〔ウイルス　第68巻　第2号，pp.115-124，2018〕

総　説

1. 単純ヘルペスウイルス
～基礎研究，最近の進展～

川口　寧
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

単純ヘルペスウイルス(HSV: herpes simplex virus)は，ヒトに，口唇ヘルペス，単純ヘルペス脳炎，性器ヘルペス，皮膚疾患，眼疾患，新生児ヘルペスといった多様な疾患を引き起こす．HSV感染症に対しては，幾つかの抗ヘルペスウイルス剤が開発されているが，疾患によってはその効果は極めて限定的であり，ワクチンも未だ開発されていない．よって，現在でも全世界的なアンメット・メディカルニーズが高い感染症である．一方，HSVは，数あるヘルペスウイルスの中で研究が最も進展しているヘルペスウイルスのプロトタイプであり，その研究知見は，効率的に他のヘルペスウイルス研究にフィードバックされている．本稿では，HSV基礎研究の最近の進展に関して，我々の知見に基づき概説し，これらの知見が新しい抗HSV戦略の構築にどの様に橋渡しされうるかを議論したい．

I. ヘルペスウイルス

牡蠣といった無脊椎動物から高等哺乳動物に至るまで，多くの動物種にはそれぞれ固有のヘルペスウイルスが存在し，宿主に多様な病態を引き起こす．医学領域では，現在までに9つのヘルペスウイルスが同定され，ヒトに様々な疾患を引き起こすことが知られている．獣医学・畜産領域では，6つのヘルペスウイルスに起因する感染症が家畜伝染病予防法における届出伝染病に指定されている．また，水産領域では，2003年の霞ヶ浦でのコイヘルペスウイルスによる養殖鯉の大量死が記憶に残るが，他に，海外での牡蠣ヘルペスウイルスによる養殖牡蠣被害が問題となっている．このように，ヘルペスウイルスは，医学，獣医学，畜産，水産といった多領域において重要なウイルス群であり，ICTV(International Committee on Taxonomy of Viruses)には，未分類を含め，130種類以上のヘルペスウイルスが報告されている(https://talk.ictvonline.org/files/ictv_official_taxonomy_updates_since_the_8th_report/m/vertebrate-official/174).

ヘルペスウイルスの最大の特徴は，宿主に潜伏感染し，回帰発症(再発)を繰り返しながら宿主に終生存続することにある．

II. 単純ヘルペスウイルス

単純ヘルペスウイルス(HSV: herpes simplex virus)は，古く(1920年頃)から研究が推進され，数あるヘルペスウイルスの中で最も研究が進展しているプロトタイプである．その知見は，サイトメガロウイルス，Epstein-Barrウイルス，水痘・帯状疱疹ウイルス，動物ヘルペスウイルス等，他の多くのヘルペスイルス研究に効率的にフィードバックされている．HSVは，ヒトに，口唇ヘルペス，単純ヘルペス脳炎(HSV脳炎)，性器ヘルペス，皮膚疾患，眼疾患，新生児ヘルペスといった多様な疾患を引き起こす．HSV感染症に対しては，ノーベル賞受賞対象となったアシクロビルに代表される幾つかの抗ヘルペスウイルス剤が開発されている．しかし，近年開発されたC型肝炎の抗ウイルス薬とは異なり，既存の抗ヘルペスウイルス剤はHSVを体内から排除できない．つまり，再発の度に投薬が必要であり，さらに，疾患によってはその効果は極めて限定的であり，ワクチンも未だ開発されていない．

米国では，HSV脳炎に年間約1,500人，性器ヘルペスに年間約50～70万人，角膜ヘルペスに年間約30万人，新生

連絡先
〒108-8639
東京都港区白金台4-6-1
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
TEL: 03-6409-2070
FAX: 03-6409-2072
E-mail: ykawagu@ims.u-tokyo.ac.jp

児ヘルペスに年間約1,500人が罹患する[1,2]．日本におけるHSV感染症の患者数に関しても，おおよそ人口（米国～3.3億人，日本～1.3億人）に比例すると考えられる．HSV脳炎の場合，抗ヘルペスウイルス剤が開発された今日でも，10～15%の患者が死に至り，死亡と高度後遺症を含めた転帰不良率は33～53%と高く，社会復帰率も半数でしかない[3]．また，性器ヘルペスでは，約7割の患者に年3回以上，約3割に年6回以上の再発が認められ[4]，患者のQOL（quality of life）を著しく低下させる．本疾患に対しても，既存の抗ヘルペスウイルス剤は，再発抑制効果や無症候性排泄の阻止，休薬による症状の再燃や服薬の手間などに関して患者ニーズに十分応えられているとは言い難い．さらに，性器ヘルペスはエイズの原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス（HIV: human immunodeficiency virus）の感染危険度を2～4倍程度増加させるという報告もある[2]．

このようにHSV感染症は，約100年の長きに渡って精力的に研究が推進されてきたにもかかわらず，現在でも全世界的なアンメット・メディカルニーズが高い感染症である．

III. HSVの宿主獲得免疫回避機構の重要性

上記のように，HSVを含むヘルペスウイルスの最大の特徴は，一度感染すると宿主に終生潜伏感染し，頻繁に再活性化し回帰発症（再発）を繰り返すことにある．HSVが何度も再発するためには，宿主の生体防御反応である様々な免疫応答，特に，頻繁な再発で増強が想定される獲得免疫応答からの回避が必要である．実際，HSVがコードするICP47がウイルス抗原ペプチドのトランスポーターであるTAP（transporter associated with antigen processing）と結合し，MHCクラスI（MHC-I）を介したウイルス抗原の提示を阻害し，感染細胞を細胞障害性Tリンパ球（CTL: cytotoxic T lymphocyte）の攻撃から回避させることが，1994年から1995年にかけてCell誌とNature誌に相次いで報告された[5-7]．さらに，1996年には宿主のタンパク質合成のシャットオフを誘導するHSVタンパク質VHS（virion host shut-off）が，MHC-Iの新規合成を阻害することによってHSV感染細胞をCTLから回避させることが報告された[8]．しかし，ICP47およびVHSによるCTLからの免疫回避は，培養細胞レベルのみで実証されたものである．HSV研究の大きな利点として，ヒトの病態を簡便に再現できるマウスHSV病態モデルの存在が挙げられる．その後の解析で，ICP47に関しては，マウスのTAPへの結合能力が著しく弱く，マウス細胞ではMHC-Iを介したHSV抗原提示を阻害することができないことが判明した[5]．つまり，マウスHSV病態モデルを用いたICP47のCTL回避効果は解析不可能であり，生体レベルにおける実効性は不明なままである．また，VHSに関しては，TおよびB細胞を欠損したSCIDマウスにおいて，VHS欠損のウイルス増殖および病態発現における効果が野生体マウスと同等であることが報告され[9]，VHSによるCTL回避の生体レベルにおける実効性も不明である．この様に，生体レベルにおけるHSVの宿主獲得免疫回避機構は長い間不明であった．

