体がユークロマチン構造を保持し,活発なウイルス遺伝子発現が行われる.一方,神経細胞においては,Oct-1の低発現,HCFの細胞質局在,LAT遺伝子領域から発現されるnon-coding small RNAsによって α 遺伝子の発現が抑制され,さらに,LATの作用によってウイルスゲノム全体がヘテロクロマチン構造を保持することによってウイルス遺伝子発現が抑制される.また,潜伏感染の維持にはLATの抗アポトーシス作用やHSV特異的なCD8+T細胞も寄与していることが考えら

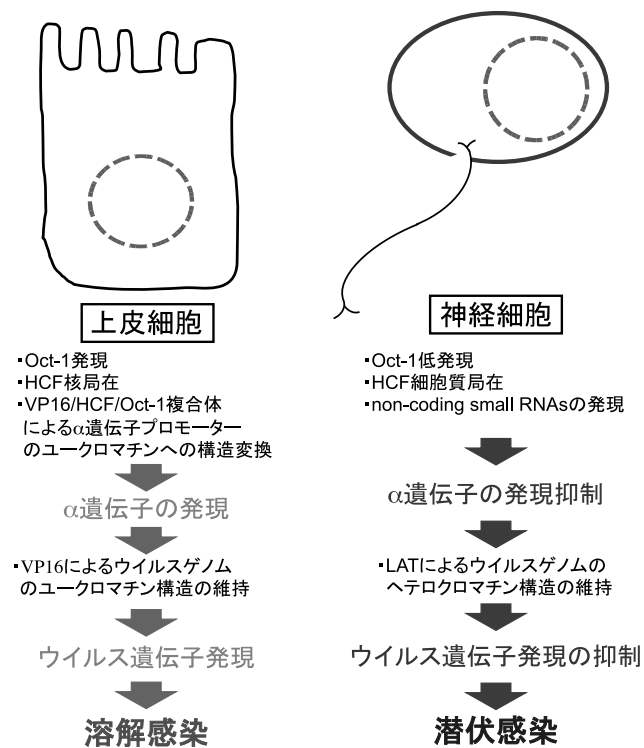


図5 HSVの潜伏感染モデル

れる。

潜伏しているHSVはある種の宿主の変化(紫外線照射, 感冒, 月経, 免疫抑制, ストレス)によって再活性化され, 神経節でウイルス粒子の産生が開始される。再活性化されたウイルスはアクソン内を順行性輸送され, 再び局所で増殖し病態を引き起こす。その際, ヌクレオカプシドに付着しているインナーテグメント群が宿主細胞のモータータンパク質であるキネシンと相互作用することによってカプシドは微小管上を輸送される¹⁸⁾。アクソン内での順行性輸送におけるHSV形態に関しては二つのモデルが提唱されている。一つは, 神経細胞の細胞体でウイルスが最終エンベロープを獲得し, 完成されたウイルス粒子が神経軸索を順行輸送される‘Marriage Model’であり⁵³⁾, もう一つは, 細胞体で構築されたヌクレオカプシドとエンベロープが別々に神経軸索を輸送され, 神経終末でヌクレオカプシドが最終エンベロープを獲得する‘Separate Model’である⁵⁴⁾。これらはここ数年のトピックスであるが, 未だ決着はついていない。

5. おわりに

HSVの増殖・潜伏感染の分子機構に関して, 最新の知見に基づき概説した。近年では, HSVゲノムをクローニングした大腸菌内で変異を導入し, 変異ウイルスを作製する‘BACシステム’の開発によって⁵⁵⁾, ゲノムサイズが大きいゆえに煩雑であったHSVの改変は著しく簡便化され

た。これにより, 試験管内の現象を感染細胞レベルで検証し, さらに, その意義や役割をマウス病態モデルで解明するといった一連の解析がますます進展していくものと考えられる。さらに, HSV研究では, 生きた感染細胞でのウイルス因子およびウイルス粒子を時空間的に解析するリアルタイムイメージングも可能であり⁵⁶⁾, 極めてダイナミックであるウイルス粒子成熟過程が明らかにされつつある。これら先端のウイルス学的手法と, 近年進展がめざましいプロテオームなどの網羅的解析法を組み合わせることによって, HSV感染の分子機構の全体像が明らかにされることが期待される。

