

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	新しい抗ウイルス戦略構築をめざしたヘルペスウイルス感染機構の解析
研究機関・ 部局・職名	東京大学・医科学研究所・教授
氏名	川口 寧

1. 当該年度の研究目的

単純ヘルペスウイルス (HSV) ウイルス粒子成熟過程およびウイルスプロテインキナーゼ (PK) の機能発現機構の解明では、HSV リアルタイムイメージング系を改良し、プロテインチップおよびプロテオーム解析による HSV PK 基質の網羅的同定を試みる。HSV ワクチンの開発では、ワクチン候補変異 HSV を作製し、そのワクチン能、免疫惹起能を解析する。HSV 感染防御剤開発に向けてのウイルス侵入機構の解明では、HSV 侵入時における HSV 新規受容体非筋肉ミオシン II 重鎖 (NMHC-II) の制御機構および HSV と NMHC-II の結合様式を解析する。

2. 研究の実施状況

- (i) HSV PK の 1 つである Us3 の新規基質として、UL47 を同定した。また、UL47 内における Us3 リン酸化部位として、77 番目のスレオニン(Ser-77)を同定した。UL47 Ser-77 に各種変異を導入した組み換えウイルスを作製して、感染細胞および生体内における本リン酸化反応の意義を解析した。その結果、Us3 による UL47 Ser-77 のリン酸化が、感染細胞における UL47 の適切な核内移行に必須であることが明らかになった。さらに、Us3 による UL47 Ser-77 のリン酸化がマウモデルにおける病態発現に重要であることが明らかになった。本知見は HSV の病態発現の分子機構の 1 つが、1 アミノ酸のリン酸化反応によって制御されていることを明らかにした知見であり、ウイルス学で権威ある国際学術誌 'Journal of Virology' に掲載された。
- (ii) HSV 感染細胞のリン酸化プロテオーム解析を行い、HSV 感染細胞内でのリン酸化蛋白質およびそのリン酸化部位の網羅的同定を完了した。さらに、HSV PK である Us3 または UL13 変異ウイルスを用いた定量的リン酸化プロテオーム解析に着手し、Us3 および UL13 の特異基質の網羅的同定を試みている。
- (iii) HSV のウイルス粒子構成因子である VP22 が感染細胞において、様々なウイルス因子および宿主細胞因子の適切な核外移行に必須であることを明らかにした。また、VP22 の本機能に必要な VP22 の最小ドメインを 2 アミノ酸まで同定した。興味深いことに、同定した 2 アミノ酸に変異を導入した組み換えウイルスは、マウスモデルにおける神経病原性が著しく低下しており、今回明らかになった VP22 の新規機能がウイルスの神経病原性に大きな役割を果たしていることが明らかになった。本知見は、'Journal of Virology' への掲載が受理された。この弱毒組み換えウイルスは、HSV ワクチン候補株として今後さらに解析する予定である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計11件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計4件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. A. Kato, Z. Liu, A. Minowa, T. Imai, M. Tanaka, K. Sugimoto, Y. Nishiyama, J. Arai, and <u>Y. Kawaguchi</u>. (2011) Herpes Simplex Virus 1 Protein Kinase Us3 and Major Tegument Protein UL47 Reciprocally Regulate Their Subcellular Localization in Infected Cells. J. Virol. 85: 9599-9613. 