IV. 2つのHSVプロテインキナーゼによるHSV宿主獲得免疫回避機構の解明

(i) UL13による感染部位へのCTL浸潤回避機構

HSVは2つのプロテインキナーゼ（PK: protein kinase），UL13およびUs3をコードしている．Us3に関しては，古くからHSVの病態制御に大きな役割を果たしていることが報告されていた[10]．一方，UL13のHSV病態発現への関与は全く不明であった．そこで我々は，UL13変異ウイルスをマウスHSV角膜炎モデルで解析した．本モデルでは，眼に接種されたHSVは末梢（角膜）で病態を引き起こすだけでなく，中枢神経系に侵襲・増殖し，最終的にはマウスは脳炎で死に至る．解析の結果，UL13変異ウイルス感染マウスは，野生体ウイルス感染マウスと比して著しく致死率が低下していた[11]．興味深いことに，UL13変異ウイルスは，野生体ウイルスと同程度に中枢神経系に侵襲し増殖するが，その後，野生体ウイルスの増殖が維持されるのに対し，UL13変異ウイルスの増殖は抑制され，ウイルス抗原も排除されていた．一方，抗CD8抗体をマウスに投与してCD8陽性細胞（CTL）を除去すると，UL13変異ウイルスの表現型は，完全では無いものの野生体の表現型に復帰した．また，UL13変異ウイルス感染マウスの脳感染部位では，CTLを誘引するケモカインCXCL9の発現が野生体ウイルス感染マウスより有意に上昇し，それに伴い，HSV特異的CTL数も増加していた．さらに，野生体ウイルス感染マウスの脳感染部位にCXCL9を定位的に導入すると，UL13変異ウイルス感染マウスでの表現型である，HSV特異的CTL数の増加，ウイルス増殖および病原性の低下が観察された．以上の結果より，UL13は，感染部位におけるCXCL9の発現を抑制し，CTLの感染部位への浸潤を阻害する．そして，CTLによるHSV感染細胞の除去を抑制し，効率的なウイルス増殖や病態発現に貢献していることが明らかになった（**図1**）[11]．

上記のように，HSV脳炎は抗ウイルス剤が開発された今日でも，極めて予後が悪い疾患である．脳炎が進行してしまうと，抗ウイルス剤でウイルス増殖を阻害しても脳炎の進行を阻止することは難しい．今回，抗ウイルス薬アシクロビル投与では脳炎の進行を阻止できない感染時期でも，CXCL9投与によるCTLの人為的亢進によってHSV脳炎を顕著に抑制できたことから，CTL応答を標的としたHSV脳炎の新しい治療法の開発につながることが期待される．

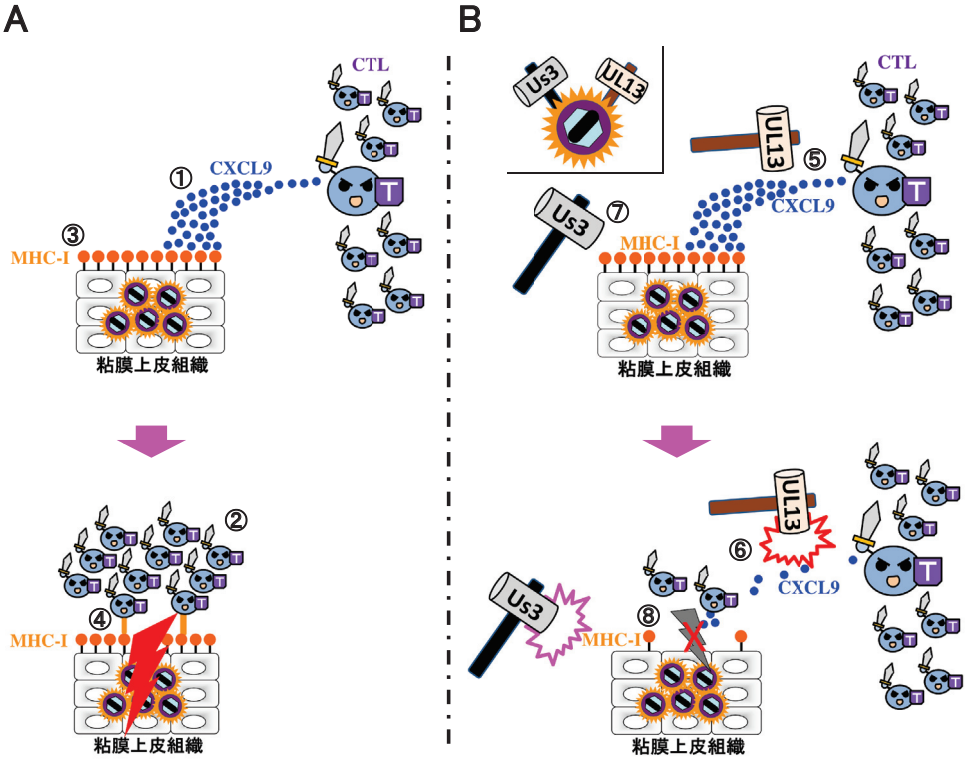

図 1　2 つの HSV PK による CTL 回避機構（モデル図）．(A) UL13 および Us3 変異ウイルス感染での CTL 応答．HSV が感染すると CTL を誘引するケモカイン CXCL9 が発現し（①），CTL を感染部位へ浸潤させる（②）．浸潤した CTL は MHC-I を介して提示された HSV 抗原（③）を認識し，感染細胞を攻撃する（④）．(B) 野生体ウイルス感染での CTL 応答．UL13 により（⑤），HSV 感染によって誘導される CXCL9 の発現が抑制されるため，感染部位に浸潤する CTL の数は減少する（⑥）．さらに，感染細胞では，Us3 によって（⑦），MHC-I を介した HSV 抗原の提示が抑制されるため，僅かに浸潤してくる CTL の攻撃からも回避することができる（⑧）．

