

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25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

最終年度の本年度は、これまでの研究で成果が挙げられている、新規免疫回避機構と単純ヘルペスウイルス(HSV)プロテインキナーゼ(PK)の解析を重点的に行う。具体的には、平成 23 年度に見出した HSV の新規免疫回避機構に関して、特に、生体レベルにおける意義や病態発現における意義に関する詳細な解析を行い、さらに、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 PK の新規基質に関して、感染細胞レベルでの生物学的意義と病態発現への関与を解析する。

2. 研究の実施状況

(i) 培養細胞系において、HSV 特異的なプロテインキナーゼ(PK)である UL13 の PK 活性はウイルス増殖に役割を果たさないが、マウス病態モデルにおいて、UL13 の PK 活性は病原性に大きな役割を果たしていることを明らかにした。また、そのメカニズムを解析したところ、「UL13 は、CD8⁺ T 細胞のリクルートに重要であるサイトカインの発現を抑制し、脳感染部位における CD8⁺ T 細胞の浸潤を抑制することによって、脳内での効率的なウイルス増殖および病原性発現に寄与している」という新たな HSV 免疫回避機構を明らかにした。

(ii) 平成 23 年度に明らかにした、HSV Us3 PK による HSV dUTPase(vdUTPase)のリン酸化反応が、抹消での病態発現を制御せず、中枢神経における神経病原性を特異的に制御する分子基盤を解析した。その結果、HSV 増殖に dUTPase 活性が重要であり、Us3 は vdUTPase をリン酸化してその活性を増強することにより、脳など宿主細胞由来 dUTPase 活性が低い領域での dUTPase 活性を補い、その結果、効率的なウイルス増殖に寄与することを明らかにした。一方、末梢での HSV の標的は宿主細胞由来 dUTPase 活性が高い上皮細胞であり、vdUTPase の必要が無いことが明らかになった。ヘルペスウイルス以外の多くのウイルスが dUTPase をコードしているが、これらウイルスがコードする dUTPase の存在意義を初めて実験的に明らかにした。

(iii) 新たな HSV の神経病原性因子として UL12 を同定した。

(iv) 核内でカプシドを形成したヘルペスウイルスは、小胞媒介性輸送といった生物学上極めてユニークな方法でカプシドを核から細胞質へ輸送する。HSV ICP22 が、カプシドの小胞媒介性輸送の最初のステップである primary envelopment に必須な UL31/UL34 複合体と相互作用し、UL31/UL34 の適正な発現または局在を制御することによってカプシドの小胞媒介性輸送を促進していることを明らかにした。また、同じく HSV UL47 が UL31/UL34 複合体と相互作用し、カプシドの小胞媒介性輸送に寄与していることを明らかにした。