2. T. Imai, J. Arai, A. Minowa, A. Kakimoto, N. Koyanagi, A. Kato and <u>Y. Kawaguchi</u>. Role of the Herpes Simplex Virus 1 Us3 Kinase Phosphorylation Site and Endocytosis Motifs in Envelope Glycoprotein B in Its Intracellular Transport and Neurovirulence. J. Virol. 85: 5003-5015. 3. P. Gee, Y. Ando, H. Kitayama, S. Yamamoto, Y. Kanemura, H. Ebina, <u>Y. Kawaguchi</u> and Y. Koyanagi. (2011) APOBEC1-mediated editing and attenuation of HSV-1 DNA implicates an antiviral role in neurons during encephalitis. J. Virol. 85: 9726-9736. 4. T. W. Wisner, K. Sugimoto, P. Howard, <u>Y. Kawaguchi</u> and D. C. Johnson. (2011) Anterograde transport of herpes simplex virus capsids in neurons by Separate and Married mechanisms. J. Virol. 85: 5919-5928. <p>(掲載済み一査読無し) 計3件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>川口 寧</u> (2011) ヘルペスウイルスの新規受容体 Medical Science Digest 37: 390-392. 2. <u>川口 寧</u> (2011) 非筋肉ミオシン IIA は単純ヘルペスウイルスの機能的受容体である細胞工学 30: 182-183. 3. <u>川口 寧</u> (2011) ヘルペスウイルスの新規受容体を発見 科研費 NEWS 2010 年度 Vol. 4: 15. <p>(未掲載) 計4件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. M. Tanaka, A. Kato, Y. Satoh, T. Ide, K. Sagou, K. Kimura, H. Hasegawa and <u>Y. Kawaguchi</u>. Herpes Simplex Virus 1 VP22 Regulates Translocation of Multiple Viral and Cellular Proteins and Promotes Neurovirulence. J. Virol. (in press) 2. <u>川口 寧</u> ヘルペスウイルスによる病態を科学し、制御する 科学療法の領域 (印刷中) 3. <u>川口 寧</u> ヘルペスウイルスの感染機構 生化学 (印刷中) 4. 加藤哲久、<u>川口 寧</u> ヘルペスウイルスの新規薬剤標的 日本臨床 (印刷中)
<p>会議発表 計27件</p>	<p>専門家向け 計27件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 今井孝彦、小柳直人、加藤哲久、末永忠広、荒瀬尚、<u>川口寧</u> HSV-1感染によるMHC Class I阻害機構の解明-生体内におけるHSV-1感染制御に重要なのはNK細胞か?CTLか? 2011年6月2-4日 第26回ヘルペスウイルス研究会 大阪 2. 小柳直人、今井孝彦、<u>川口 寧</u> HSV-1 UL13の酵素活性依存的機能と非依存的機能 2011年6月2-4日 第26回ヘルペスウイルス研究会 大阪 3. 加藤哲久、尾山大明、秦 裕子、<u>川口 寧</u> リン酸化プロテオミクスによる HSV 感染細胞における蛋白質リン酸化状態の包括的解析とそれに基づく神経特異的 HSV 病原性発現機構の解明 2011年6月2-4日 第26回ヘルペスウイルス研究会 大阪

