

特集：生体防御メカニズムの分子基盤

単純ヘルペスウイルスの新たな感染機構

佐藤 毅 史^{1,2}, 荒瀬 尚^{1,2,3}

単純ヘルペスウイルス 1 型 (herpes simplex virus type 1; HSV-1) の感染の成立には、エンベロープタンパク質である glycoprotein D (gD) が HVEM や nectin などの細胞表面分子と会合することが重要であることが知られていた。一方、必須エンベロープタンパク質の一つである glycoprotein B (gB) が HSV の感染の際にどのような分子と会合し HSV の感染に関与するかは明らかでなかった。今回、抑制化ペア型レセプターの一つである PILRα が gB と会合し、HSV-1 のウイルス受容体として細胞への感染に関与していることが明らかになった。さらに、HSV-1 の細胞への感染の成立には、gD と結合するウイルス受容体だけではなく、gD, gB それぞれに結合するウイルス受容体の両方が必要であることが判明した。

1. ペア型レセプターとは

NK 細胞が発現する一連の NK 細胞レセプター群は、主として Ig スーパーファミリーの多くがコードされている leukocyte receptor complex (LRC, ヒト 19 番染色体, マウス 7 番染色体), 及び, C 型レクチンの多くがコードされている NK-gene complex (NKC, ヒト 12 番染色体, マウス 6 番染色体) の二つの遺伝子座にクラスターを形成して存在している¹⁾。さらに、ほとんどの NK 細胞レセプターは、相反する機能を持った活性化・抑制化レセプターからなるペア型レセプターとして存在している (表 1)。活性化レセプターは細胞膜貫通領域に陽性荷電アミノ酸を有し、細胞膜貫通領域に陰性荷電アミノ酸を持つ DAP12, CD3ζ, あるいは Fcγ といった ITAM 配列を有したアダプ

ター分子と会合し活性化シグナルを伝達する。一方、抑制化レセプターは細胞質内領域に ITIM 配列を有し、SHP-1 などのホスファターゼを動員することで、活性化レセプターからのシグナルを遮断する。これらの抑制化レセプターの多くは MHC クラス I を認識するため、クラス I の発現が正常な自己細胞に対して傷害性を示さない。ヒトでは LRC にコードされ Ig 様構造を持つ抑制化 killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR), マウスでは NKC にコードされる C 型レクチン様構造を持つ抑制化 Ly49 が知られている。興味深いことに、抑制化 Ly49, KIR はともに自己の MHC クラス I を認識するのに対し、活性化 Ly49, KIR は自己の MHC クラス I をほとんど認識しない。

一方、NKC には Ly49 の他に、ヒト、マウスで共通に認められる NKG2, CD94, NKR1 等の NK レセプターも存在する。そのうち CD94 と NKG2 はヘテロダイマーとして発現するが、やはり抑制化と活性化からなるペア型レセプターとなっている。CD94/NKG2 は、Ly49 や KIR と異なり、HLA-E や Qa-1 といった非古典的クラス I を認識する²⁾。また、NKG2D は、CD94 とヘテロダイマーを形成する他の NKG2 と異なり、ホモダイマーとして発現する。NKG2D は活性化レセプターの一つであり、ヒトでは MIC や ULBP, マウスでは RAE-1, H60 や Mult-1 などウイルス感染や細胞のがん化によって誘導される宿主クラス I 様分子を認識する²⁾。NKG2D には phosphoinositide 3-kinase

¹ 大阪大学微生物病研究所免疫化学分野 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1)

² 大阪大学免疫学フロンティア研究センター免疫化学

³ 科学技術振興機構 SORST

A novel mechanism of herpes simplex virus type-I infection Takeshi Satoh^{1,2} and Hisashi Arase^{1,2,3} (¹Department of Immunochemistry, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, 3-1, Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan, ²Laboratory of Immunochemistry, WPI Immunology Frontier Research Center, Osaka University, ³SORST, Japan Science and Technology Agency)

表 1 活性化型・抑制化型からなるペア型レセプター

抑制化レセプター	リガンド	活性化レセプター	リガンド
Ly49A, C, I, etc. NKR-P1D KIR-2DL, 3DL CD94/NKG2A SIRP α CD85I, F PIR-B MAIR-I DCIR PILR α CD200R (ヒト) CD200R1 (マウス)	H-2K, D, L Clr-b HLA-A, B, C HLA-E (Qa-1) CD47 MHC クラス I MHC クラス I ? HIV, ? PILR-L CD200, vCD200 CD200	Ly49D, H, etc. NKR-P1F KIR-2DS, 3DS CD94/NKG2C, E SIRP β CD85B, D, G, H PIR-A MAIR-II DCAR PILR β CD200RL (ヒト) CD200R2-4 (マウス)	H-2?, m157 Clr-g HLA?, ? HLA-E (Qa-1), ? ? ? ? ? PILR-L (低親和性) ? ?

表に示した抑制化レセプターは、CD200R を除き、細胞内領域に ITIM 配列 [(I/V/L/S)-x-Y-x-x-(L/V) (x は任意のアミノ酸)] を有する。一方、活性化レセプターは細胞膜領域に荷電アミノ酸を持ち、ITAM 配列 [Y-x-x-L-x(6-8)-Y-x-x-x-L] を有するアダプター分子と会合し、活性化のシグナルを伝える。Ly49, KIR, SIRP β , MAIR-II, PILR や CD94/NKG2 は DAP12 と、また PIR-A, DCAR や CD85 は Fc γ とした活性化アダプター分子と会合する。

(PI3K) 結合モチーフである YINM モチーフを細胞内領域に持つ DAP10 が結合し、DAP10 が NKG2D のシグナル伝達を担う。特に、DAP10 は CD28 と同様な補助シグナルを伝達することにより、NK 細胞の活性化に重要な役割を担っている³⁾。さらに、最近、マウスでは alternative splicing により生じる NKG2D のアイソフォームが DAP12 と会合し、ITAM を介したシグナルを伝達することも報告されている⁴⁾。