した。さらに、カプシドの小胞媒介性輸送の2番目のステップである' de-envelopment' を制御する2つの宿主因子を同定した。

3. 研究発表等

雑誌論文 計14件	(掲載済み一査読有り) 計10件 1. Z. Liu, A. Kato, K. Shindo, T. Noda, H. Sagara, Y. Kawaoka, J. Arii, and Y. Kawaguchi (2014) Herpes Simplex Virus 1 UL47 Interacts with Viral Nuclear Egress factors UL31, UL34 and Us3, and Regulates Viral Nuclear Egress. J. Virol. 88: 4657-4667. 2. A. Kato, K. Shindo, Y. Maruzuru, and Y. Kawaguchi . (2014) Phosphorylation of a herpes simplex virus 1 dUTPase by a viral protein kinase Us3 dictates viral pathogenicity in the central nervous system but not at the periphery. J. Virol. 88: 2775-2785. 3. H. Fujii, M. Mugitani, N. Koyanagi, Z. Liu, S. Tsuda, J. Arii, A. Kato and Y. Kawaguchi . (2014) Role of the Nuclease Activities Encoded by Herpes Simplex Virus 1 UL12 in Viral Replication and Neurovirulence. J. Virol. 88: 2359-2364. 4. A. Kato, S. Tsuda, Z. Liu, H. Kozuka-Hata, M. Oyama and Y. Kawaguchi . (2014) Herpes simplex virus 1 protein kinase Us3 phosphorylates viral dUTPase and regulates its catalytic activity in infected cells. J. Virol. 88: 655-666. 5. M. Fukuda and Y. Kawaguchi (2014) Role of the Immunoreceptor Tyrosine-Based Activation Motif of Latent Membrane Protein 2A (LMP2A) in Epstein-Barr Virus LMP2A-Induced Cell Transformation. J. Virol. 88: 5189-5194. 6. N. Koyanagi, T. Imai, J. Arii, A. Kato and Y. Kawaguchi . (2014) Roles of herpes simplex virus 1 Us3 in viral neuroinvasiveness. Microbiol. Immunol. 58: 31-37. 7. K. Imamura, N. Imamachi, G. Akizuki, M. Kumakura, A. Kawaguchi, K. Nagata, A. Kato, Y. Kawaguchi , H. Sato, M. Yoneda, C. Kai, T. Yada, Y. Suzuki, T. Yamada, T. Ozawa, K. Kaneki, T. Inoue, M. Kobayashi, T. Kodama, Y. Wada, K. Sekimizu, N. Akimitsu. (2014) Long Noncoding RNA NEAT1-Dependent SFPQ Relocation from Promoter Region to Paraspeckle Mediates IL8 Expression upon Immune Stimuli. Mol. Cell 53: 393-406. 8. Y. Maruzuru, H. Fujii, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, A. Kato and Y. Kawaguchi . (2013) Roles of p53 in herpes simplex virus 1 replication. J. Virol. 86: 5264-5277. 9. T. Imai, N. Koyanagi, R. Ogawa, K. Shindo, T. Suenaga, A. Sato, J. Arii, A. Kato, H. Kiyono, H. Arase, and Y. Kawaguchi . (2013) Us3 Kinase encoded by Herpes Simplex Virus 1 Mediates Downregulation of Cell Surface Major Histocompatibility Complex Class I and Evasion of CD8 ⁺ T cells. PLoS One 8: e72050. 10. V. L. Sage, M. Jung, J. D. Alter, E. G. Wills, S. M. Johnston, Y. Kawaguchi , J. D. Baines and B. W. Banfield. (2013) The Herpes Simplex Virus Type 2 UL21 Protein is Essential for Virus Propagation. J. Virol. 86: 5264-5277.
------------------	--

	<p>(掲載済み一査読無し) 計2件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Y. Kawaguchi. Us3, a multi-functional protein kinase encoded by herpes simplex virus 1: How does it function in vivo? (2013) <i>Cornea</i> 32: S22-S27. 2. 川口 寧 (2013) ヘルペスウイルスの感染・病態制御の分子基盤 感染・炎症・免疫 43: 194-203. <p>(未掲載) 計2件 以下の論文はいずれも査読あり。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. A. Kato, Y. Hirohata, J. Arii, and Y. Kawaguchi. Phosphorylation of Herpes Simplex Virus 1 dUTPase Up-regulated Viral dUTPase Activity to Compensate for Low Cellular dUTPase Activity for Efficient Viral Replication. <i>J. Virol.</i> (in press) 2. Y. Maruzuru, K. Shindo, Z. Liu, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, J. Arii, A. Kato and Y. Kawaguchi. The Role of Herpes Simplex Virus 1 Immediate-Early Protein ICP22 in Viral Nuclear Egress. <i>J. Virol.</i> (in press)
<p>会議発表 計30件</p>	<p>専門家向け 計30件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 川口 寧 新規抗ヘルペスウイルス薬シーズ開発に向けての戦略的基礎研究 2013年6月5日 第87回日本感染症学会学術講演会・第61回日本化学療法学会総会合同学会 横浜市 (招待講演) 2. 川口 寧 ヘルペスウイルスの感染・病態発現の分子基盤 2013年8月5日 京都大学 血液腫瘍内科 血液・感染症学セミナー 京都市 (招待講演) 3. 川口 寧 ヘルペスウイルス研究の変遷:HSV-1研究の進展 2013年8月23日 第20回ヘルペス感染症フォーラム 札幌市 (招待講演) 4. 川口 寧 ヘルペスウイルス 2013年8月28日 ヘルペスウイルスに関する講演会 つくば市 (招待講演) 5. 川口 寧 ヘルペスの組換え技術の開発と病原性因子の同定 2013年9月20日 動物用ワクチン・バイオ医薬品研究会2013年秋総会・シンポジウム 岐阜市 (招待講演) 6. 川口 寧 ヘルペスウイルスの創薬標的 2013年12月9日 第42回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー 東京都千代田区 (招待講演) 7. A. Kato, Y. Hirohata, S. Oda, J. Arii and Y. Kawaguchi. Identification of an endosomal sorting protein SNX3 as a novel host cellular substrate of HSV-1 Us3. July 20, 2013. 38th Annual International Herpesvirus Workshop. Michigan, USA 8. N. Koyanagi, T. Imai, K. Shindo, J. Arii, A. Kato and Y. Kawaguchi. HSV-1 protein kinase UL13 inhibits infiltration of CD8+ T lymphocytes into viral infection sites in the central nervous system. July 22, 2013. 38th Annual International Herpesvirus Workshop. Michigan, USA (ポスター) 9. Z. Liu, K. Shindo, J. Arii, A. Kato, Y. Kawaguchi. A cellular protein p32, which is recruited to the nuclear membranes by HSV-1 UL47, is involved in nuclear egress of nucleocapsids. July 20, 2013. 38th Annual International Herpesvirus Workshop. Michigan, USA 10. Y. Hirohata, J. Arii, A. Kato and Y. Kawaguchi. CD98 Heavy Chain Stabilizes HSV-1 gB and Contributes to Viral Replication. July 21, 2013. 38th Annual International Herpesvirus