4. 加藤哲久、尾山 大明、秦 裕子、**川口 寧** リン酸化プロテオミクスによる HSV 感染細胞における蛋白質リン酸化状態の包括的解析とそれに基づく神経特異的 HSV 病原性発現機構の解明 2011年6月4日 第11回 東京大学生命科学シンポジウム 東京 (ポスター)

5. **Yasushi Kawaguchi**. Non-muscle myosin \square A is a functional entry receptor for herpes simplex virus 1. June 9, 2011. the 6th International Symposium of Institute Network. Tokyo, Japan (招待講演)

6. **Yasushi Kawaguchi**. Non-muscle myosin \square A is a functional entry receptor for herpes simplex virus 1. June 20-22, 2011. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Disease. San Francisco, USA (招待講演)

7. A. Kato, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, T. Imai, **Y. Kawaguchi**. Phosphoproteomic Analysis Reveals an HSV-1 Kinase-Mediated Phosphorylation Event Involved Specifically in the Regulation of Viral Neurovirulence. July 24-28, 2011. 36th Annual International Herpesvirus Workshop. Gdansk, Poland

8. A. Kato, Z. Liu, A. Minowa, T. Imai, **Y. Kawaguchi**. HSV-1 Protein Kinase Us3 and Major Tegument Protein UL47 Reciprocally Regulate Their Subcellular Localization in Infected Cells. July 24-28 2011. 36th Annual International Herpesvirus Workshop. Gdansk, Poland (ポスター)

9. **川口 寧** 単純ヘルペスウイルス新規受容体 2011年8月19日 第18回ヘルペス感染症フォーラム 札幌 (招待講演)

10. **川口 寧** 単純ヘルペスウイルス新規受容体 2011年9月3日 第14回北海道ウイルス感染症セミナーの会 札幌 (招待講演)

11. Akihisa Kato, Masaaki Oyama, Hiroko Kozuka-Hata, Takahiko Imai, **Yasushi Kawaguchi**. Phosphoproteomic Analysis Reveals an HSV-1 Kinase-Mediated Phosphorylation Event Involved Specifically in the Regulation of Viral Neurovirulence. September 11-16, 2011. XV International Congress of Virology. Sapporo, Japan

12. Jun Ariei, **Yasushi Kawaguchi**. Non-Muscle Myosin Heavy Chain IIB Associates with Herpes Simplex Virus 1 Envelope glycoprotein B and Mediates Viral Entry. September 11-16, 2011. XV International Congress of Virology. Sapporo, Japan

13. Takahiko Imai, **Yasushi Kawaguchi**. A basis of the development of a novel effective vaccine for herpes simplex virus 1 (HSV-1) infection: HSV-1 evades CD8⁺ T cell-mediated immune response in vivo by a virally encoded protein kinase-mediated down-regulation of MHC class I. September 17-18, 2011. IMSUT/RCAST-Chiba University Global COE Joint Retreat 2011. Oiso, Japan

14. Naoto Koyanagi, **Yasushi Kawaguchi**. A protein kinase UL13 encoded by herpes simplex virus 1 regulates viral pathogenesis in vivo. September 17-18, 2011. IMSUT/RCAST-Chiba University Global COE Joint Retreat 2011. Oiso, Japan (ポスター)
15. **川口 寧** 非筋肉ミオシンIIAは単純ヘルペスウイルスの機能的受容体である
2011年9月21-24日 第84回日本生化学会大会 京都
16. **川口 寧** 単純ヘルペスウイルス新規受容体 2011年10月1日 第15回京磁ヘルペス感染症研究会 京都 (招待講演)
17. **Yasushi Kawaguchi**. Novel functions of HSV-1 Us3 involved in neurovirulence and immune evasion. October 12-15, 2011. 15th International Conference on the Immunobiology and Prophylaxis of Herpesvirus Infections. Venice, Italy (招待講演)
18. 今井孝彦、**川口 寧** HSV-1感染によるMHC Class I阻害機構の解明と新規ワクチン開発への応用 2011年11月7-8日 第8回ウイルス学キャンプ 湯河原
19. 廣畑 吉崇、**川口 寧** 単純ヘルペスウイルスの膜糖タンパク質を介した翻訳調節機構の解明 2011年11月7-8日 第8回ウイルス学キャンプ 湯河原 (ポスター)
20. 丸鶴 雄平、**川口 寧** 単純ヘルペスウイルスの遺伝子発現制御機構の解析 2011年11月7-8日 第8回ウイルス学キャンプ 湯河原 (ポスター)
21. **Yasushi Kawaguchi**. Identification of a Novel Entry Receptor for Herpes Simplex Virus 1. November 15-16, 2011. Singapore-Japan Joint Forum Emerging Concepts in Microbiology. Singapore (招待講演)
22. Akihisa Kato, Masaaki Oyama, Hiroko Kozuka-Hata, Takahiko Imai, **Yasushi Kawaguchi**. Phosphoproteomic Analysis Reveals an HSV-1 Kinase-Mediated Phosphorylation Event Involved Specifically in the Regulation of Viral Neurovirulence. November 21, 2011. The 8th China-Japan Joint Laboratory Workshop: Pathogenesis, Gene Regulation and Signal Transduction. Beijing, China.
23. **川口 寧** 単純ヘルペスウイルスの新しい宿主免疫回避機構 2011年12月5-6日 平成23年度北海道大学遺伝子病制御研究所共同研究集会「感染・免疫・炎症・発癌」札幌 (招待講演)
24. Akihisa Kato, Masaaki Oyama, Hiroko Kozuka-Hata, Takahiko Imai, **Yasushi Kawaguchi**. Phosphoproteomic Analysis Reveals an HSV-1 Kinase-Mediated Phosphorylation Event Involved