初めて NK 細胞レセプターの候補として同定された NKR-P1 に関しては、活性化レセプターである NKR-P1C (NK1.1) が B6 マウスの NK 細胞および NKT 細胞の特異的な表面マーカーとして使用される以外、そのリガンド等、機能は長い間不明であった⁵⁾。しかし最近、抑制化 NKR-P1B が、同じく NKC にコードされる Clr-b を、活性化レセプターと思われる NKR-P1F が Clr-g を認識することが明らかになった⁶⁾。このことはクラス I 分子で説明されてきた「非自己」の認識に、NK レセプター様分子自体が関与している点で興味深い。また、表 1 にも示したが、活性化と抑制化レセプターからなるペア型レセプターは NK レセプターばかりではなく、マクロファージ等に発現が認められるものもある。SIRP⁷⁾, PIR⁸⁾, CD85 (ILT, LIR)⁹⁾, MAIR¹⁰⁾, DCA (I)R¹¹⁾, CD200R¹²⁾等のほか、我々が明らかにした PILR¹³⁾などがある。たとえば、CD47 を認識する SIRP α はマクロファージなどに発現しており、マクロファージによる赤血球の貪食を防いでいる⁷⁾。一方で SIRP β は DAP12 と会合する活性化レセプターであるが、CD47 には結合せずリガンドは不明である。また、NK 細胞や樹状細胞に発現する PILR もユニークな I 型膜タンパク質である PILR-L を認識するが、活性化レセプターは抑制化レセプターに比べて非常に弱いアフィニティーしか示さない¹³⁾。また CD200R は、ヒトでは抑制化レセプター CD200R と活性化

レセプター CD200RLa から、マウスでは抑制化レセプター CD200R1 と活性化レセプター CD200R2-4 (CD200RLa-e) から構成されており、抑制化レセプターにおいては、他の抑制化レセプターと異なり、ITIM モチーフを有さない¹⁴⁾。しかし、抑制化 CD200R は CD200 と会合することにより、細胞内領域のチロシンがリン酸化され、mitogen-activated protein kinase (MAPK) カスケードのシグナル伝達を阻害する。このように、免疫細胞には様々なペア型レセプターが存在することがわかってきたが、少なくとも抑制化型レセプターは、免疫細胞の自己応答性を抑えるためのものであると考えられる。それに対し、多くの活性化レセプターのリガンドは不明であり、その機能は明らかになっていないものが多い。従って、免疫細胞のペア型レセプターによる標的細胞認識機構の解明には、レセプターの認識分子の同定が重要である。

2. 単純ヘルペスウイルス 1 型

単純ヘルペスウイルス 1 型 (herpes simplex virus type-1, HSV-1) は、約 80 種類の遺伝子をコードする約 150 kb の二本鎖 DNA をゲノムとして持ち、エンベロープを有するウイルスである。日本人の大部分の人々は、成人までに HSV-1 に初感染し、大半は不顕性で終わるが、一部では顕性感染となり、口唇ヘルペス、角膜ヘルペス、性器ヘルペス、ヘルペス脳炎、新生児ヘルペスなど、さまざまな感染症を引き起こす。また HSV-1 は、初感染後、神経節に潜伏し、宿主の免疫力の低下などにより再発するため、生体からの排除が非常に困難なウイルスである¹⁵⁾。

HSV-1 の細胞への感染の機構は、(i)細胞表面への吸着、(ii)ウイルス受容体との会合、(iii)細胞膜とウイルスエンベロープの膜融合の 3 過程からなり、それぞれの過程は、ウイルス表面に存在するエンベロープタンパク質と細胞表

面に存在する分子が会合することにより引き起こされる。ウイルス表面には十数個のエンベロープタンパク質が存在するが、これらのうち、glycoprotein B, D, H, L (gB, gD, gH, gL) の4種類の糖タンパク質が細胞への感染に必須である¹⁶⁾。gDは、ウイルス受容体への結合の過程に関わっており¹⁷⁾、tumor necrosis factor (TNF) 受容体ファミリーの一種である herpesvirus entry mediator (HVEM)、イムノグロブリンスーパーファミリーの一種である nectin-1, 3-O-硫酸化ヘパラン硫酸等に会合する^{18~21)}。また、gDには、膜融合に関わるタンパク質に見られる特有の配列等は存在しないため、膜融合の過程に直接関与はしていない可能性が高い。しかし、ウイルス粒子を細胞表面に強固に結合させるだけではなく、他のエンベロープタンパク質と相互作用し、膜融合の過程を促進する重要な役割を担っていると考えられる²²⁾。またgBは、gH/gLのヘテロダイマーと共に、細胞膜とウイルスエンベロープの膜融合において重要な役割を果たしている^{23~25)}。他のウイルスには、膜融合の過程を担う膜融合タンパク質が存在するが、そのタンパク質のN末端側の「融合ペプチド」と呼ばれる疎水性のペプチド鎖が細胞膜に直接突き刺さり、エンベロープと細胞膜を引き寄せる。gBやgHは、膜融合タンパク質と構造的に類似しているが、他のウイルスの膜融合タンパク質でみられるような融合ペプチドを持たない。しかし、最近の報告では、これらのタンパク質に、融合ペプチドに類似した配列が存在し、それらが同様の機能を果たしている可能性が示唆されたが^{26, 27)}、現在のところその配列の機能は明らかになっていない。一方、gBが細胞表面の分子と会合することにより膜融合を引き起こすことが示唆され、その会合分子の候補としてヘパラン硫酸が挙げられた²⁸⁾。しかし、ヘパラン硫酸を欠損した細胞に対してもHSV-1は依然として感染が可能であり²⁹⁾、また、ヘパラン硫酸への結合部位を欠損させたgBを持つHSV-1も感染能を保持していた³⁰⁾。また、可溶型のgBは、ヘパラン硫酸欠損細胞に結合することができ、しかも、HSV-1の感染自体も阻害しうることが明らかとなった³¹⁾。以上より、gBは、ヘパラン硫酸以外の他の分子と会合し、細胞膜とエンベロープの膜融合、そして、HSV-1の細胞への感染の成立に重要な役割を果たしていることが示唆された。最近、我々は、免疫系の細胞に発現し、その細胞の免疫応答を制御するペア型レセプターの一種である PILR (paired immunoglobulin-like type 2 receptor) α が、gB と会合し、HSV-1 の感染に関与していることを明らかにした³²⁾。本稿では HSV-1 の細胞への感染における PILR α の役割について概説する。