(ii) Us3 による感染細胞の CTL 回避機構

過去の我々の解析より，Us3 による HSV エンベロープ糖タンパク質 gB のリン酸化によって，gB のエンドサイトーシスが促進され，gB の感染細胞表面量が抑制されること，そして，この Us3 による gB の局在制御が，HSV 病態発現に重要であることが明らかになっていた[12-14]．我々は「gB と同様に，Us3 によって細胞表面量が制御されている宿主の膜タンパク質が存在するのではないか？」という作業仮説のもと，HSV 感染でその細胞表面量が低下することが知られていた MHC-I に着目した．

解析の結果，Us3 変異ウイルス感染細胞では野生体ウイルス感染細胞と比して，MHC-I の細胞表面量が有意に上昇し，それに伴い，Us3 変異ウイルス感染細胞は野生体ウイルス感染細胞より HSV 特異的 CTL の活性化を MHC-I 依存的に亢進した[15]．また，Us3 変異による HSV 特異的 CTL 活性化の亢進が，過去に同様な報告のある ICP47 および VHS 非依存的であることを確認した．これら細胞レベルの知見と合致するように，Us3 変異ウイルス感染マウスの方が野生体ウイルス感染マウスより，HSV 特異的 CTL の誘導が亢進されていた．さらに，抗 CD8 抗体で CTL を除去した結果，Us3 変異ウイルスの増殖が有意に上昇した一方，抗 CD8 抗体投与は，野生体ウイルスの増殖には影響を及ぼさなかった．以上より，Us3 は MHC-I の細胞表面量を抑制することによって，CTL による感染細胞の排除を回避し，生体レベルにおける効率的なウイルス増殖に貢献していることが明らかになった（**図 1**）[15]．

V. HSV テグメントタンパク質による インフラマソーム活性化回避機構の解明

インターロイキン 1β（IL-1β）およびインターロイキン 18（IL-18）は，主にマクロファージや樹状細胞から放出される炎症性サイトカインであり，様々な病原体に対する免疫応答の重要なメディエーターとして機能する[16]．IL-1β および IL-18 は，インフラマソームによって前駆体が切断されることにより最終的に細胞外に放出される．インフラマソームとは NLRP3 や AIM2 などのセンサータンパク質，アダプタータンパク質である ASC，エフェクタータンパク質である Caspase 1 によって構成される巨大タンパク質

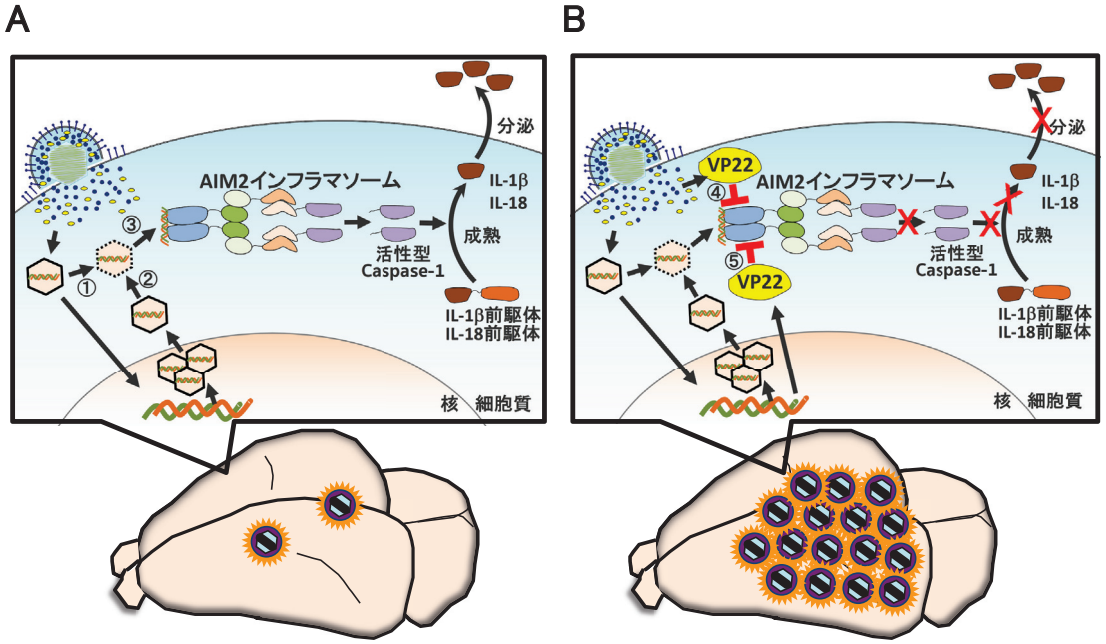

図2 テグメントタンパク質VP22によるAIM2インフラマソーム回避機構（モデル図）．(A) VP22変異ウイルス感染でのAIM2インフラマソーム応答．HSVが細胞に侵入すると，ヌクレオカプシドの細胞質への侵入と共に，テグメントタンパク質が拡散する．ヌクレオカプシドは核膜孔に到達し，ヌクレオカプシド内のウイルスゲノムDNAを核に注入する．核内のウイルスゲノムからはウイルスタンパク質が新規合成され，また，ウイルスゲノムDNAが核内で複製される．複製されたウイルスゲノムDNAを核内でパッケージングした新生ヌクレオカプシドは，細胞質へと輸送される．侵入したヌクレオカプシド（①）および新生ヌクレオカプシド（②）は，共に宿主細胞のプロテアソームの標的となり一部のヌクレオカプシドが分解され，ウイルスゲノムDNAが細胞質に放出される（③）．このウイルスゲノムDNAをAIM2が感知し，AIM2インフラマソームが活性化され，炎症性サイトカインIL-1βおよびIL-18が分泌される．(B) 野生体ウイルス感染でのAIM2インフラマソーム応答．感染細胞において，VP22はテグメントタンパク質としてウイルス侵入直後より細胞質に拡散し，さらに，ウイルスゲノムから新規合成される．VP22はAIM2に会合し，AIM2インフラマソームの活性化に必須なステップであるAIM2の多量体化を阻害することによって，AIM2インフラマソームの活性化を効率的に抑制する（④，⑤）．侵入したヌクレオカプシドが宿主細胞に分解され，ウイルスゲノムDNAがAIM2に感知されても，テグメントタンパク質として感染直後に持ち込まれたVP22が迅速にAIM2インフラマソームの活性化を抑制することができる（④）．この様に，野生体ウイルス感染では，AIM2インフラマソームの活性化が迅速かつ効率的に抑制されることにより，IL-1βおよびIL-18の分泌が回避され，ウイルスが生体レベルにおいて効率的に増殖することができる．