様式19 別紙1

	<p>Specifically in the Regulation of Viral Neurovirulence. January 11-12, 2012. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging. Kobe, Japan (ポスター)</p> <p>25. 藤井ひかる、麥谷道生、加藤哲久、<u>川口 寧</u> 単純ヘルペスウイルス1型ヌクレアーゼUL12のリン酸化制御 2012年2月2-4日 感染症若手フォーラム 長崎</p> <p>26. 小柳直人、今井孝彦、<u>川口 寧</u> HSV-1 UL13 プロテインキナーゼの酵素活性非依存的機能はin vivoにおいて本当に重要か? 2012年2月2-4日 感染症若手フォーラム 長崎</p> <p>27. <u>川口 寧</u> ヘルペスウイルスの新しい細胞侵入機構 2012年3月27-29日 第153回日本獣医学会学術集会 さいたま市 (招待講演)</p> <p>一般向け 計0件</p>
図書 計1件	<u>川口 寧</u> (2011) ヘルペスウイルス感染症 pp187-193. 獣医微生物学第3版 見上 彪監修 文英堂出版
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/Kawaguchi-lab/KawaguchiLabTop.html
国民との科学・技術対話の実施状況	2011年4/2~10の間、第28回日本医学会総会の博覧会・学術展示「わが国医学 つくろう! 健康 EXPO 2011」(会場: 東京ビックサイト)の「感染症」領域の展示を分担した。感染症に関する、一般的な知識や情報の提供と、自身の先端研究についての発表を担当した。残念ながら、震災が理由で東京ビックサイトでの博覧会・学術展示は中止となったが、ウェブ&体験博覧会として、科学技術館(6/24~26)、または、 http://ex2011.net (6月下旬~9月末)で展示内容が公表された。
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	133,000,000	33,000,000	0	100,000,000	0
間接経費	39,900,000	9,900,000	0	30,000,000	0
合計	172,900,000	42,900,000	0	130,000,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	31,000,000	0	0	31,000,000	12,989,576	18,010,424	0
間接経費	9,900,000	0	0	9,900,000	4,950,000	4,950,000	0
合計	40,900,000	0	0	40,900,000	17,939,576	22,960,424	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	11,956,578	オートクレーブ、インキュベータ、実験用マウス、実験用試薬等
旅費	110,380	研究打合せ旅費(北海道大学)等
謝金・人件費等	0	
その他	922,618	実験動物研究施設利用料、英語論文校閲料等
直接経費計	12,989,576	
間接経費計	4,950,000	
合計	17,939,576	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
ラボ用オートクレーブ	トミー精工 TM-LSX-500	1	546,000	546,000	2011/4/12	医科学研究所
ユニバーサルCO2 インキュベータ	WY-Thermo 3110	1	766,500	766,500	2011/4/21	医科学研究所
回転培養装置	和研薬 25本掛 け	1	2,400,000	2,400,000	2011/6/30	医科学研究所
微量高速冷却遠心 機	トミー精工 MX- 105	1	500,000	500,000	2011/12/8	医科学研究所
超低温フリーザ	SANYO MDF- U700VX	1	2,184,000	2,184,000	2012/3/1	医科学研究所