3. HSV-1 感染細胞における PILR α 会合分子の同定

ペア型レセプターは、細胞外領域において高い相同性を

示す活性化型および抑制化型レセプターからなるレセプター群で、主に免疫系の細胞に発現し、それらの細胞の活性化を制御している。我々は、ペア型レセプターが様々な病原体に対する免疫応答と深く関わっている可能性を示してきた^{33, 34)}。特に持続感染を引き起こすようなウイルスには、宿主の免疫系からの逃避機構が認められ、この機序の一つとして抑制化ペア型レセプターを介した宿主免疫応答の制御の関与が示唆されていた。我々が明らかにしてきた PILR は抑制化型の PILR α と活性化型の PILR β からなるペア型レセプターの一つであり、宿主リガンドである CD99 を認識することにより、免疫応答を制御している^{13, 35, 36)} (図1)。興味深いことに PILR 遺伝子は、ほとんどの哺乳類において保存されており、免疫系の自己に対する応答制御および病原体に対する免疫応答において重要な役割を果たしているものと考えられる³⁷⁾。一方、HSV-1 は他の持続感染するウイルスにも見られるように、MHC 分子の発現低下やサイトカイン産生抑制などにより宿主免疫系から逃避していることは知られていたが、抑制化レセプターを介した免疫逃避機構については知られていなかった。そこで、我々は、HSV-1 感染における抑制化ペア型レセプターの一つである PILR α の関与について解析を行った。

まず我々は、HSV-1 感染細胞が PILR α リガンドを発現しているかどうかを解析するために、PILR α の細胞外領域の Ig 融合タンパク質 (PILR α -Ig) を作製し、HSV-1 感染細胞に結合するかどうかを調べた。293T 細胞に HSV-1 を感染後、細胞変性が確認された時点で細胞を回収し、PILR α -Ig による染色を行った。その結果、PILR α -Ig は HSV-1 感染細胞を特異的に認識した (図2A)。従って、HSV-1 感染細胞は HSV-1 由来の PILR α リガンドが細胞表

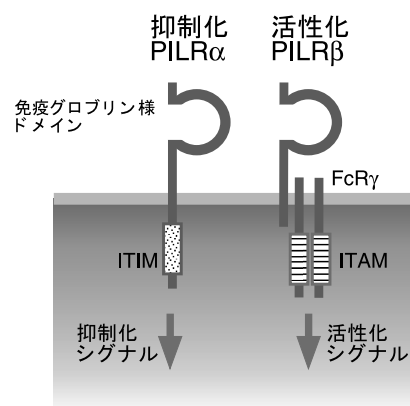


図1 ペア型レセプター PILR

PILR は抑制化型の PILR α と活性化型の PILR β からなるペア型レセプターで、細胞外領域のアミノ酸配列において高い相同性を示す。PILR α は細胞内領域に immunotyrosine-based inhibitory motif (ITIM) を持ち、抑制化シグナルを伝達する。一方、PILR β は細胞内領域にシグナル伝達モチーフを持たず、immunotyrosine-based activation motif (ITAM) を持つ DAP12 鎖と会合し、活性化シグナルを伝達する。

