アルファヘルペスウイルスの宿主免疫回避機構

川口 寧 先生　東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 ウイルス病態制御分野 教授

ヘルペスウイルスの免疫回避機構

ヘルペスウイルスの特徴は、初感染時の発症の有無に関わらず潜伏感染し、その後、回帰発症を繰り返すことである。例えば、性器ヘルペスは年5～6回と高頻度に再発することもある。ヘルペスウイルスは進化の過程で宿主の獲得免疫を回避する機構を得たことで、このような特徴を持ったと考えられ、この特徴がワクチン開発を極めて難しくしている。

ワクチン開発のためにはヒトヘルペスウイルスの宿主獲得免疫回避機構を生体レベルで解明する必要がある。しかし現在、マウスモデルのあるヒトヘルペスウイルスは、単純ヘルペスウイルス1型（Herpes simplex virus-1 ; HSV-1）および2型（HSV-2）のみである。

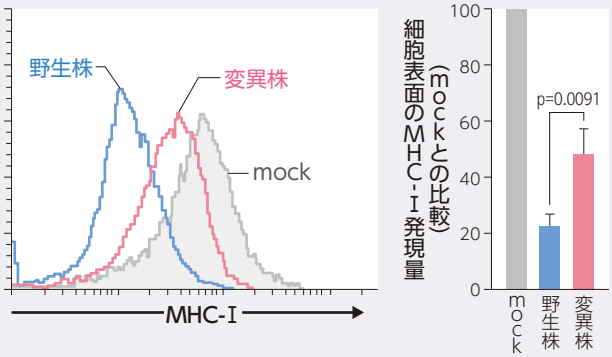
通常、ヘルペスウイルスが感染すると主要組織適合遺伝子複合体（major histocompatibility complex ; MHC）により細胞表面に抗原が提示され、これを分化したCD8$^+$ T細胞、すなわち細胞傷害性T細胞（cytotoxic T lymphocyte ; CTL）が認識して、感染細胞を傷害する。これまで、HSVの宿主獲得免疫回避因子としてICP47が同定されている。ICP47はMHC class I（MHC-I）による抗原提示を抑制することで、CD8$^+$ T細胞からの傷害を回避させる。しかし、ICP47はヒト細胞のみで機能する因子であり、マウスモデルを用いた解析が不可能なため、生体レベルにおける意義は明らかでない[1, 2]。

我々は、HSVがコードするセリン／スレオニンプロテインキナーゼであるUs3プロテインキナーゼ（Us3PK）がウイルス感染細胞の表面に提示されるMHC-Iの発現を抑制し、CD8$^+$ T細胞による傷害を回避する機構に関わっていることを明らかにしたので報告する[3]。なお、Us3PKはヒト細胞だけでなくマウス細胞でも機能するため、生体レベルでも解析できる因子である。

*In vitro*におけるUs3PKの作用

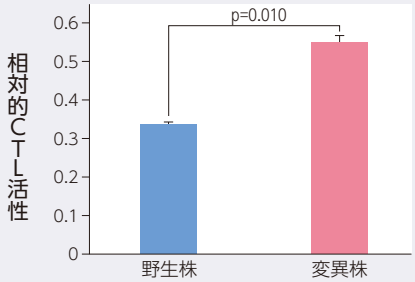
まず、*in vitro*でのUs3PKの作用を確認した。HSV-1の野生株（Us3PKが正常に機能している）、または1アミノ酸変異によりUs3PKを不活化した変異株（Us3PKが機能していない）を細胞に感染させ、MHC-Iの発現をフローサイトメトリーにて確認したところ、野生株感染細胞ではMHC-Iの発現が強く抑制されたが、変異株感染細胞では完全には抑制されなかった。このことから、Us3PKはMHC-Iの発現抑制に関与していることが明らかになった（図1）。

次に、Us3PKにより感染細胞のMHC-I発現が抑制されることで、CD8$^+$ T細胞からの傷害を回避できるか確認した。β-ガラクトシダーゼ遺伝子導入CD8$^+$ T細胞が、HSV-1の主要免疫原性ペプチドである糖タンパク質B（gB）エピトープを認識して感染細胞を傷害すると、β-ガラクトシダーゼが発現し、CTL活性を相対的に測定できる。野生株または変異株を感染させたところ、野生株感染細胞に比べて変異株感染細胞に対するCTL活性が高い値を示した。このことから、HSV-1のUs3PKは、MHC-I発現およびCTL活性を抑制することが*in vitro*で明らかになった（図2）。



n=5
two-tailed student's *t*-test　mean±SE
Imai T et al. PLoS One. 8 (8) e72050 (2013)より作図

図1 Us3PKはMHC-Iの発現を抑制する（*in vitro*）



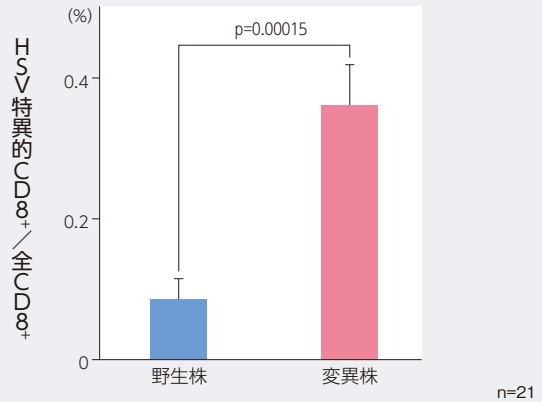
n=3
two-tailed student's *t*-test　mean±SE
Imai T et al. PLoS One. 8 (8) e72050 (2013)より作図