複合体である[17]．

インフラマソームのセンサータンパク質であるAIM2は，2本鎖DNAを認識するDNAセンサーであり，DNAウイルスの感染を感知すると考えられている．2010年のNature Immunology誌に，幾つかのDNAウイルスによるAIM2依存的インフラマソームの応答性の違いが報告された[18]．ワクシニアウイルス感染やマウスサイトメガロウイルス感染によるIL-1βの放出はAIM2依存的であるのに対し，HSV感染によるAIM2依存的IL-1βの放出は観察されなかった．つまり，(i) HSV DNAがAIM2で感知されない；または，(ii) AIM2インフラマソームの活性化をHSVが回避している；ことが示唆された．

我々は，「HSVはAIM2インフラマソームの活性化を阻害するウイルス因子をコードしている」という作業仮説のもと，インフラマソーム再構築系を利用して，AIM2インフラマソームを特異的に阻害するウイルス因子のスクリーニングを行った．その結果，HSVがコードするVP22がAIM2インフラマソームの活性化を阻害することが明らかになった[19]．興味深いことに，VP22変異ウイルスを骨髄由来マクロファージに感染させると，インフラマソーム活性化の指標であるCaspase 1の切断とIL-1βの放出がAIM2依存的に観察された．一方，野生体ウイルス感染マクロファージでは，Caspase 1の切断とIL-1βの放出がほとんど検出されなかった．つまり，宿主細胞は，HSV感染を感知してAIM2インフラマソームは活性化できるが，VP22が極めて効率的にその活性化を阻害し，IL-1βの放出をほぼ完全に抑制することが明らかになった．この結果は，2010年のNature Immunology誌の報告と合致してい

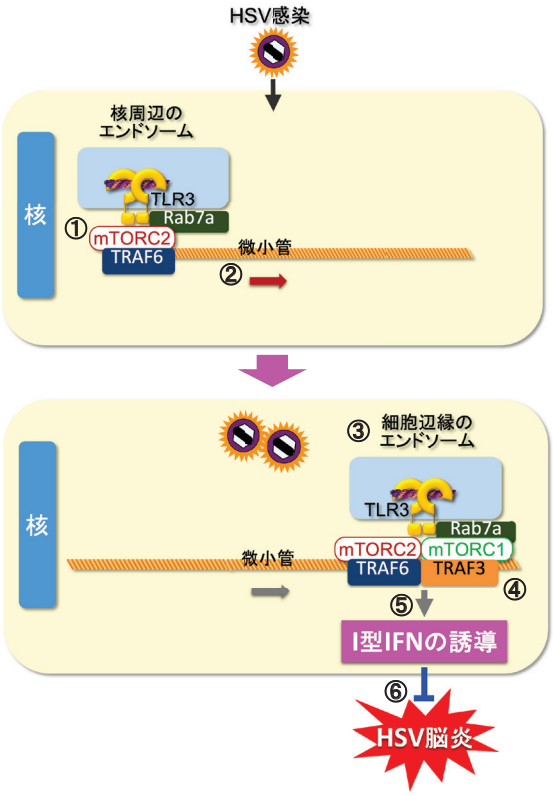

図 3 TLR3-mTORC2 シグナルによる HSV 脳炎の発症防御機構（モデル図）．HSV が感染すると，活性化された mTORC2 が TLR3 にリクルートされ（①），mTORC2 下流のシグナル分子である PKC が微小管を細胞辺縁へと伸長する（②）．TLR3 は低分子量 G タンパク質 Rab7a と会合し，微小管上を核周辺から細胞辺縁へと輸送される（③）．TLR3 が細胞辺縁に輸送されると，I 型 IFN 産生に必要な TRAF3 や mTORC1 といったシグナル分子が TLR3 にリクルートされ（④），I 型 IFN の産生を誘導し（⑤），HSV 脳炎の発症を抑制する（⑥）．文献（http://first.lifesciencedb.jp/archives/18731, DOI: 10.7875/first.author.2018.098）の図を改変．

る．また，VP22 が AIM2 インフラマソームの活性化を阻害する分子機構として，VP22 が AIM2 と会合し，AIM2 インフラマソームの活性化に必須な AIM2 の多量体化を阻害していることが明らかになった（**図 2**）．

HSV 粒子には，20 種類以上のウイルス因子から構成されるテグメントと呼ばれるユニークなドメインがある．テグメントタンパク質は，ウイルスの侵入と同時に細胞質に放出され，ウイルス増殖に有利な細胞環境の構築に貢献すると考えられている．VP22 もテグメントタンパク質の 1 つであり，HSV 粒子に 2,000 コピー程パッケージングされている．解析の結果，HSV 粒子中の VP22 も感染細胞中で新規合成された VP22 と同様に AIM2 インフラマソームの活性化を効率的に阻害できることが明らかになった．つまり，細胞へのウイルス侵入後，VP22 は極めて迅速に AIM2 インフラマソームの活性化を阻害しうることが示唆された（**図 2**）[19]．

過去に我々は，VP22 がマウスの脳における HSV 増殖に重要であることを報告していた[20]．この報告と合致するように，野生型マウスの脳において，VP22 変異ウイルスは野生体ウイルスより著しく増殖能が低下していた．一方，AIM2 欠損マウスの脳においては，VP22 変異ウイルスと野生体ウイルスの増殖能はほぼ同等であった．以上の結果より，VP22 は AIM2 インフラマソームを阻害することによって生体レベルでの効率的な HSV 増殖に資することが示唆された（**図 2**）[19]．

VI. HSV による免疫回避機構の解明の意義

以上，我々の解析により，生体レベルで実効性のある複数の HSV 免疫回避機構が明らかになった[11, 15, 19]．興味深いことに，解明された 2 つの HSV 獲得免疫回避機構は，いずれも CTL 応答を標的としていた一方で，CTL の浸潤と MHC-I による抗原提示といった CTL 応答の異なるステップを阻害していた．ICP47 や VHS といった CTL 応答を阻害しうる潜在的なウイルス因子の存在を考え合わせると，HSV 感染にとって CTL 応答が極めて都合の悪い免疫応答であり，それ故に，異なる複数のステップを阻害することにより効率的に CTL 応答を回避する必要があることが想像される．また，HSV がインフラマソームの活性化