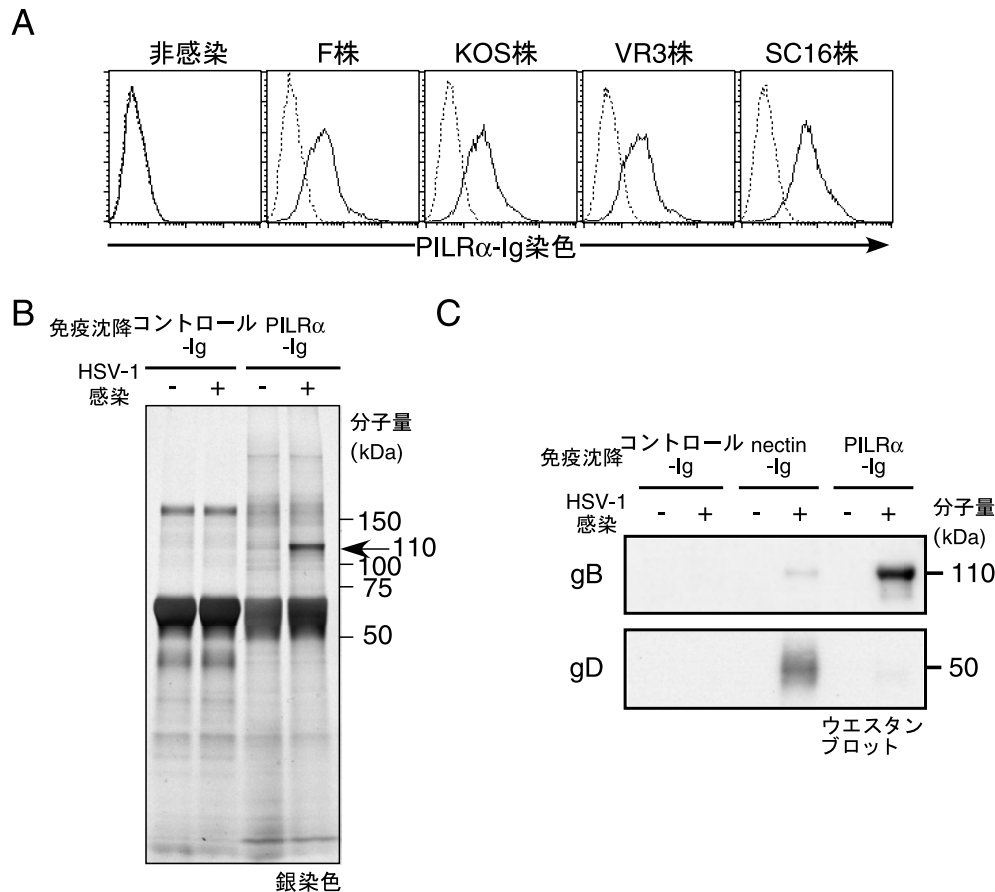


図2 HSV-1 感染細胞上に発現する PILRα リガンドは gB である

- (A) HSV-1 感染細胞における PILRα リガンドの発現. 非感染 293T 細胞または HSV-1 (F, KOS, VR3, SC16 株) 感染細胞をヒト PILRα-Ig (実線) またはコントロール Ig (CD200-Ig, 点線) で染色し, フローサイトメトリーで解析した.
- (B) HSV-1 感染細胞からの PILRα リガンドの免疫沈降. HSV-1 感染細胞, 非感染細胞の lysate からコントロール Ig (CD200-Ig), PILRα-Ig で免疫沈降後, SDS-PAGE で分離し, 銀染色を行った.
- (C) HSV-1 感染細胞上に発現する PILRα リガンドのウエスタンブロット解析. HSV-1 感染細胞, 非感染細胞の lysate からコントロール Ig (CD200-Ig), nectin1-Ig, PILRα-Ig により免疫沈降後, SDS-PAGE で分離し, 抗 gB 抗体または抗 gD 抗体でウエスタンブロットを行った.

面に発現, または, 細胞由来の PILRα リガンドが HSV-1 感染により発現誘導された可能性が考えられた. そこで, HSV-1 感染細胞の発現する PILR リガンドを同定するため, PILRα-Ig を用いた免疫沈降を行うと, 感染細胞特異的に約 110 kDa のタンパク質が PILRα-Ig と共に免疫沈降された. そこで, この 110 kDa の分子を質量分析により解析すると, HSV-1 のエンベロープタンパク質の一つである gB であることが明らかになった (図 2B).

4. PILRα は gB に特異的に会合する

次に, PILRα-Ig が gB を特異的に認識することを証明するため, コントロール Ig, gD と会合するウイルス受容体 nectin-1 の Ig 融合タンパク質 (nectin-Ig), PILRα-Ig により共に免疫沈降されたものを, 抗 gB, gD 抗体を用いたウ

エスタンブロット法により解析を行った. PILRα-Ig により免疫沈降されたものは, 抗 gB 抗体でウエスタンブロットを行うと, 110 kDa の位置にバンドが検出されたが, 抗 gD 抗体ではバンドが検出されなかった. 一方, nectin-Ig で免疫沈降されたものでは, 抗 gD 抗体で 50 kDa 付近にバンドが検出され, 抗 gB 抗体でもわずかながらバンドが検出された. コントロール Ig で免疫沈降されたものは, 抗 gB, gD 抗体共にバンドは検出されなかった (図 2C). 以上より, gB は PILRα-Ig と共に特異的に免疫沈降されることが明らかとなった.

次に, 細胞表面に発現する gB に対し, PILRα が特異的に会合するかを調べるため, HSV-1 の感染に必須なエンベロープタンパク質 gB, gD, gH/gL をそれぞれ 293T 細胞にトランスフェクションし, PILRα-Ig, nectin-Ig による

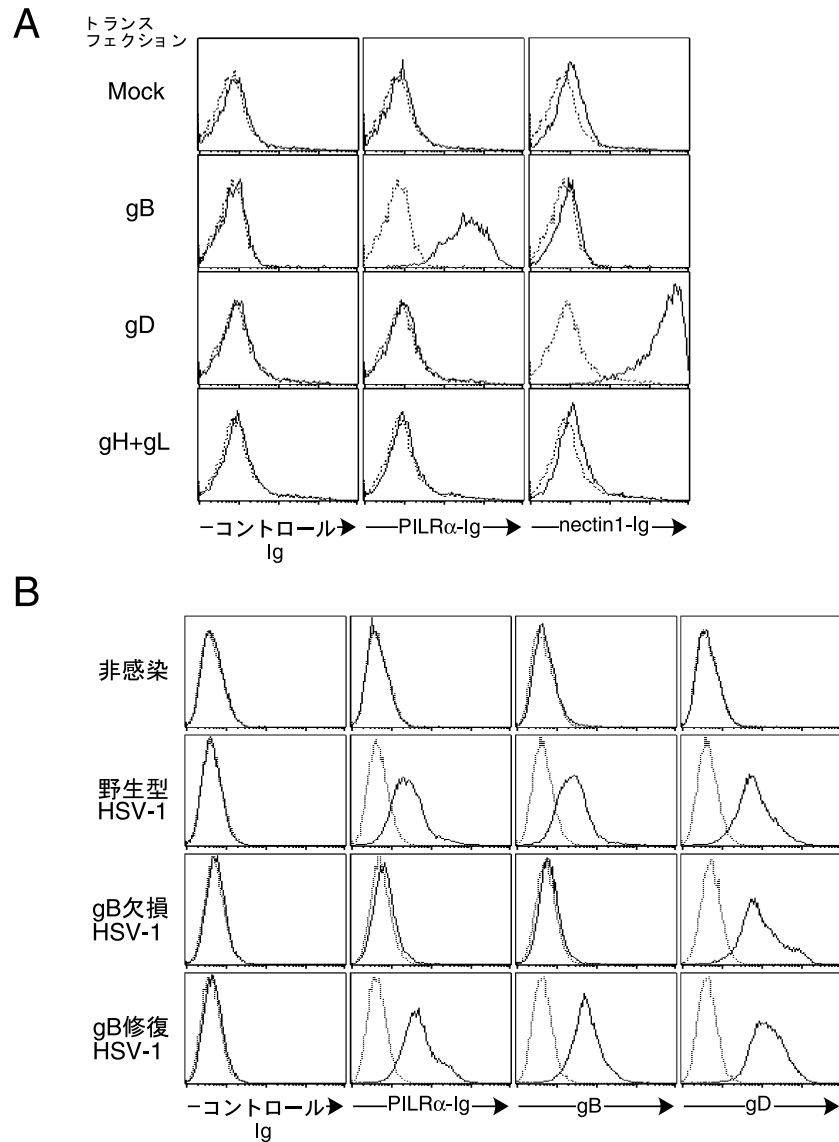


図 3 PILRα は gB を特異的に認識する

- (A) PILRα の gB に対する特異的な結合. 細胞表面に効率的に発現するように C 末端側 40 アミノ酸を欠損させた gB, または gD, gH/gL をそれぞれ GFP と共に 293T 細胞にトランスフェクションし, コントロール Ig (CD200-Ig), PILRα-Ig, nectin1-Ig (実線) および, 二次抗体のみで染色し (点線) フローサイトメトリーで解析した. GFP 陽性細胞におけるこれらの Ig 融合タンパク質の染色パターンを図示した.
- (B) gB 欠損 HSV-1 感染細胞は PILRα-Ig に認識されない. 非感染 293T 細胞, 野生型, gB 欠損, gB 修復 HSV-1 感染 293T 細胞をコントロール Ig (CD200-Ig), PILRα-Ig (実線) および, 二次抗体のみ (点線) で染色した.

