

研究助成 2020 – 感染症領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	東京大学医科学研究所
氏 名	加藤 哲久
研 究 テーマ	単純ヘルペスウイルス・ワクチン次世代プラットフォームの開発

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
 （図表、写真などの貼付を含む）

[背景・目的]

単純ヘルペスウイルス(HSV)は代表的な DNA ウイルスであり、ヒトに脳炎、性器ヘルペス、眼疾患、新生児ヘルペスなど、多様な病態を引き起こす。抗 HSV 剤が開発された今日においても、脳炎患者の 70%は社会復帰できないか死亡する。また、性感染症としても HSV の重要性は高く、日本国内の女性における性感染症報告数はクラミジアに続く第 2 位である。性器ヘルペスは、他の性感染症と異なり現状では根治が不可能であり、患者は「水平感染や垂直感染の不安」といった精神的苦痛と直面している。

この様な背景から、申請者の所属する研究室では、独自に開発した簡便かつ敏速な HSV ゲノム編集法である BAC システムを駆使し、HSV ゲノムを人工的に改変することで、理想的な HSV 生ワクチン株のプラットフォームの作出を試みている。本研究では、リン酸化制御機構を突破口に HSV 核酸代謝酵素における制御機構を解明し、さらには、図 1 に示す一連の研究の(ii)に該当する中枢神経系組織(主に、脳)(CNS)において、特異的にウイルス増殖を低下させる変異導入部位を探索し、HSV ワクチンの開発に目掛けた基礎知見の収集を試みた。

[研究手法]

リン酸化プロテオーム解析：HSV 蛋白質のリン酸化部位情報を得るため、可溶性 HSV 感染細胞を、トリプシン消化後、二酸化チタンカラム用い、リン酸化ペプチドを濃縮し、NanoLC-ESI-MS/MS 解析に供した。

分子動力学(MD)解析：HSV 蛋白質の X 線結晶構造情報を鋳型として、リン酸化時のアミノ酸側鎖のフレキシビリティを探索することで、リン酸化プロテオーム情報より、機能的なリン酸化部位を探索した。

HSV ゲノム編集法(BAC システム)：大腸菌内に保持された HSV-1 ゲノムを、two-step RED recombination 法により変異導入後、RSC 細胞に導入することで、部位特異的変異ウイルスを作出した。

HSV 病態発現モデル：ICR や B6 マウスに、作出した組換えウイルスを、角膜感染(3×10^6 PFU/eye)あるいは脳内接種(3000PFU/head)することで、生体レベルにおける組換えウイルスの病態発現能を評価した。

[研究成果・今後の課題]

本研究により、CNS におけるウイルス増殖を特異的に低下させるさらなる変異導入部位が明らかとなった。今後は、報告済みの vdUTPase-S187A 変異との併用時の安全性と弱生ワクチンとしてのポテンシャル等を評価する必要があり、現在、申請者らによって遂行中である。また、HSV 脳炎を強力に阻害する内因性免疫の一端も明らかになった。免疫チェックポイント阻害剤の成功事例を鑑みると、従来のウイルス蛋白質を標的とした阻害機構とは全く異なり、宿主の内因性免疫を活性化することで、HSV 脳炎を抑制するという Proof of concept が得られた点は、次世代の HSV 脳炎の治療戦略の立案上、極めて重要であると考えられる。