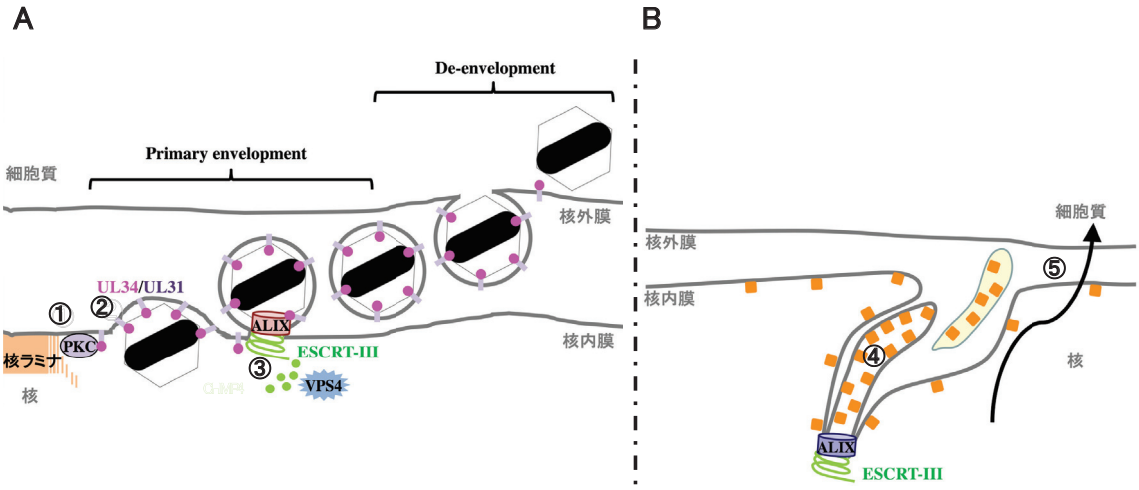

図4　小胞媒介性核外輸送の分子機構（モデル図）．(A) HSV 感染細胞におけるヌクレオカプシドの小胞媒介性核外輸送．核内膜に局在する HSV UL34/UL31 が，宿主の PKC を核内膜にリクルートし，Lamin をリン酸化・脱重合することによって核ラミナが除去される（①）．UL34/UL31 がヌクレオカプシドと会合することにより，核内膜にリクルートされ，さらに，6 量体の UL34/UL31 が膜状で格子状の高次構造を形成することによって核内膜の湾曲が引き起こされる（②）．UL34/UL31 は，ESCRT-III のアダプタータンパク質である ALIX と会合することで，ESCRT-III の実行因子である CHMP4 を核内膜にリクルートし，‘primary envelopment’ の最終段階である膜の切断が行われる（③）．(B) 正常細胞における小胞媒介性核外輸送．何らかの原因で核内膜関連タンパク質である Lamin や Emerin が核内膜に蓄積すると，核内膜の過形成が引き起こされる（④）．この核内膜関連タンパク質の蓄積と核内膜の過形成は，ESCRT-III を介した小胞媒介性核外輸送によって核外へ除去され（⑤），核内膜の恒常性を維持していると考えられる．また，ハエ正常細胞における核内 RNP 複合体も，ESCRT-III を介した小胞媒介性核外輸送によって細胞質へ輸送される．

を迅速かつ効率的に阻害し，IL-1β の放出をほぼ完全に抑制することから，インフラマソームによる免疫応答も CTL 応答と同様，HSV 感染にとってのアキレス腱であることが示唆される．この様に，生体レベルにおいて実効性のある HSV 免疫回避機構の研究は，HSV の増殖・病態発現機構の理解に貢献するだけでなく，HSV 感染で誘導される多様な免疫反応の中で，真に HSV 感染を抑制できる免疫反応の解明，すなわち，未だ実現していない HSV ワクチンの開発に繋がると考えられる．

VII. HSV 脳炎発症防御に重要な TLR3 応答の分子機構の解明

HSV 脳炎は，基本的には散発性に発生するが，家族集積性が認められる家系が報告され，再発を繰り返す症例があることから，何らかの遺伝的要因が関与していると示唆されてきた．実際，ヒトの遺伝学的解析により TLR3 (Toll Like Receptor 3) およびその下流のシグナル分子の機能低下遺伝子変異が，HSV 脳炎の感受性を高めることが報告されている[21, 22]．つまり，TLR3 応答は，ヒトにおいて HSV 脳炎の発症を抑制することが証明されている重要な免疫応答である．しかし，HSV 感染における TLR3 応答の詳細な分子機構は不明であった．東京大学医科学研究所感染遺伝学分野・三宅教授，佐藤特任助教の研究グループと我々は，HSV の脳感染における TLR3 応答のマスター制御因子が，代謝センサーである mTORC2 であることを明らかにした[23]．具体的には，(i) HSV が感染すると mTORC2 が活性化され，TLR3 にリクルートされる；(ii) 活性化された mTORC2 は，下流のシグナル因子である PKC (protein kinase C) を介して微小管を細胞辺縁へと伸長させる；(iii) TLR3 は，小胞輸送の制御因子である Rab7a と会合し，微小管上を核周囲から細胞辺縁へと輸送される；(iv) 細胞辺縁に輸送された TLR3 は，I 型インターフェロン (IFN: interferon) 産生に必要な TRAF3 や mTORC1 といったシグナル分子をリクルートし，I 型 IFN を誘導する；ことが明らかになった（**図3**）．また，マウス HSV 脳炎モデルにおいて，TLR3 は I 型 IFN の誘導と脳炎抑制に重要であることを確認した上で，mTORC のコンポーネントである mTOR の阻害剤が脳炎を TLR3 依存的に増悪し，逆に，TLR3 応答を亢進する単クローン抗体で脳炎が有意に抑制された．以上より，TLR-3-mTORC2 経路は，生体レベルにおいても HSV 脳炎の発症防御に寄与することが明らかになった[23]．TLR3 応答やその制御機構は，上記 CTL 応答と共に，HSV 脳炎の新しい治療法の開発標的となると考えられる．