染色を行った. すると, PILRα-Ig は, gB トランスフェクタントに対してのみ結合が認められ, gD, gH/gL トランスフェクタントでは結合が認められなかった. 一方, nectin-Ig は, gD トランスフェクタントに対する結合は認められたが, その他のトランスフェクタントに対して結合は認められなかった (図 3A). これにより, PILRα は, 実際に細胞表面上に存在する gB を認識することが証明された.

さらに我々は, gB 欠損ウイルスを作製し, このウイルスの感染細胞に対して PILRα-Ig の染色を行った. gB は細胞への感染に必須なエンベロップタンパク質であるため, gB 欠損ウイルスは細胞に感染できなくなる. しかし, HSV-1 感染により gB の発現が誘導されるような細胞でウイルスを産生させると, ウイルスゲノム上では gB 遺伝子が欠損しているが, エンベロップ上に gB を持つウイルスを作製することができ, このウイルスは, 一度だけ細胞に

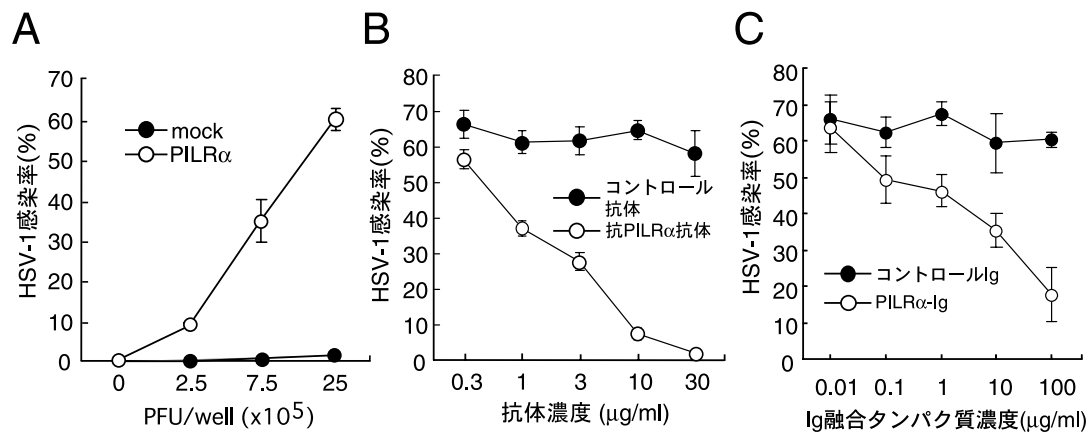


図4 CHO-K1 PILR α トランスフェクタントに対する HSV-1 感染
(A) CHO-K1 細胞に PILR α 遺伝子を含む pMXs-IRES-DsRed を一過性にトランスフェクションした後、GFP をコードする HSV-1 (HSV-1-GFP) を感染させた。DsRed 陽性細胞 (PILR α 陽性) 中の GFP 陽性細胞 (HSV-1 感染細胞) の割合をフローサイトメトリーで解析した。
(B) 抗 PILR α 抗体による HSV-1 感染阻害。PILR α を一過性に発現させた CHO-K1 細胞に、抗 PILR α 抗体、コントロール抗体存在下で HSV-1-GFP を感染させ、HSV-1 感染細胞の割合を測定した。PFU: plaque-forming unit.
(C) PILR α -Ig による HSV-1 感染阻害。PILR α を一過性に発現させた CHO-K1 細胞に、PILR α -Ig、コントロール Ig 存在下で HSV-1-GFP を感染させ、HSV-1 感染細胞の割合を測定した。

感染することができる。このウイルスを 293T 細胞に感染させると、細胞表面上の gB の発現が欠失しており、PILR α -Ig の結合も認められなかった。一方、この gB 欠損ウイルスに gB 遺伝子に戻した gB 修復ウイルスを感染させた細胞では、細胞表面上での gB の発現および PILR α -Ig による結合の回復が認められた (図 3B)。以上より、PILR α が gB に特異的に会合することが明らかとなった。

5. PILR α トランスフェクタントは HSV-1 感染感受性になる

gB は、すべてのヘルペスウイルス属において保存されており、また、HSV-1 の感染に必須なエンベロープタンパク質である。gB レセプターの存在の可能性については、これまで示唆されてきたが、細胞表面のどのような分子と会合するのか現在まで明らかになっていなかった。上記のように、PILR α が gB と会合することから、PILR α は gB と会合することにより HSV-1 の感染時の膜融合に関与している可能性が考えられた。そこで、HSV-1 に感染抵抗性である CHO-K1 細胞に PILR α を遺伝子導入し、HSV-1 の感染性を解析した。その結果、mock トランスフェクタントでは、HSV-1 の感染が認められないのに対し、PILR α トランスフェクタントは HSV-1 に感染することが明らかになった (図 4A)。この結果より、PILR α の発現が HSV-1 の感染性に関与している可能性が示唆された。また、HSV-1 感染時に PILR α と gB の結合を阻害する抗 PILR α モノクローナル抗体や、PILR α -Ig を添加すると、PILR α 発現細胞に対する HSV-1 の感染が阻害された (図 4B, C)。以上

