

課題番号	LS026
------	-------

**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24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

本年度は、単純ヘルペスウイルス(HSV)の新規免疫回避機構の解析を行い、その変異体のワクチン効果を検討する。また、23年度実施したリン酸化プロテオームで同定された HSV プロテインナーゼ(PK)の新規基質に関して、その生物学的意義と病態への関与を解析する。さらに、ウイルス侵入機構の解析に関して、HSV 侵入時の NMHC-II の制御機構および HSV と NMHC-II との結合様式について、23年度に引き続きさらなる解析を行う。

2. 研究の実施状況

(i) 培養細胞系において、HSV-1 特異的なプロテインキナーゼである Us3 は MHC-I の細胞表面への輸送を Golgi 体以前の段階で阻害し、MHC-I の細胞表面発現量を低下させていた。さらに、HSV-1 感染細胞と HSV-1 特異的 CTL クローンの共培養時、Us3 は CTL の活性化を阻害した。これらの結果は、HSV-1 Us3 が MHC-I の細胞表面発現を抑制し、CTL へのウイルス抗原の提示を阻害することを示唆している。次に、Us3 による MHC-I 阻害の生体レベルでの意義を解析した。マウス感染モデルにおいて、Us3 変異株が誘導する HSV-1 特異的 CTL(cytotoxic T-lymphocyte)数は、Us3 変異復帰株と比較して有意に増加していた。さらに、抗 CD8 α 抗体投与により、CD8⁺ T 細胞を depletion したマウスにおける HSV-1 増殖を解析した。その結果、HSV-1 特異的 CTL が誘導される感染 4 日後において、CD8⁺ T 細胞の depletion は Us3 変異株の増殖を著しく亢進した一方、Us3 変異復帰株の増殖には影響を及ぼさなかった。これらの結果は、Us3 の MHC-I 阻害による CTL 回避が生体内におけるウイルス増殖に重要であることを示唆する。本知見は、MHC-I 阻害による CTL 回避の HSV 感染における意義を生体レベルで初めて明らかにした知見である。さらに、Us3 変異株のワクチン能を検討した。その結果、Us3 変異株は高い安全性とワクチン効果を発揮した。本知見は、Us3 変異株が安全かつ効果的な弱毒生ワクチンとなる可能性を示唆している。今後、Us3 変異株をプラットフォームとして新しい弱毒生ワクチンを開発する予定である。

(ii) リン酸化プロテオーム解析の結果、Us3 が HSV-1 がコードする dUTPase (vdUTPase)をリン酸化し、その酵素活性を活性化することを明らかにした。また、このリン酸化は、マウス動物モデルにおいて HSV-1 の末梢での病態発現には関与しない一方、中枢神経系の病原性発現を特異的に制御していることが明らかとなった。今後、本リン酸化反応がなぜ中枢神経における病原性のみを特異的に制御するかの分子機構を明らかにする予定である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計7件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計1件 M. Tanaka, A. Kato, Y. Satoh, T. Ide, K. Sagou, K. Kimura, H. Hasegawa and Y. Kawaguchi. (2012) Herpes Simplex Virus 1 VP22 Regulates Translocation of Multiple Viral and Cellular Proteins and Promotes Neurovirulence. J. Virol. 86: 5264-5277.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計4件 1. 川口 寧 (2012) ヘルペスウイルスによるリン酸化を介した宿主機能制御 増刊「感染・共生・生体防御システム」実験医学 30: 3202-3208. 2. 川口 寧 (2012) ヘルペスウイルスによる病態を科学し、制御する 化学療法の領域 28: 666-671. 3. 川口 寧 (2012) ヘルペスウイルスの感染機構 生化学 84: 343-351. 4. 加藤哲久、川口 寧 (2012) ヘルペスウイルスの新規薬剤標的 日本臨床 70: 699-694.</p> <p>(未掲載) 計2件 1. Y. Kawaguchi. Us3, a Multi-Functional Protein kinase Encoded by Herpes Simplex Virus 1:How does it Function <i>In Vivo</i>? Cornea (in press) 2. V. L. Sage, M. Jung, J. D. Alter, E. G. Wills, S. M. Johnston, Y. Kawaguchi, J. D. Baines and B. W. Banfield. The Herpes Simplex Virus Type 2 UL21 Protein is Essential for Virus Propagation. J. Virol. (in press)</p>
<p>会議発表 計27件</p>	<p>専門家向け 計27件 1. 川口 寧 ヘルペスウイルスの感染・病態発現の分子構造 2012年4月14日 第8回肝免疫・ウイルス・フロンティア「肝疾患研究の新潮流 東京 (招待講演) 2. Y. Kawaguchi. Molecular basis of Herpesvirus Infection. June 1, 2012. 39th IMSUT Founding Commemorative Symposium. Tokyo, Japan (招待講演) 3. 川口 寧 単純ヘルペスウイルスの神経特異的病原性のメカニズム 2012年6月18日 平成24年度遺伝子病制御研究所研究集会感染・免疫・炎症・発癌 札幌 (招待講演) 4. 川口 寧 単純ヘルペスウイルスの感染・病態発現の分子基盤 2012年7月22日 日本ウイルス学会北海道支部第46回夏季シンポジウム 北海道伊達市 (招待講演) 5. 川口 寧 単純ヘルペスウイルスの感染・病態発現の分子基盤 2012年8月24日 第24回高遠・分子細胞生物学シンポジウム 長野県伊那市 (招待講演) 6. Y. Kawaguchi. Molecular basis of herpes simplex virus infection. October 22, 2012. IEIS2012 Homeostatic Inflammation Satellite Symposium. Tokyo, Japan (招待講演) 7. Y. Kawaguchi. Evasion of CD8+ T cells mediated by a kinase encoded by herpes simplex virus 1 (HSV-1) and its potential prophylactic application to the development of a novel vaccine platform against HSV-1 infection. 2012年11月17日 第16回日本ワクチン学会学術集会 横浜 (招待講演) 8. Y. Kawaguchi. Molecular Basis of Herpesvirus Infection. 2012年12月8日 the 18th Annual Meeting of the Kyoto Cornea Club. Kyoto, Japan (招待講演) 9. Y. Kawaguchi. A mechanism of immune evasion by herpes simplex virus (HSV) and its potential prophylactic application to the development of a novel vaccine platform against HSV infection. 2013年1月29日 The 1st Symposium of International Immunological Memory and Vaccine Forum (IIMVF), The 12th International Workshop of Chiba University Global COE</p>