VIII. HSV ヌクレオカプシドのユニークな核外輸送機構の解明

近年まで，正常真核細胞における核内から細胞質へのタ

ンパク質の輸送機構としては，核膜孔を介する核外輸送機構のみが知られていた．HSV を含むヘルペスウイルスは，核内でゲノム DNA を複製し，カプシドへパッケージングする．そして，DNA を格納したヌクレオカプシドは，最終的なウイルス粒子形成の場である細胞質に核外輸送される．しかし，HSV のヌクレオカプシドは，核膜孔の通過許容サイズを超えているため，核膜孔を通過することができない．よって，核内の HSV ヌクレオカプシドは，小胞媒介性核外輸送と呼ばれる生物学上極めてユニークな機構で細胞質に輸送される．つまり，ヌクレオカプシドは核内膜をエンベロープとして被ることによって核内膜から核内外膜腔に一旦出芽し (primary envelopment)，その後，エンベロープと核外膜が融合することで，ヌクレオカプシドが細胞質へ放出される (de-envelopment)（**図 4A**）．このヌクレオカプシドの小胞媒介性核外輸送は，長い間，ヘルペスウイルス感染に特異的であると考えられてきた. しかし，2012 年にハエの正常細胞において，核内の巨大リボ核酸タンパク質複合体 (RNP: ribonucleoprotein complex) が小胞媒介性核外輸送で細胞質に輸送されることが Cell 誌に報告された [24]．この報告は，小胞媒介性核外輸送が，本来細胞に備わっている機構であり，ヘルペスウイルスはこの核外輸送機構を活性化・ハイジャックすることで核内ヌクレオカプシドの細胞質への輸送を達成していることを示唆していた.

HSV ヌクレオカプシドの小胞媒介性核外輸送の第一ステップである‘primary envelopment’では，ヌクレオカプシドが核内膜にアクセスするために，核内膜の内側を覆っている核ラミナが除去され，さらに，出芽のためにヌクレオカプシドを覆うように核内膜の湾曲とそれに引き続く膜の切断が引き起こされる必要がある（**図 4A**）．核ラミナは，核内膜に局在する HSV UL34/UL31 複合体が宿主の PKC を核内膜にリクルートし，Lamin がリン酸化・脱重合されることによって除去されると考えられている [25]．核内膜の湾曲は, 同じく UL34/UL31 が 6 量体を形成し, さらに, 膜状で格子状の高次構造を形成することによって核内膜の湾曲が引き起こされるというモデルが提唱されている [26]．一方，出芽の最終段階である「核内膜の切断」のメカニズムは不明であった.

我々は，細胞外小胞や多胞体の形成，細胞質分裂，HIV やエボラウイルスの出芽等，様々な細胞質膜を切断する宿主細胞機構 ESCRT-III [27] に着目した．長い間，ESCRT-III は細胞質で機能すると考えられてきたが，2014 年から 2016 年にかけて，細胞分裂時の核膜の再構築，核膜孔タンパク質複合体の品質管理，物理的核膜損傷後の修復等，ESCRT-III の核内での機能が，Cell, Nature, Science 誌に相次いで報告された [28-32]．しかし，ESCRT-III が核内で膜を切断するという事象は報告されていなかった. 我々は，HSV UL34/UL31 が ESCRT-III のアダプタータンパク質である ALIX と相互作用することで，ESCRT-III の実行因子である CHMP4B を核内膜にリクルートし，‘primary envelopment’の最終段階である膜の切断が行われることを明らかにした（**図 4A**）．また，ハエ細胞における RNP の小胞性核外輸送にも ESCRT-III が寄与していることが明らかになった [33].

興味深いことに，ヒト細胞において CHMP4B または ALIX を欠損させると核内膜の異常な過形成が観察された [33]．つまり，ESCRT-III は核内膜の恒常性維持に貢献していることが考えられた．核内膜関連タンパク質である LaminA/C や Emerin をコードする遺伝子に変異が導入されると，当該異常タンパク質が核内膜に蓄積することによって核内膜の過形成が誘導され，Hutchinson-Gilford 早老症や Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィー症に代表される多くの遺伝病を発症すると考えられている [34-36]. つまり，核内膜の恒常性の維持は，生体恒常性にも大きく関わっており，その破綻は疾患の発症に結びつくと考えられる．また，LaminA/C や Emerin を過剰発現すると核内膜の過形成を誘導することが報告されていることから，正常細胞において，何らかの原因で蓄積した核内膜関連タンパク質とそれに伴う核内膜の過形成を，ESCRT-III が小胞媒介性核外輸送によって細胞質へと除去し，核内膜の恒常性を維持していることが示唆される（**図 4B**）.

以上より，核内膜の恒常性維持や高分子複合体の核外輸送のため，宿主細胞に本来備わっている小胞媒介性核外輸送機構を，HSV は UL34/UL31 を基軸とし，他の HSV 因子や宿主因子 [37-43] と共に活性化・ハイジャックし，ヌクレオカプシドの効率的な核外輸送を達成していると考えられる．我々の知見は，単に HSV のヌクレオカプシドの核外輸送機構を解明しただけでなく，ウイルス研究から，宿主細胞に本来備わっているユニークな小胞媒介性核外輸送の分子機構とその潜在的な意義を解明したもので，HSV 感染症のみならず，核内膜の恒常性破綻に起因する遺伝性疾患の病態発現機構の解明と治療法の開発に繋がる可能性を秘めている.

おわりに

HSV 研究の特徴としては，(i) 様々な培養細胞で効率的に増殖し，ヒトの多様な病態を容易に再現できるマウスモデルが存在する；(ii) 100 年近くの研究の歴史があり，多くの研究知見の蓄積がある；(iii) HSV の医学的利用として，腫瘍溶解性 HSV が既に上市され，臨床で癌の治療に使用されている；等が挙げられる．実はこれらの特徴を満たしているヒト病原性ウイルスは意外にも少ない．また，現在でも全世界的なアンメット・メディカルニーズが高いという事実を考え合わせると，「意義のある基礎医学研究をしている」というモチベーションを維持しながら，最先端かつ多面的なウイルス研究を推進可能であり，興味は尽きな

い．一方，HSV感染症は，「長い間，恒常的に問題となっている」という理由で，世間一般の話題になることは少なく，近年の新興・再興感染症と比較すると，ともすればその重要性が忘れられがちである．しかし，話題にならないことと，重要性が低いことは，科学において同意義では無い．話題性のみにとらわれず，アンメット・メディカルニーズを正確に分析することによってその重要性を冷静に見極め，質の高い研究を持続的に推進することが，感染症の基礎医学研究に求められていることではないだろうか．