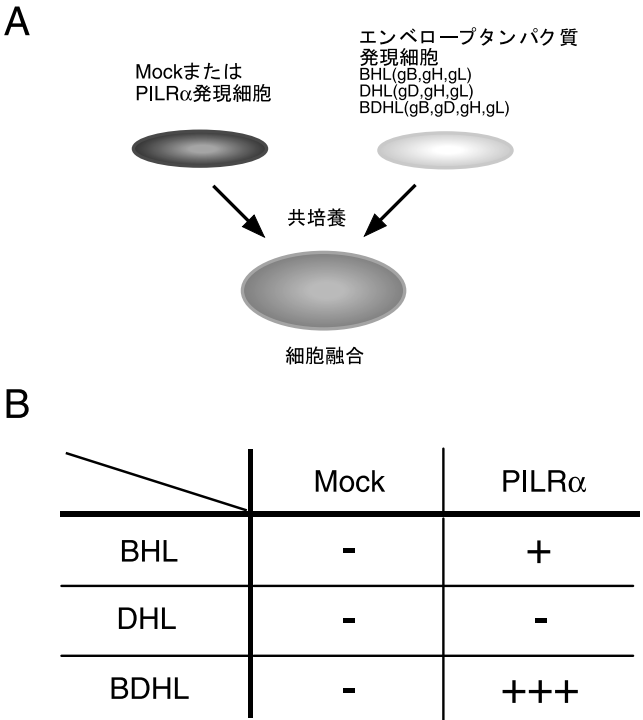


図5 gB-PILR α の相互作用を介した細胞融合
HSV-1 のエンベロープタンパク質を発現させた細胞と PILR α を発現させた細胞を共培養し、細胞融合実験を行った。gB, gD, gH, gL (BDHL), gB, gH, gL (BHL), gD, gH, gL (DHL) をトランスフェクションした CHO-K1 細胞と、mock または PILR α をトランスフェクションした CHO-K1 細胞を共培養し、8 時間後、細胞融合の様子を顕微鏡で観察した(A)。mock トランスフェクタントとエンベロープタンパク質発現細胞は、細胞融合が認められなかった。一方、PILR α 発現細胞は、BHL 発現細胞とわずかながら細胞融合が認められ、BDHL 発現細胞とは、高頻度で細胞融合が認められた(B)。

より, PILR α 発現細胞に対する HSV-1 の感染には PILR α と gB の会合が重要であることが明らかになった。

6. PILR α -gB の会合は膜融合に関与している

gB は, gH, gL と共に細胞膜とウイルスエンベロープの膜癒合を引き起こす機構を担っている。そこで, PILR α と gB との会合が, 膜融合に関与しているかどうか明らかにするため, 細胞融合実験を行った。CHO-K1 細胞に HSV-1 の gB, gD, gH, gL を発現させた細胞と, PILR α を発現させた細胞を共培養し, これらの細胞同士の膜融合の様子を顕微鏡により観察した (図 5A)。その結果, かなりの数の融合細胞が認められた (図 5B)。一方, gB, gD, gH, gL を発現する細胞と, PILR α を発現していない mock 細胞では細胞の融合は認められなかった³²⁾ (図 5B)。以上より, PILR α と gB の会合は HSV-1 感染の際の細胞膜とウイルスのエンベロープとの膜融合に関わっていることが判明した。

7. 単球への感染においても gB と PILR α の会合が必須である

次に, PILR α を発現している正常細胞においても PILR α が, HSV-1 感染に関与しているかどうかを明らかにするため, 末梢血単核球細胞 (PBMC) を用い HSV-1 感染実験を行った。PBMC では, PILR α の発現は, CD14 陽性細胞の単球に認められるが, CD14 陰性のリンパ球には認められない。一方, gD の受容体である HVEM は, CD14 陽性細胞, 陰性細胞ともに同程度に発現していた (図 6A)。そこで, PBMC を CD14 陽性, 陰性細胞に分離し, それぞれの細胞に HSV-1 を感染させると, HVEM のみを発現している CD14 陰性細胞では HSV-1 の感染が認められないのに対し, PILR α および HVEM を発現する CD14 陽性細胞では, HSV-1 の感染が認められた (図 6B)。さらに, 感染時に抗 PILR α 抗体, もしくは, 抗 HVEM 抗体を加えると, HSV-1 感染が顕著に阻害された (図 6C)。以上より, 正常細胞の HSV-1 の感染においても PILR α が重要な役割を担っていることが明らかになった。特に, HSV-1 の感染には gB および gD それぞれが細胞表面の受