Program. Tokyo, Japan (招待講演)

10. **Y. Kawaguchi**. Molecular Basis of the Herpesvirus Infection. 2013年3月7日 3rd Joint Symposium of the Max Planck Society and the University of Tokyo, Graduate School of Medicine. Tokyo, Japan (招待講演)
11. Takahiko Imai, Naoto Koyanagi, Akihisa Kato, and **Y. Kawaguchi**. Evasion of CD8+ T cells Mediated by HSV-1 Us3 Kinase Contributes to Viral Replication In Vivo. 37th Annual International Herpesvirus Workshop. August 8, 2012. Calgary, Canada
12. Hikaru Fujii, Michio Mugitani, Akihisa Kato, **Y. Kawaguchi**. The HSV-1 alkaline nuclease UL12 is functionally regulated by phosphorylation. 37th Annual International Herpesvirus Workshop. August 6, 2012. Calgary, Canada
13. Naoto Koyanagi, Takahiko Imai, Akihisa Kato, **Y. Kawaguchi**. Roles of HSV-1 UL13 in viral replication and pathogenesis in vivo. 37th Annual International Herpesvirus Workshop. August 8, 2012. Calgary, Canada
14. Yuhei Maruzuru, Yoshitaka Hirohata, Akihisa Kato, **Y. Kawaguchi**. Roles of p53 in HSV-1 replication. 37th Annual International Herpesvirus Workshop. August 7, 2012. Calgary, Canada
15. Takahiko Imai, Naoto Koyanagi, Akihisa Kato, and **Y. Kawaguchi**. Evasion of CD8+ T cells Mediated by HSV-1 Us3 Kinase Contributes to Viral Replication In Vivo. 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, September 13, 2012. Awaji City, Japan.
16. Akihisa Kato, Yoshitaka Hirohata, **Y. Kawaguchi**. The catalytic activity of HSV-1 dUTPase and its regulation are specifically required for efficient viral replication and pathogenicity in the brain. 37th Annual International Herpesvirus Workshop. August 7, 2012. August 7, 2012. Calgary, Canada
17. Hikaru Fujii, Michio Mugitani, Akihisa Kato, **Y. Kawaguchi**. The HSV-1 alkaline nuclease UL12 is functionally regulated by phosphorylation. October 16-19, 2012. The 34th Naito Conference. Sapporo, Japan (ポスター)
18. Yuhei Maruzuru, Yoshitaka Hirohata, Akihisa Kato, **Y. Kawaguchi**. Roles of p53 in HSV-1 replication. October 6-19, 2012. The 34th Naito Conference. Sapporo, Japan (ポスター)
19. 藤井ひかる、麥谷道生、加藤哲久、**川口 寧** HSV-1 Nuclease UL12のリン酸化制御 第27回ヘルペスウイルス研究会 2012年6月7日 愛知県知多郡
20. 加藤哲久、今井孝彦、小柳直人、**川口 寧** HSV-1 Us3によるMHC Class I 阻害の分子機構と生体レベルにおける意義 第27回ヘルペスウイルス研究会 2012年6月8日 愛知県知多郡
21. 小柳 直人、今井 孝彦、加藤 哲久、**川口 寧** HSV-1 UL13変異株のin vivoにおける致死性はなぜ接種ルートによって異なるのか? 第27回ヘルペスウイルス研究会 2012年6月8日 愛知県知多郡
22. 丸鶴雄平、廣畑吉崇、加藤哲久、**川口 寧** HSV-1の増殖におけるp53の役割 第27回ヘルペスウイルス研究会 2012年6月9日 愛知県知多郡
23. 加藤哲久 廣畑吉崇、**川口 寧** 単純ヘルペスウイルス1型プロテインキナーゼUs3による神経病原性発現の分子機構 第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月13日 大阪
24. 加藤哲久、今井孝彦、小柳直人、末永忠広、荒瀬 尚、**川口 寧** 単純ヘルペスウイルス1型