図2 Us3PKはHSV-1特異的CTL活性を抑制する（*in vitro*）

*In vivo*におけるUs3PKの作用

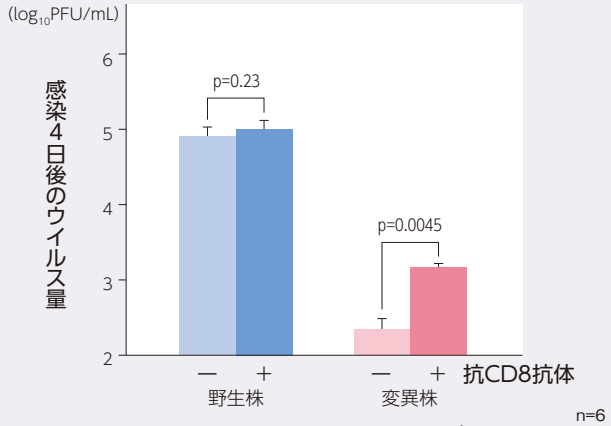
次に、マウスを用いて*in vivo*でのUs3PKの作用を確認した。野生株または変異株をマウスの後肢足底部に接種した後、HSV-1 gBエピトープに特異的なMHC-I 4量体を用いて、全$CD8^+$ T細胞に対するHSV特異的$CD8^+$ T細胞の比率を測定した。その結果、変異株感染マウスは野生株感染マウスと比較してHSV特異的$CD8^+$ T細胞の比率が高かった。このことから、Us3PKは*in vivo*においてもHSV特異的$CD8^+$ T細胞の誘導を抑制することが明らかになった(図3)。

さらに、Us3PKによる$CD8^+$ T細胞誘導抑制作用がウイルス増殖に寄与するか確認した。抗CD8抗体をマウスに大量に投与することで$CD8^+$ T細胞を枯渇させることができる。予め、抗CD8抗体を投与したマウスと投与していないマウスに野生株または変異株を接種し、感染1日後と4日後のウイルス量を測定した。HSV特異的$CD8^+$ T細胞が誘導される前である感染1日後に、野生株または変異株のウイルス量を測定したところ、抗体投与群と非投与群でウイルス増殖量に差は認められなかった。このことから抗体投与によるウイルス増殖への影響はないと示された。次に、感染4日後にウイルス量を測定したところ、野生株を接種したマウスではUs3PKにより$CD8^+$ T細胞の誘導が抑制されるため、抗体投与群と非投与群のウイルス量は同程度であった。一方、変異株を接種したマウスでは、抗体投与により$CD8^+$ T細胞が枯渇するため感染細胞を傷害できず、抗体投与群は非投与群の約6.7倍ウイルス量が多かった(図4)。このことから、Us3PKは$CD8^+$ T細胞による傷害を回避し、効率的なウイルス増殖に寄与することが明らかになった。



n=21
two-tailed student's *t*-test　mean±SE
Imai T et al. PLoS One. 8 (8) e72050 (2013)より作図

図3 Us3PKはHSV-1特異的$CD8^+$ T細胞の誘導を抑制する(マウス)



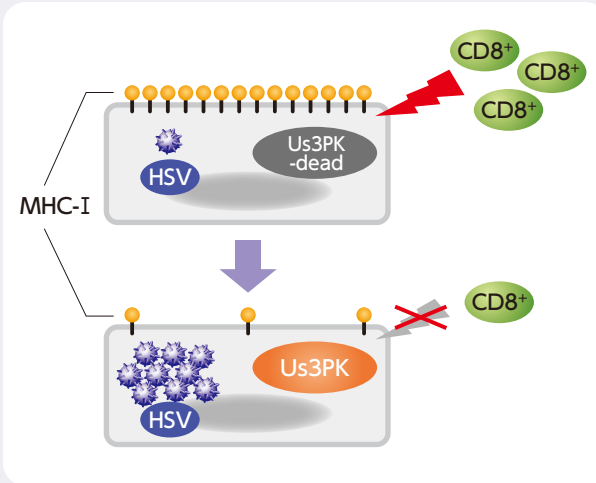
n=6
two-tailed student's *t*-test　mean±SE
Imai T et al. PLoS One. 8 (8) e72050 (2013)より作図

図4 Us3PKはHSV-1の増殖に寄与する(マウス)

最後に

HSVがコードするUs3PKは、感染細胞表面のMHC-Iの発現を抑制することでHSV特異的$CD8^+$ T細胞からの傷害回避と、効率的なウイルス増殖に寄与する(図5)。本報告は、ヒトヘルペスウイルスの宿主獲得免疫回避機構を生体レベルで初めて明らかにしたものである。

Us3PKをコードする遺伝子はアルファヘルペスウイルス亜科に属するウイルスに保存されており、水痘・帯状疱疹ウイルスにも存在する。*In vitro*ではあるがUs3PKに関する同様の報告が、水痘・帯状疱疹ウイルスでも示されており[4]、Us3PKによる宿主獲得免疫回避機構は、アルファヘルペスウイルス亜科における特徴的な回避機構であると予想される。



Us3PKが発現するとHSV-1感染細胞表面のMHC-Iの発現が抑制され、$CD8^+$ T細胞の傷害を回避し、効率的にウイルス増殖ができる

図5 Us3PKによるHSV-1の宿主獲得免疫回避機構

1) York IA et al. Cell. 77 (4) 525 (1994)
2) Früh K et al. Nature. 375 (6530) 415 (1995)
3) Imai T et al. PLoS One. 8 (8) e72050 (2013)
4) Eisfeld AJ et al. J Virol. 81 (17) 9034 (2007)