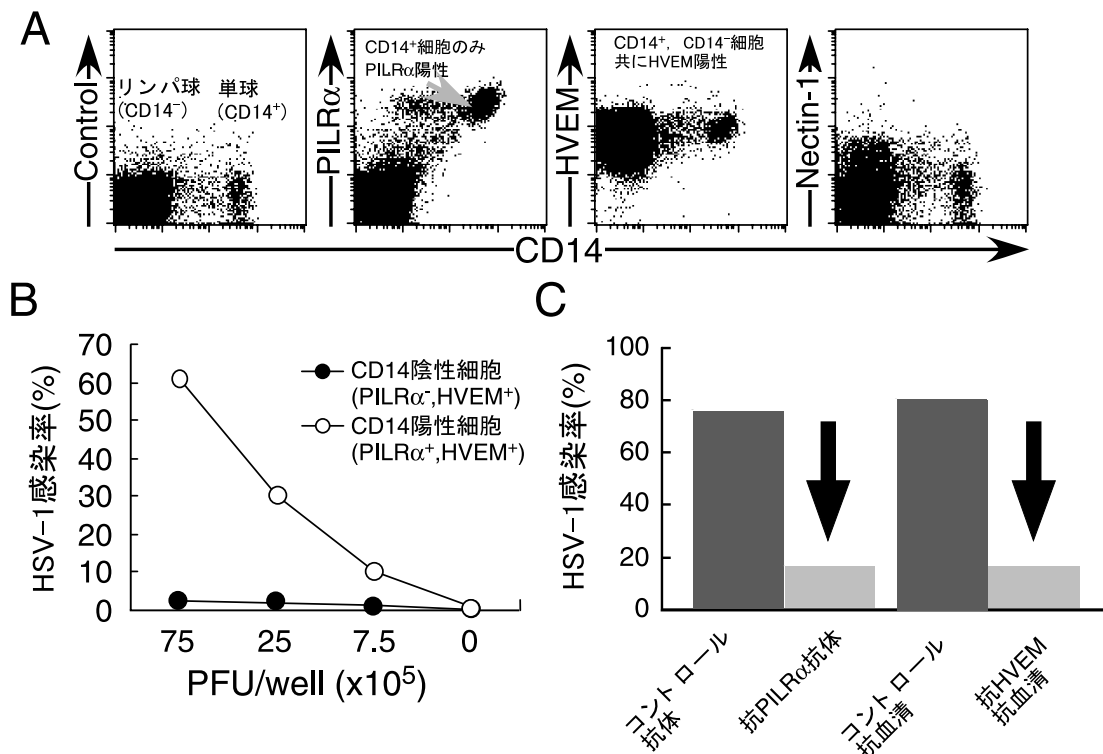


図6 正常細胞に対する PILR α を介した HSV-1 感染

- (A) ヒト PBMC における PILR α , HVEM, nectin-1 の発現。PBMC を抗 CD14 抗体 (横軸) と共に, 抗 PILR α 抗体, 抗 HVEM 抗体または抗 nectin-1 抗体 (縦軸) と 2 重染色し, フローサイトメトリーで解析した。
- (B) CD14 陽性細胞への HSV-1 の感染。PBMC を CD14 陰性と CD14 陽性細胞に分離し, HSV-1-GFP を感染させた。GFP 陽性細胞 (HSV-1 感染細胞) の割合をフローサイトメトリーで解析した。
- (C) 抗 PILR α 抗体, 抗 HVEM 抗血清による HSV-1 感染阻害。抗 PILR α 抗体 (10 μ g/ml), 抗 HVEM 抗血清 (100 倍希釈) 存在下で, CD14 陽性細胞に HSV-1-GFP を感染させ, 感染細胞の割合を測定した。

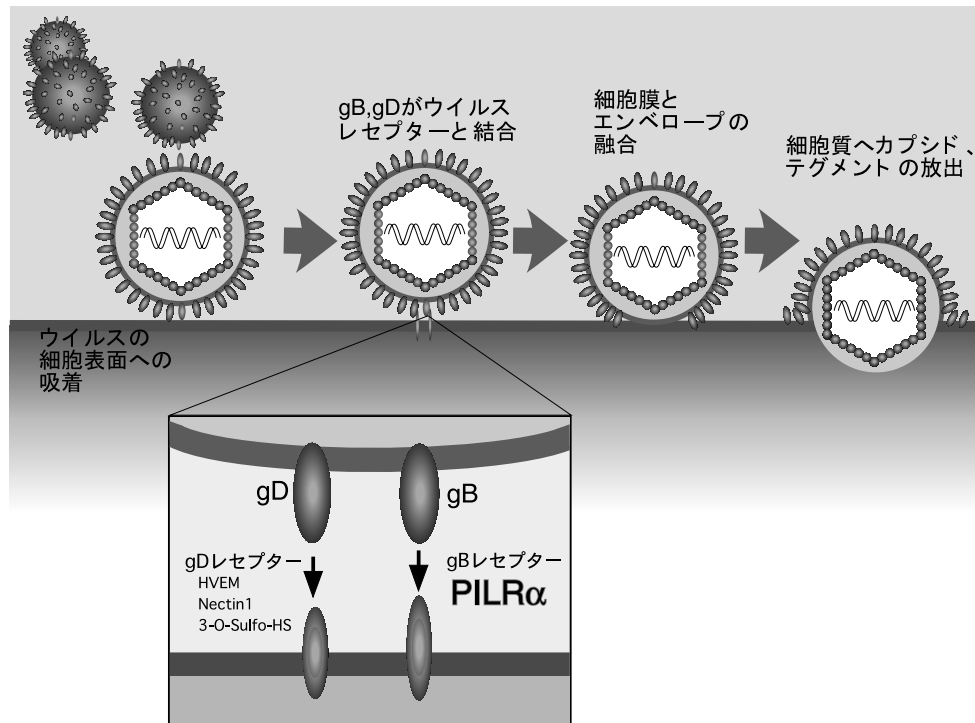


図7 HSV-1の細胞への感染機構

これまで、gDとウイルス受容体(HVEM, nectin-1, 3-O-硫酸化ヘパラン硫酸)の会合のみが細胞への感染に必須であると考えられてきたが、本研究により、gB, gDがそれぞれの受容体と会合することがHSV-1感染の成立に重要であることが明らかになった。

容体に結合することが必須であることが明らかになった(図7)。

8. おわりに

以上のように、今までは、HSV-1の感染にはgDのレセプターのみが重要な機能を担っていると考えられてきたが、我々の研究により、gDのレセプターのみでは十分でなく、gBが細胞表面上の特異的なレセプターと会合することがHSV-1の感染に重要であることが初めて明らかになった。現在、HSV-1感染症の治療にはアシクロビルが多用されているが、アシクロビルは感染細胞に殺傷的に作用するため、感染そのものを阻害することはできない。特に神経組織等の再生能が無い組織での感染では、感染の広がりを迅速に阻害することが予後をよくする上で重要と思われる。PILRαとgBの相互作用を阻害することによりHSV-1の感染そのものを阻害することができるため、PILRαとgBの相互作用を阻害するような薬剤は、アシクロビルとは異なる作用機序を持つ抗ウイルス薬として有効であると考えられる。