文 献

- 1) Roizman, B., Knipe, D.M., & Whitley, R.J. (2007) Herpes simplex viruses. in *Fields Virology* (Knipe, D.M. and Howley, P.M. eds.), 5th Ed., pp. 2501–2602, Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia, P.A.
- 2) 森島恒雄, 庄司紘史, 倉田 毅 (1997) ヘルペス脳炎, スタンダード・マッキングタイヤ, 東京.
- 3) Knipe, D.M. & Cliffe, A. (2008) *Nat. Rev. Microbiol.*, 6, 211–221.
- 4) Beauman, J.G. (2005) *Am. Fam. Physician*, 72, 1527–1534.
- 5) Martuza, R.L., Malick, A., Markert, J.M., Ruffner, K.L., & Coen, D.M. (1991) *Science*, 252, 854–856.
- 6) 川口 寧 (2004) *Mebio*, 21, 24–33.
- 7) Herold, B.C., Visalli, R.J., Susmarski, N., Brandt, C.R., & Spear, P.G. (1994) *J. Gen. Virol.*, 75 (Pt 6), 1211–1222.
- 8) Herold, B.C., WuDunn, D., Soltys, N., & Spear, P.G. (1991) *J. Virol.*, 65, 1090–1098.
- 9) Arii, J., Goto, H., Suenaga, T., Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Imai, T., Minowa, A., Akashi, H., Arase, H., Kawaoka, Y., & Kawaguchi, Y. (2010) *Nature*, 467, 859–862.
- 10) Satoh, T., Arii, J., Suenaga, T., Wang, J., Kogure, A., Uehori, J., Arase, N., Shiratori, I., Tanaka, S., Kawaguchi, Y., Spear, P. G., Lanier, L.L., & Arase, H. (2008) *Cell*, 132, 935–944.
- 11) Suenaga, T., Satoh, T., Somboonthum, P., Kawaguchi, Y., Mori, Y., & Arase, H. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 866–871.
- 12) Geraghty, R.J., Krummenacher, C., Cohen, G.H., Eisenberg, R. J., & Spear, P.G. (1998) *Science*, 280, 1618–1620.
- 13) Montgomery, R.I., Warner, M.S., Lum, B.J., & Spear, P.G. (1996) *Cell*, 87, 427–436.
- 14) Shukla, D., Liu, J., Blaiklock, P., Shworak, N.W., Bai, X., Esko, J.D., Cohen, G.H., Eisenberg, R.J., Rosenberg, R.D., & Spear, P.G. (1999) *Cell*, 99, 13–22.
- 15) Arii, J., Wang, J., Morimoto, T., Suenaga, T., Akashi, H., Arase, H., & Kawaguchi, Y. (2010) *J. Virol.*, 84, 10773–10783.
- 16) Nicola, A.V., McEvoy, A.M., & Straus, S.E. (2003) *J. Virol.*, 77, 5324–5332.
- 17) Arii, J., Uema, M., Morimoto, T., Sagara, H., Akashi, H., Ono, E., Arase, H., & Kawaguchi, Y. (2009) *J. Virol.*, 83, 4520–4527.
- 18) Radtke, K., Kieneke, D., Wolfstein, A., Michael, K., Steffen, W., Scholz, T., Karger, A., & Sodeik, B. (2010) *PLoS Pathog.*, 6, e1000991.

