

【目的】単純ヘルペスウイルス (herpes simplex virus : HSV) はヒトに口唇ヘルペス、性器ヘルペス、皮膚疾患、眼疾患、脳炎、新生児ヘルペスなど多様な病態を引き起こす。世界市場における HSV 感染症の医療費は、年間数千億円と試算されており、医学的に非常に重要なウイルスである。これらの病態の中で、単純ヘルペス脳炎 (herpes simplex encephalitis : HSE) は抗ヘルペス薬が開発された現在でも半数の患者は予後不良であることから新規治療法や早期診断法・予防法の開発が臨床上の急務である。筆者はこれまでに HSE に関与する HSV 因子として UL13 を同定した。UL13 は単純ヘルペスウイルス 1 型および 2 型 (HSV-1 and HSV-2) がコードするプロテインキナーゼ (PK) の一つである。これまでに HSV-1 UL13 欠損株や UL13PK 活性消失株を用いた解析により、UL13 は細胞種依存的にウイルス増殖に寄与することやマウスへの病原性発現に寄与することが報告されている。しかし、HSV 感染細胞において UL13 の機能がいかんして制御されているかは不明であった。そこで、本研究では、タンパク質の機能制御を司る翻訳後修飾の一つであるリン酸化に着目し、HSV 感染における UL13 リン酸化の生物学的意義の解明を試み、HSE 発症制御機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】1. HSV-2 感染細胞における UL13 のリン酸化部位を同定するために、高感度質量分析計を用いたリン酸化プロテオーム解析を実施した。2. 同定した UL13 リン酸化部位の一つである Ser-18 を Ala に置換したリン酸化消失変異株 (UL13-S18A) を作製し、U2OS 細胞におけるウイルス増殖性および細胞間伝播への影響を解析した。3. リン酸化消失変異株 (UL13-S18A) 感染 U2OS 細胞において、UL13 によってリン酸化されることが知られている翻訳伸長因子 EF-1 δ の Ser-133 リン酸化状態を評価した。4. リン酸化消失変異株 (UL13-S18A) をマウスに経膈接種し、マウスの致死率、病態スコア、ウイルス量を評価した。5. リン酸化消失変異株 (UL13-S18A) で認められた表現系が、Ser-18 を Asp に置換した恒常的リン酸化模倣株 (UL13-S18D) において、野生体の表現系に回復するか評価した。

【結果】1. リン酸化プロテオーム解析の結果、6 ヶ所の UL13 リン酸化部位を同定した。2. リン酸化消失変異株 (UL13-S18A) では、U2OS 細胞において、ウイルス増殖および細胞間伝播が UL13 欠損株および UL13PK 活性消失株と同程度まで低下した。3. リン酸化消失変異株 (UL13-S18A) 感染 U2OS 細胞では野生体感染 U2OS 細胞に比べて、EF-1 δ Ser-133 のリン酸化が低下した。4. リン酸化消失変異株 (UL13-S18A) では、経膈接種後のマウスの致死率、病態スコア、ウイルス量が低下した。5. 恒常的リン酸化模倣株 (UL13-S18D) ではリン酸化消失変異株 (UL13-S18A) で認められた表現系が野生体の表現系へと回復した。以上の結果から、UL13 Ser-18 のリン酸化は UL13 の機能を制御することでウイルス増殖や病原性発現に寄与することが示唆された。

HSV-2 UL13 Ser-18 のリン酸は UL13 の機能を制御し、効率的なウイルス増殖・病原性発現に寄与する

Biological significance of UL13 and phosphorylation of UL13 Ser-18