謝辞

本誌編集委員長である長谷川秀樹先生から，我々の研究グループの最近の知見について総説を執筆して欲しいとご依頼を受けた．長谷川先生のご指示に従い，本総説では，HSV基礎研究の最新の進展に関して，僭越ながら我々の知見に基づき概説した．長谷川先生には執筆の機会をお与えいただき感謝申し上げる．

利益相反開示について

本稿に関連し，開示すべき利益相反関係にある企業等はない．

参考文献

1）Beauman JG. 2005. Genital herpes: a review. Am Fam Physician 72:1527-1534.
2）Knipe DM, Cliffe A. 2008. Chromatin control of herpes simplex virus lytic and latent infection. Nat Rev Microbiol 6:211-221.
3）［単純ヘルペス脳炎診断ガイドライン］作成委員会．2017. 単純ヘルペス脳炎の転帰・後遺症．単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン 2017, 南江堂 6-14.
4）川島眞．2013. 再発型単純疱疹患者の患者背景およびQOLに関するアンケート調査．臨床医薬 29: 137-149.
5）Fruh K, Ahn K, Djaballah H, Sempe P, van Endert PM, Tampe R, Peterson PA, Yang Y. 1995. A viral inhibitor of peptide transporters for antigen presentation. Nature 375:415-418.
6）Hill A, Jugovic P, York I, Russ G, Bennink J, Yewdell J, Ploegh H, Johnson D. 1995. Herpes simplex virus turns off the TAP to evade host immunity. Nature 375:411-415.
7）York IA, Roop C, Andrews DW, Riddell SR, Graham FL, Johnson DC. 1994. A cytosolic herpes simplex virus protein inhibits antigen presentation to CD8+ T lymphocytes. Cell 77:525-535.
8）Tigges MA, Leng S, Johnson DC, Burke RL. 1996. Human herpes simplex virus (HSV)-specific CD8+ CTL clones recognize HSV-2-infected fibroblasts after treatment with IFN-gamma or when virion host shutoff functions are disabled. J Immunol 156:3901-3910.
9）Murphy JA, Duerst RJ, Smith TJ, Morrison LA. 2003. Herpes simplex virus type 2 virion host shutoff protein regulates alpha/beta interferon but not adaptive immune responses during primary infection in vivo. J Virol 77: 9337-9345.
10）Kato A, Kawaguchi Y. 2018. Us3 Protein Kinase Encoded by HSV: The Precise Function and Mechanism on Viral Life Cycle. Adv Exp Med Biol 1045:45-62.
11）Koyanagi N, Imai T, Shindo K, Sato A, Fujii W, Ichinohe T, Takemura N, Kakuta S, Uematsu S, Kiyono H, Maruzuru Y, Arii J, Kato A, Kawaguchi Y. 2017. Herpes simplex virus-1 evasion of CD8+ T cell accumulation contributes to viral encephalitis. J Clin Invest 127: 3784-3795.
12）Kato A, Arii J, Shiratori I, Akashi H, Arase H, Kawaguchi Y. 2009. Herpes Simplex Virus 1 Protein Kinase Us3 Phosphorylates Viral Envelope Glycoprotein B and Regulates Its Expression on the Cell Surface. J Virol 83:250-261.
13）Imai T, Sagou K, Arii J, Kawaguchi Y. 2010. Effects of phosphorylation of herpes simplex virus 1 envelope glycoprotein B by Us3 kinase in vivo and in vitro. J Virol 84:153-162.
14）Imai T, Arii J, Minowa A, Kakimoto A, Koyanagi N, Kato A, Kawaguchi Y. 2011. Role of the herpes simplex virus 1 Us3 kinase phosphorylation site and endocytosis motifs in the intracellular transport and neurovirulence of envelope glycoprotein B. J Virol 85:5003-5015.
15）Imai T, Koyanagi N, Ogawa R, Shindo K, Suenaga T, Sato A, Arii J, Kato A, Kiyono H, Arase H, Kawaguchi Y. 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.
16）Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. 2013. The interleukin-1 family: back to the future. Immunity 39:1003-1018.
17）Vanaja SK, Rathinam VA, Fitzgerald KA. 2015. Mechanisms of inflammasome activation: recent advances and novel insights. Trends Cell Biol 25:308-315.
18）Rathinam VA, Jiang Z, Waggoner SN, Sharma S, Cole LE, Waggoner L, Vanaja SK, Monks BG, Ganesan S, Latz E, Hornung V, Vogel SN, Szomolanyi-Tsuda E, Fitzgerald KA. 2010. The AIM2 inflammasome is essential for host defense against cytosolic bacteria and DNA viruses. Nat Immunol 11:395-402.
19）Maruzuru Y, Ichinohe T, Sato R, Miyake K, Okano T, Suzuki T, Koshiba T, Koyanagi N, Tsuda S, Watanabe M, Arii J, Kato A, Kawaguchi Y. 2018. Herpes Simplex Virus 1 VP22 Inhibits AIM2-Dependent Inflammasome Activation to Enable Efficient Viral Replication. Cell Host Microbe 23:254-265 e257.
20）Tanaka M, Kato A, Satoh Y, Ide T, Sagou K, Kimura K, Hasegawa H, Kawaguchi Y. 2012. Herpes simplex virus 1 VP22 regulates translocation of multiple viral and cellular proteins and promotes neurovirulence. J Virol 86:5264-5277.
21）Zhang SY, Casanova JL. 2015. Inborn errors underlying herpes simplex encephalitis: From TLR3 to IRF3. J Exp Med 212:1342-1343.
22）Zhang SY, Jouanguy E, Sancho-Shimizu V, von Bernuth H, Yang K, Abel L, Picard C, Puel A, Casanova