文 献

- 1) Yokoyama, W.M. & Plougastel, B.F. (2003) *Nat. Rev. Immunol.*, 3, 304-316.
- 2) Mistry, A.R. & O'Callaghan, C.A. (2007) *Immunology*, 121, 439-447.
- 3) Wu, J., Song, Y., Bakker, A.B., Bauer, S., Spies, T., Lanier, L.L., & Phillips, J.H. (1999) *Science*, 285, 730-732.
- 4) Gilfillan, S., Ho, E.L., Cella, M., Yokoyama, W.M., & Colonna, M. (2002) *Nat. Immunol.*, 3, 1150-1155.
- 5) Giorda, R., Rudert, W.A., Vavassori, C., Chambers, W.H., Hiserodt, J.C., & Trucco, M. (1990) *Science*, 249, 1298-1300.
- 6) Iizuka, K., Naidenko, O.V., Plougastel, B.F., Fremont, D.H., & Yokoyama, W.M. (2003) *Nat. Immunol.*, 4, 801-807.
- 7) Oldenborg, P.A., Zheleznyak, A., Fang, Y.F., Lagenaur, C.F., Gresham, H.D., & Lindberg, F.P. (2000) *Science*, 288, 2051-2054.
- 8) Blery, M., Kubagawa, H., Chen, C.C., Vely, F., Cooper, M.D., & Vivier, E. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 2446-2451.
- 9) Cosman, D., Fanger, N., Borges, L., Kubin, M., Chin, W., Peterson, L., & Hsu, M.L. (1997) *Immunity*, 7, 273-282.
- 10) Yotsumoto, K., Okoshi, Y., Shibuya, K., Yamazaki, S., Tahara-Hanaoka, S., Honda, S., Osawa, M., Kuroiwa, A., Matsuda, Y., Tenen, D.G., Iwama, A., Nakauchi, H., & Shibuya, A. (2003) *J. Exp. Med.*, 198, 223-233.
- 11) Kanazawa, N., Tashiro, K., Inaba, K., & Miyachi, Y. (2003) *J. Biol. Chem.*, 278, 32645-32652.
- 12) Gorczynski, R., Chen, Z., Kai, Y., Lee, L., Wong, S., & Marsden, P.A. (2004) *J. Immunol.*, 172, 7744-7749.
- 13) Shiratori, I., Ogasawara, K., Saito, T., Lanier, L.L., & Arase, H. (2004) *J. Exp. Med.*, 199, 525-533.
- 14) Wright, G.J., Cherwinski, H., Foster-Cuevas, M., Brooke, G.,

- Puklavec, M.J., Bigler, M., Song, Y., Jenmalm, M., Gorman, D., McClanahan, T., Liu, M.R., Brown, M.H., Sedgwick, J.D., Phillips, J. H., & Barclay, A.N. (2003) *J. Immunol.*, **171**, 3034–3046.
- 15) Whitley, R.J. & Roizman, B. (2001) *Lancet*, **357**, 1513–1518.
- 16) Spear, P.G. (2004) *Cell. Microbiol.*, **6**, 401–410.
- 17) Spear, P.G., Eisenberg, R.J., & Cohen, G.H. (2000) *Virology*, **275**, 1–8.
- 18) Montgomery, R.I., Warner, M.S., Lum, B.J., & Spear, P.G. (1996) *Cell*, **87**, 427–436.
- 19) Geraghty, R.J., Krummenacher, C., Cohen, G.H., Eisenberg, R. J., & Spear, P.G. (1998) *Science*, **280**, 1618–1620.
- 20) Warner, M.S., Geraghty, R.J., Martinez, W.M., Montgomery, R.I., Whitbeck, J.C., Xu, R., Eisenberg, R.J., Cohen, G.H., & Spear, P.G. (1998) *Virology*, **246**, 179–189.
- 21) 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.
- 22) Krummenacher, C., Supekar, V.M., Whitbeck, J.C., Lazear, E., Connolly, S.A., Eisenberg, R.J., Cohen, G.H., Wiley, D.C., & Carfi, A. (2005) *EMBO J.*, **24**, 4144–4153.
- 23) Cai, W.H., Gu, B., & Person, S. (1988) *J. Virol.*, **62**, 2596–2604.
- 24) Forrester, A., Farrell, H., Wilkinson, G., Kaye, J., Davis-Poynter, N., & Minson, T. (1992) *J. Virol.*, **66**, 341–348.
- 25) Turner, A., Bruun, B., Minson, T., & Browne, H. (1998) *J. Virol.*, **72**, 873–875.
- 26) Gianni, T., Martelli, P.L., Casadio, R., & Campadelli-Fiume, G. (2005) *J. Virol.*, **79**, 2931–2940.
- 27) Heldwein, E.E., Lou, H., Bender, F.C., Cohen, G.H., Eisenberg, R.J., & Harrison, S.C. (2006) *Science*, **313**, 217–220.
- 28) Herold, B.C., Visalli, R.J., Susmarski, N., Brandt, C.R., & Spear, P.G. (1994) *J. Gen. Virol.*, **75**, 1211–1222.
- 29) Banfield, B.W., Leduc, Y., Esford, L., Schubert, K., & Tufaro, F. (1995) *J. Virol.*, **69**, 3290–3298.
- 30) Laquerre, S., Argnani, R., Anderson, D.B., Zucchini, S., Manservigi, R., & Glorioso, J.C. (1998) *J. Virol.*, **72**, 6119–6130.
- 31) Bender, F.C., Whitbeck, J.C., Lou, H., Cohen, G.H., & Eisenberg, R.J. (2005) *J. Virol.*, **79**, 11588–11597.
- 32) Satoh, T., Arai, 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.
- 33) Arase, H., Mocarski, E.S., Campbell, A.E., Hill, A.B., & Lanier, L.L. (2002) *Science*, **296**, 1323–1326.
- 34) Arase, H. & Lanier, L.L. (2004) *Rev. Med. Virol.*, **14**, 83–93.
- 35) Fournier, N., Chalus, L., Durand, I., Garcia, E., Pin, J.J., Churakova, T., Patel, S., Zlot, C., Gorman, D., Zurawski, S., Abrams, J., Bates, E.E., & Garrone, P. (2000) *J. Immunol.*, **165**, 1197–1209.
- 36) Mousseau, D.D., Banville, D., L'Abbe, D., Bouchard, P., & Shen, S.H. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 4467–4474.
- 37) Wilson, M.D., Cheung, J., Martindale, D.W., Scherer, S.W., & Koop, B.F. (2006) *Physiol. Genomics*, **27**, 201–218.
-