- 19) Liang, Y., Vogel, J.L., Narayanan, A., Peng, H., & Kristie, T. M. (2009) *Nat. Med.*, **15**, 1312–1317.
- 20) Sandri-Goldin, R.M. (2008) *Front. Biosci.*, **13**, 5241–5256.
- 21) York, I.A., Roop, C., Andrews, D.W., Riddell, S.R., Graham, F.L., & Johnson, D.C. (1994) *Cell*, **77**, 525–535.
- 22) Hill, A., Jugovic, P., York, I., Russ, G., Bennink, J., Yewdell, J., Ploegh, H., & Johnson, D. (1995) *Nature*, **375**, 411–415.
- 23) Du, T., Zhou, G., Khan, S., Gu, H., & Roizman, B. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 15904–15909.
- 24) Kawaguchi, Y., Tanaka, M., Yokoyama, A., Matsuda, G., Kato, K., Kagawa, H., Hirai, K., & Roizman, B. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 1877–1882.
- 25) Kalamvoki, M. & Roizman, B. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 17721–17726.
- 26) Kawaguchi, Y. & Kato, K. (2003) *Rev. Med. Virol.*, **13**, 331–340.
- 27) Kawaguchi, Y., Kato, K., Tanaka, M., Kanamori, M., Nishiyama, Y., & Yamanashi, Y. (2003) *J. Virol.*, **77**, 2359–2368.
- 28) Benetti, L. & Roizman, B. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 9411–9416.
- 29) Chuluunbaatar, U., Roller, R., Feldman, M.E., Brown, S., Shokat, K.M., & Mohr, I. (2010) *Genes Dev.*, **24**, 2627–2639.
- 30) Reynolds, A.E., Wills, E.G., Roller, R.J., Ryckman, B.J., & Baines, J.D. (2002) *J. Virol.*, **76**, 8939–8952.
- 31) Wisner, T.W., Wright, C.C., Kato, A., Kawaguchi, Y., Mou, F., Baines, J.D., Roller, R.J., & Johnson, D.C. (2009) *J. Virol.*, **83**, 3115–3126.
- 32) Leopardi, R., Van Sant, C., & Roizman, B. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 7891–7896.
- 33) Kato, A., Tanaka, M., Yamamoto, M., Asai, R., Sata, T., Nishiyama, Y., & Kawaguchi, Y. (2008) *J. Virol.*, **82**, 6172–6189.
- 34) Kato, A., Arai, J., Shiratori, I., Akashi, H., Arase, H., & Kawaguchi, Y. (2009) *J. Virol.*, **83**, 250–261.
- 35) Imai, T., Sagou, K., Arai, J., & Kawaguchi, Y. (2010) *J. Virol.*, **84**, 153–162.
- 36) Reynolds, A.E., Ryckman, B.J., Baines, J.D., Zhou, Y., Liang, L., & Roller, R.J. (2001) *J. Virol.*, **75**, 8803–8817.
- 37) Park, R. & Baines, J.D. (2006) *J. Virol.*, **80**, 494–504.
- 38) Wills, E., Mou, F., & Baines, J.D. (2009) *J. Virol.*, **83**, 4800–4809.
- 39) Mou, F., Forest, T., & Baines, J.D. (2007) *J. Virol.*, **81**, 6459–6470.
- 40) Mou, F., Wills, E., & Baines, J.D. (2009) *J. Virol.*, **83**, 5181–5191.
- 41) Farnsworth, A., Wisner, T.W., Webb, M., Roller, R., Cohen, G., Eisenberg, R., & Johnson, D.C. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 10187–10192.
- 42) Naldinho-Souto, R., Browne, H., & Minson, T. (2006) *J. Virol.*, **80**, 2582–2584.
- 43) Sugimoto, K., Uema, M., Sagara, H., Tanaka, M., Sata, T., Hashimoto, Y., & Kawaguchi, Y. (2008) *J. Virol.*, **82**, 5198–5211.
- 44) Turcotte, S., Letellier, J., & Lippe, R. (2005) *J. Virol.*, **79**, 8847–8860.
- 45) Perng, G.C., Jones, C., Ciacci-Zanella, J., Stone, M., Henderson, G., Yukht, A., Slanina, S.M., Hofman, F.M., Ghiasi, H., Nesburn, A.B., & Wechsler, S.L. (2000) *Science*, **287**, 1500–1503.
- 46) Kubat, N.J., Amelio, A.L., Giordani, N.V., & Bloom, D.C. (2004) *J. Virol.*, **78**, 12508–12518.
- 47) Wang, Q.Y., Zhou, C., Johnson, K.E., Colgrove, R.C., Coen, D.M., & Knipe, D.M. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 16055–16059.
- 48) Hagmann, M., Georgiev, O., Schaffner, W., & Douville, P. (1995) *Nucleic Acids Res.*, **23**, 4978–4985.
- 49) Kristie, T.M., Vogel, J.L., & Sears, A.E. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 1229–1233.
- 50) Umbach, J.L., Kramer, M.F., Jurak, I., Karnowski, H.W., Coen, D.M., & Cullen, B.R. (2008) *Nature*, **454**, 780–783.
- 51) Khanna, K.M., Bonneau, R.H., Kinchington, P.R., & Hendricks, R.L. (2003) *Immunity*, **18**, 593–603.
- 52) Khanna, K.M., Lepisto, A.J., Decman, V., & Hendricks, R.L. (2004) *Curr. Opin. Immunol.*, **16**, 463–469.
- 53) Antinone, S.E. & Smith, G.A. (2010) *J. Virol.*, **84**, 1504–1512.
- 54) Snyder, A., Wisner, T.W., & Johnson, D.C. (2006) *J. Virol.*, **80**, 11165–11177.
- 55) 川口 寧 (2008) ゲノム医学, **8**, 217–221.
- 56) 川口 寧 (2008) ウイルス, **58**, 117–124.