JL. 2007. Human Toll-like receptor-dependent induction of interferons in protective immunity to viruses. Immunol Rev 220:225-236.
23) Sato R*, Kato A*, Chimura T, Saitoh SI, Shibata T, Murakami Y, Fukui R, Liu K, Zhang Y, Arii J, Sun-Wada GH, Wada Y, Ikenoue T, Barber GN, Manabe T, Kawaguchi Y**, Miyake K**. 2018. Combating herpesvirus encephalitis by potentiating a TLR3-mTORC2 axis. Nat Immunol 19:1071-1082. *Co-first authors, **Co-corresponding authors.
24) Speese SD, Ashley J, Jokhi V, Nunnari J, Barria R, Li Y, Ataman B, Koon A, Chang YT, Li Q, Moore MJ, Budnik V. 2012. Nuclear envelope budding enables large ribonucleoprotein particle export during synaptic Wnt signaling. Cell 149:832-846.
25) Muranyi W, Haas J, Wagner M, Krohne G, Koszinowski UH. 2002. Cytomegalovirus recruitment of cellular kinases to dissolve the nuclear lamina. Science 297:854-857.
26) Hagen C, Dent KC, Zeev-Ben-Mordehai T, Grange M, Bosse JB, Whittle C, Klupp BG, Siebert CA, Vasishtan D, Bauerlein FJ, Cheleski J, Werner S, Guttmann P, Rehbein S, Henzler K, Demmerle J, Adler B, Koszinowski U, Schermelleh L, Schneider G, Enquist LW, Plitzko JM, Mettenleiter TC, Grunewald K. 2015. Structural Basis of Vesicle Formation at the Inner Nuclear Membrane. Cell 163:1692-1701.
27) McCullough J, Colf LA, Sundquist WI. 2013. Membrane fission reactions of the mammalian ESCRT pathway. Annu Rev Biochem 82:663-692.
28) Olmos Y, Hodgson L, Mantell J, Verkade P, Carlton JG. 2015. ESCRT-III controls nuclear envelope reformation. Nature 522:236-239.
29) Vietri M, Schink KO, Campsteijn C, Wegner CS, Schultz SW, Christ L, Thoresen SB, Brech A, Raiborg C, Stenmark H. 2015. Spastin and ESCRT-III coordinate mitotic spindle disassembly and nuclear envelope sealing. Nature 522:231-235.
30) Webster BM, Colombi P, Jager J, Lusk CP. 2014. Surveillance of nuclear pore complex assembly by ESCRT-III/Vps4. Cell 159:388-401.
31) Raab M, Gentili M, de Belly H, Thiam HR, Vargas P, Jimenez AJ, Lautenschlaeger F, Voituriez R, Lennon-Dumenil AM, Manel N, Piel M. 2016. ESCRT III repairs nuclear envelope ruptures during cell migration to limit DNA damage and cell death. Science 352:359-362.
32) Denais CM, Gilbert RM, Isermann P, McGregor AL, te Lindert M, Weigelin B, Davidson PM, Friedl P, Wolf K, Lammerding J. 2016. Nuclear envelope rupture and repair during cancer cell migration. Science 352:353-358.
33) Arii J, Watanabe M, Maeda F, Tokai-Nishizumi N, Chihara T, Miura M, Maruzuru Y, Koyanagi N, Kato A, Kawaguchi Y. 2018. ESCRT-III mediates budding across the inner nuclear membrane and regulates its integrity. Nat Commun 9:3379.
34) Schreiber KH, Kennedy BK. 2013. When lamins go bad: nuclear structure and disease. Cell 152:1365-1375.
35) McClintock D, Gordon LB, Djabali K. 2006. Hutchinson-Gilford progeria mutant lamin A primarily targets human vascular cells as detected by an anti-Lamin A G608G antibody. Proc Natl Acad Sci U S A 103:2154-2159.
36) Goldman RD, Shumaker DK, Erdos MR, Eriksson M, Goldman AE, Gordon LB, Gruenbaum Y, Khuon S, Mendez M, Varga R, Collins FS. 2004. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Proc Natl Acad Sci U S A 101:8963-8968.
37) Maruzuru Y, Shindo K, Liu Z, Oyama M, Kozuka-Hata H, Arii J, Kato A, Kawaguchi Y. 2014. Role of herpes simplex virus 1 immediate early protein ICP22 in viral nuclear egress. J Virol 88:7445-7454.
38) Liu Z, Kato A, Oyama M, Kozuka-Hata H, Arii J, Kawaguchi Y. 2015. Role of Host Cell p32 in Herpes Simplex Virus 1 De-Envelopment during Viral Nuclear Egress. J Virol 89:8982-8998.
39) Liu Z, Kato A, Shindo K, Noda T, Sagara H, Kawaoka Y, Arii J, Kawaguchi Y. 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.
40) Hirohata Y, Arii J, Liu Z, Shindo K, Oyama M, Kozuka-Hata H, Sagara H, Kato A, Kawaguchi Y. 2015. Herpes Simplex Virus 1 Recruits CD98 Heavy Chain and beta1 Integrin to the Nuclear Membrane for Viral De-Envelopment. J Virol 89:7799-7812.
41) Shindo K, Kato A, Koyanagi N, Sagara H, Arii J, Kawaguchi Y. 2016. Characterization of a Herpes Simplex Virus 1 (HSV-1) Chimera in Which the Us3 Protein Kinase Gene Is Replaced with the HSV-2 Us3 Gene. J Virol 90:457-473.
42) Maeda F, Arii J, Hirohata Y, Maruzuru Y, Koyanagi N, Kato A, Kawaguchi Y. 2017. Herpes Simplex Virus 1 UL34 Protein Regulates the Global Architecture of the Endoplasmic Reticulum in Infected Cells. J Virol 91:e00271-17.
43) Farnsworth A, Wisner TW, Webb M, Roller R, Cohen G, Eisenberg R, Johnson DC. 2007. Herpes simplex virus glycoproteins gB and gH function in fusion between the virion envelope and the outer nuclear membrane. Proc Natl Acad Sci U S A 104:10187-10192.

〔ウイルス　第68巻　第2号，pp.115-124，2018〕

Recent Advances in Basic Research on the Herpes Simplex Virus

Yasushi KAWAGUCHI

Division of Molecular Virology,
Department of Microbiology and Immunology,
The Institute of Medical Science,
The University of Tokyo
4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan

Herpes simplex virus (HSV) is one of the most extensively studied members of the family *Herpesviridae* and causes various human mucocutaneous diseases, such as herpes labialis, genital herpes, herpes whitlow, and keratitis. HSV also causes herpes simplex encephalitis, which can be lethal or result in severe neurological conditions in a significant fractions of cases, even with anti-viral therapy. Thus, despite the development of several anti-herpetic drugs, numerous substantial unmet medical needs exist with regards to HSV infections. Furthermore, genital herpes infections increase the likelihood of HIV infections and its transmission by 2- to 4-fold. This review discusses recent advances in basic research on HSV, primarily focusing on our recent studies, and the implications of our findings for the development of novel therapeutic and prophylactic agents for HSV infections.