	<p>Workshop. Michigan, USA</p> <ol style="list-style-type: none"> 11. A. Kato, Y. Hirohata, S. Oda, J. Arii and <u>Y. Kawaguchi</u>. The endosomal sorting protein SNX3 is phosphorylated by herpes simplex virus 1 protein kinase Us3 and plays a critical role in viral replication and pathogenesis. September 11, 2013. The 12th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji City, Japan. 12. J. Arii, A. Kato, <u>Y. Kawaguchi</u>. Non-Muscle Myosin Heavy Chain IIB Associates with Herpes Simplex Virus 1 Envelope Glycoprotein B and Mediates Viral Entry. September 11, 2013. The 12th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji City, Japan. 13. 廣畑 吉崇、有井 潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> CD98hcはHSV-1 gBと相互作用し、gBの安定化およびウイルス増殖に寄与する 2013年5月30日 第28回ヘルペスウイルス研究会 淡路市 14. 劉 卓明、神道慶子、有井 潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> 感染細胞におけるUL47複合体構成成分の同定 2013年5月30日 第28回ヘルペスウイルス研究会 淡路市 15. 劉 卓明、神道慶子、有井 潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> 宿主因子p32はHSV-1のNuclear Egressを制御し、ウイルスの効率的な増殖に寄与する 2013年5月31日 第28回ヘルペスウイルス研究会 淡路市 16. 小柳直人、今井孝彦、神道慶子、有井 潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> HSV-1 UL13の中樞神経における役割 2013年5月30日 第28回ヘルペスウイルス研究会 淡路市 17. 有井 潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> Non-Muscle Myosin Heavy Chain IIBはHSV-1 gBと結合し、HSV-1の侵入を仲介する 2013年5月31日 第28回ヘルペスウイルス研究会 淡路市 18. 加藤哲久、廣畑吉崇、尾田真也、有井 潤、<u>川口 寧</u> Us3新規宿主細胞基質の同定とその生物学的意義の解明 2013年6月1日 第28回ヘルペスウイルス研究会 淡路市 19. 藤井ひかる、麥谷道生、津田峻平、加藤哲久、<u>川口 寧</u> 単純ヘルペスウイルスがコードする核酸分解酵素UL12のリン酸化による機能制御 2013年9月21日 第156回日本獣医学会学術集会 岐阜市 20. 有井潤 加藤哲久 <u>川口 寧</u> Non-Muscle Myosin Heavy Chain IIBは、HSV-1の侵入を仲介するco-receptorである 2013年11月12日 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市 21. 小川遼、佐合健、小柳直人、有井潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> HSV-1成熟粒子への宿主細胞因子取り込み制御機構 2013年11月10日 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市 22. 神道慶子、小柳直人、今井孝彦、劉卓明、有井潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> HSVプロテインキナーゼUs3の血清型間差異の機能的解析 2013年11月12日 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市 23. 藤井ひかる、麥谷道生、津田峻平、有井 潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> HSV-1 Nuclease UL12の酵素活性およびタイロシンリン酸化のウイルス増殖・病態への関与 2013年11月10日 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市 24. 小柳 直人、今井 孝彦、神道 慶子、有井 潤、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は中枢神経系において宿主免疫回避に寄与する 2013年11月10日 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市 25. 劉卓明、神道慶子、有井潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> HSV-1主要構成因子UL47は宿主細胞因子p32と相互作用し、ウイルスの核出芽を制御する 2013年11月12日 第61回日本ウイルス学
--	--