研究助成 2020 – 感染症領域 –
研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

所	属	東京大学医科学研究所
氏	名	加藤 哲久

1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 ● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引く。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 	
1	F. Maeda, <u>A. Kato</u> , K. Takeshima, M. Shibasaki, R. Sato, T. Shibata, K. Miyake, H. Kozuka-Hata, M. Oyama, E. Shimizu, S. Imoto, S. Miyano, S. Adachi, T. Natsume, K. Takeuchi, Y. Maruzuru, N. Koyanagi, J. Arii, Y. Kawaguchi. Role of the orphan transporter SLC35E1 in the nuclear egress of herpes simplex virus 1. <i>J. Virol.</i> 96: e00306-22, 2022. 査読あり
2	J. Arii, K. Takeshima, Y. Maruzuru, N. Koyanagi, Y. Nakayama, <u>A. Kato</u> , Y. Mori and Y. Kawaguchi. 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. <i>J. Virol.</i> 96: e01704-21. 査読あり
3	加藤哲久 、川口寧「単純ヘルペスウイルスの神経病原性制御機構」、 NEUROINFECTION 、第 27 巻 p38-44, 2022. 査読なし
4	M. Watanabe, J. Arii, K. Takeshima, A. Fukui, M. Shimojima, H. Kozuka-Hata, M. Oyama, T. Minamitani, T. Yasui, Y. Kubota, M. Takekawa, I. Kosugi, Y. Maruzuru, N. Koyanagi, <u>A. Kato</u> , Y. Mori, and Y. Kawaguchi. Prohibitin-1 contributes to the cell-to-cell transmission of herpes simplex virus 1 via the MAPK/ERK signaling pathway. <i>J. Virol.</i> 95: e01413-20, 2021. 査読あり
5	Y. Maruzuru, N. Koyanagi, <u>A. Kato</u> , and Y. Kawaguchi. Role of the DNA binding activity of herpes simplex virus 1 VP22 in evading AIM2-dependent inflammasome activation induced by the virus. <i>J. Virol.</i> 95: e02172-20, 2021. 査読あり
6	加藤哲久 、川口寧「非標準的ウイルス遺伝子解読法による新規ヘルペス脳炎制御因子の同定」、 ウイルス 、第 70 巻 p185-190, 2020. 査読なし
7	K. Takeshima, Y. Maruzuru, N. Koyanagi, <u>A. Kato</u> , Y. Kawaguchi. Redundant and specific roles of A-type lamins and lamin B receptor in herpes simplex virus 1 infection. <i>J. Virol.</i> 96: e0142922, 2022. 査読あり

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ● 国内外を問わない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2022年7月23日	第35回ヘルペスウイルス研究会、「HSV-1 非標準的遺伝子のさらなる解読と新規 virion 構成因子 UL31.6 の性状解析」、 加藤哲久 、岩崎亮二、竹島功高、中山佳尚、淡中崇徳、丸鶴雄平、小柳直人、川野秀一、
2	2022年7月23日	第35回ヘルペスウイルス研究会、「HSV-1 遺伝子発現量を指標とした子孫ウイルス産生量の定量的解析」、 野邊萌香、丸鶴雄平、竹島功高、小柳直人、 加藤哲久 、川口寧
3	2022年7月23日	第35回ヘルペスウイルス研究会、「HSV-1 感染細胞におけるウイルス遺伝子発現不均一性の解析」、 丸鶴雄平、竹島功高、小柳直人、 加藤哲久 、鈴木稔、川口寧
4	2022年7月23日	第35回ヘルペスウイルス研究会、「単純ヘルペスウイルス1型エンベロープタンパク質における糖鎖修飾の機能解析」、 福井文望、丸鶴雄平、野邊萌香、岩田修治、小柳直人、竹島功高、 加藤哲久 、川口寧
5	2022年7月23日	第35回ヘルペスウイルス研究会、「Lamin A/C は単純ヘルペスウイルス1型のウイルス増殖を制御する」、 竹島功高、岩田修二、江藤由佳、有井潤、丸鶴雄平、小柳直人、 加藤哲久 、川口寧
6	2022年7月23日	第35回ヘルペスウイルス研究会、「HSV-1 De-envelopment におけるトランスポーター SLC35E1 の役割」 前田史雄、 加藤哲久 、竹島功高、柴崎美里、丸鶴雄平、小柳直人、有井潤、川口寧
7	2021年11月16日	第68回日本ウイルス学会学術集会、「ケミカル・プロテオミクス解析を駆使した単純ヘルペスウイルス1型がコードする新規神経病原性因子の同定」 加藤哲久 、足達俊吾、川野秀一、夏目徹、川口寧
8	2021年10月1日	第25回日本神経感染症学会総会、「単純ヘルペスウイルスの神経病原性制御機構」 加藤哲久 、川口寧（招待公演）
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		