様式19 別紙1

	<p>プロテインキナーゼUs3による宿主免疫回避機構と生体レベルにおける意義 第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月13日 大阪</p> <p>25. 丸鶴雄平、廣畑吉崇、加藤哲久、<u>川口 寧</u> HSV-1の増殖におけるp53の役割 第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月13日 大阪</p> <p>26. 小柳直人、今井孝彦、加藤哲久、<u>川口 寧</u> 単純ヘルペスウイルス1型プロテインキナーゼUL13の病原性発現への関与 第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月13日 大阪</p> <p>27. 藤井ひかる、麥谷道生、加藤哲久、<u>川口 寧</u> HSV-1 Nuclease UL12のリン酸化制御 第60回日本ウイルス学会学術集会 2012年11月13日 大阪</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/Kawaguchi-lab/KawaguchiLabTop.html</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>2012年8月7日に東京大学オープンキャンパス時を利用して、安田講堂において、「未来からの招待状」と題したポスター展示を行い、本研究内容の一般公開を行った。また、8月20～21日で、医科学研究所感染症研究の公開セミナー「ラブ・ラボ」を医科学研究所で開催し、さらに、一般の方々に当研究室を見学していただき、感染症研究の現場を公開した。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

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	60,000,000	40,000,000	0
間接経費	39,900,000	9,900,000	18,000,000	12,000,000	0
合計	172,900,000	42,900,000	78,000,000	52,000,000	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	18,010,424	60,000,000	0	78,010,424	78,010,424	0	0
間接経費	4,950,000	18,000,000	0	22,950,000	0	22,950,000	0
合計	22,960,424	78,000,000	0	100,960,424	78,010,424	22,950,000	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	73,950,178	フローサイトメーター、キャビネット、実験用マウス、実験用試薬等
旅費	1,956,067	研究成果発表等(大阪国際会議場)他
謝金・人件費等	0	
その他	2,104,179	実験動物研究施設利用料、学会参加費等
直接経費計	78,010,424	
間接経費計	0	
合計	78,010,424	

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
バイオハザード対策用キャビネット	MHE-S1300A2	8	1,243,200	9,945,600	2012/9/25	東京大学医科学研究所
BD FACSVerseフローサイトメーター	1レザ-4カラーモデル	1	10,710,000	10,710,000	2013/2/25	東京大学医科学研究所
マルチモードリーダー	パーキンエルマー製 EnSpire	1	5,880,000	5,880,000	2013/3/18	東京大学医科学研究所
強制冷却機能付き 高圧蒸気滅菌器	平山製作所 <HVA-85>	1	596,610	596,610	2012/8/28	東京大学医科学研究所
フレークアイスメーカー	ホシザキ<FM-120K>	1	500,000	500,000	2012/8/29	東京大学医科学研究所
陰圧アイソラック	昭和科学 S-1860AM7	3	1,500,000	4,500,000	2012/8/30	東京大学医科学研究所
実験台(試薬棚付)	QCB-D1-3000PS	3	629,803	1,889,409	2012/9/27	東京大学医科学研究所
サーマルサイクラー	バイオラッド C1000	1	538,000	538,000	2012/10/1	東京大学医科学研究所
凍結マイクローム	ライカマイクロシステムズ CM1950-OUV	1	4,489,800	4,489,800	2012/10/10	東京大学医科学研究所
恒温振とう培養器	タイテック<BR-40LF>	1	813,750	813,750	2012/10/24	東京大学医科学研究所
顕微鏡デジタルカメラ (22インチモニター付)	オリンパス DP80-SET-A	1	1,810,320	1,810,320	2012/11/26	東京大学医科学研究所
リアルタイムPCR装置	ロシュ 581591F LightCycler96 イン ストールメント-F	1	2,994,600	2,994,600	2012/12/19	東京大学医科学研究所
超低温フリーザー	パナソニック<MD F-C2156VAN- PJ>	1	4,000,000	4,000,000	2012/12/21	東京大学医科学研究所
自動現像機	FPM100	1	787,500	787,500	2013/1/9	東京大学医科学研究所
ステレオタキシック	DKI社 Model1 900M	1	840,000	840,000	2013/1/10	東京大学医科学研究所
超音波ホモジナイザー	LB- BRANS ON	1	742,350	742,350	2013/1/17	東京大学医科学研究所
サンプル密閉式超音波 破砕装置	東湘電機 Bioruptor UCW-3 10	1	2,079,000	2,079,000	2013/2/27	東京大学医科学研究所