様式19 別紙1

	<p>会学術集会 神戸市</p> <p>26. 廣畑 吉崇、有井 潤、加藤 哲久、<u>川口 寧</u> CD98hcはHSV-1 gBと相互作用し、gBの安定化およびウイルスの出芽を制御する 2013年11月12日 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市</p> <p>27. 丸鶴雄平、神道慶子、劉卓明、小柳直人、有井潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> HSV-1遺伝子発現調節因子ICP22の新規機能 —ウイルス核出芽の制御— 2013年11月10日 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市</p> <p>28. Z. Liu, K. Shindo, J. Arii, A. Kato and <u>Y. Kawaguchi</u>. Herpes Simplex Virus 1 Protein UL47 and Host Cell Proteinp32 Interact in Infected Cells to Regulate Viral Nuclear Egress. 2014年2月14日 第3回感染症若手フォーラム 長崎市</p> <p>29. Y. Maruzuru, H. Fujii, M. Oyama, H. Kozuka-Hata, A. Kato and <u>Y. Kawaguchi</u>. Roles of p53 in Herpes Simplex Virus 1 replication. 2014年2月14日 第3回感染症若手フォーラム 長崎市</p> <p>30. 廣畑吉崇、有井潤、加藤哲久、<u>川口 寧</u> CD98hc は HSV-1 gB と相互作用し、gB の安定化および、ウイルスの出芽を制御する 2014年2月14日 第3回感染症若手フォーラム 長崎市</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1件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計1件 欧州特許庁へ出願:ヘルペスウイルス感染症の治療または予防のための医薬組成物 出願番号11759583.5 2013年11月20日</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>東京大学医科学研究所ウイルス病態制御分野(川口研究室)ホームページ 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>2013年7月23~24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25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	93,000,000	40,000,000	0	0
間接経費	39,900,000	27,900,000	12,000,000	0	0
合計	172,900,000	120,900,000	52,000,000	0	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	0	40,000,000	0	40,000,000	40,000,000	0	0
間接経費	22,950,000	12,000,000	0	34,950,000	34,950,000	0	0
合計	22,950,000	52,000,000	0	74,950,000	74,950,000	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	33,088,870	Milli-Q Integra5L,ユニバーサルCo2インキュベーター、実験用マウス、実験用消耗品等
旅費	3,797,597	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	3,113,533	病理組織サービス室利用料、学会参加費等
直接経費計	40,000,000	
間接経費計	34,950,000	
合計	74,950,000	

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
Milli-Q Integra5L	メルクミリポア製 バイオタイプ	1	2,362,500	2,362,500	2013/4/24	東京大学医科学 研究所
フォームユニバーサル Co2インキュベーター	Thermo製 3110	2	924,325	1,848,650	2013/5/27	東京大学医科学 研究所
微量高速冷却遠心 機	トミー精工製 MX-307	1	1,050,525	1,050,525	2013/5/27	東京大学医科学 研究所
蛍光顕微鏡用アル ゴンレーザーヘッド	カールツアイスマ イクロコピー社製	1	975,262	975,262	2013/6/5	東京大学医科学 研究所
蛍光顕微鏡用ヘリウ ムネオン543nmレーザー	カールツアイスマ イクロコピー社製	1	561,787	561,787	2013/8/23	東京大学医科学 研究所
フォームユニバーサル Co2インキュベーター	Thermo製 3110	2	924,325	1,848,650	2013/8/23	東京大学医科学 研究所