

荒瀬 尚  
大阪大学微生物病研究所・教授

## ペア型レセプターを標的とした免疫・感染制御技術の開発

### §1. 研究実施の概要

ペア型レセプターは、活性化と抑制化レセプターから成る一連のレセプター群であり、免疫細胞に広く発現し、免疫応答の制御に重要な機能を担っている。抑制化ペア型レセプターは自己抗原を認識し、免疫細胞の自己応答性を抑制しているのに対し、活性化ペア型レセプターは、病原体等の異物を認識することにより、免疫制御や生体防御に重要な機能を担っていると考えられる。そこで、本研究では、一連のペア型レセプター群のリガンド認識機構および免疫病や感染症等における機能を解明することを目的に研究を実施した。我々は今までにペア型レセプターの一つである PILR が単純ヘルペスウイルスの Glycoprotein B と会合し、Siglec-4 (Myelin associated glycoprotein) が、水痘帯状疱疹ウイルスの Glycoprotein B と会合し、これらのウイルス感染の際の膜融合に関与していることを明らかにしてきた。本年度は、これらの相互作用の構造学的な会合様式を明らかにするとともに、ペア型レセプターと会合しない変異ウイルスを用いてこれらの相互作用の機能解明を行った。さらに、ペア型レセプターのリガンド認識機構を研究することにより、ペア型レセプターの新たなリガンド分子を同定した。

### §2. 研究実施体制

#### (1)「荒瀬」グループ

- ① 研究分担グループ長: 荒瀬 尚 (大阪大学微生物病研究所、教授) (研究代表者)
- ② 研究項目
  - ・ ペア型レセプターと病原体との相互作用の機能解析
  - ・ ペア型レセプターと宿主分子との相互作用の機能解析

#### (2)「前仲」グループ

- ① 研究分担グループ長: 前仲 勝実 (北海道大学大学院薬学研究院、教授) (主たる共同研究者)
- ② 研究項目
  - ・ ペア型受容体—リガンド複合体の解析
  - ・ PILR/Siglec-リガンド複合体の結晶解析と改良

### §3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

NK細胞やマクロファージ等の特異的抗原認識機構を持たないリンパ球は、自己の細胞を識別するために、MHCクラスI抗原等の自己抗原を認識する抑制化レセプターを用いて自己応答性を抑制する。ところが、持続感染する病原体には、抑制化ペア型レセプターのリガンドを獲得することにより、免疫システムから逃避するものがある。一方、活性化ペア型レセプターは、抑制化レセプターに対する病原体リガンドを認識することにより、宿主の感染抵抗性に関与する。これらのことから、ペア型レセプターは、自己に対する応答性を制御すると同時に、病原体とともに進化してきた生体防御分子ではないかと考えられる。実際、ウイルスの中にはMHC類似分子を含めて様々な宿主類似分子が存在し、それらはペア型レセプターであるNK細胞レセプター等に認識される。また、NK細胞レセプターばかりでなく免疫細胞に広く発現するペア型レセプターも存在し、免疫応答の制御に関与していると考えられる。

我々は、いままでに、ほとんど全ての哺乳動物に保存されており、ある種の樹状細胞やマクロファージ等に発現しているペア型レセプターとしてPILRを明らかにしてきた。さらに、PILRの宿主リガンドを検索することにより、PILRがCD99を認識し、免疫制御に関与していることを明らかにした。抑制化レセプターは免疫応答の制御に重要な機能を担っている一方、病原体の中には抑制化レセプターを利用して病原体に対する免疫応答を抑制するものが知られている。PILRは哺乳動物に幅広く存在するペア型抑制化レセプターであり、抑制化PILRが病原体の免疫逃避に利用されている可能性が考えられる。実際、今までの研究によりPILRは単純ヘルペスウイルスのエンベロープ分子Glycoprotein B (gB)と特異的に会合し、免疫応答を抑制するのに利用されるばかりでなく、PILRとgBの相互作用が単純ヘルペスウイルスの細胞内侵入時の膜融合に関与することが明らかになった。そこで、PILRと相互作用しない変異gBを持った単純ヘルペスウイルスを作製することにより、PILRとの相互作用がウイルスの病原性に重要であることを示した(文献1)。さらに、PILR陰性の感染感受性細胞から、gBに対する新たなレセプターとしてnon-muscle myosin heavy chain IIAの同定に成功した(文献2)。また、gBに対する種々のペア型レセプターについてウイルス分子との相互作用を検索することにより、水痘・帯状疱疹ウイルスのgBとペア型レセプターの一つであるSiglec family分子、Siglec-4 (Myelin associated glycoprotein)とが会合し、水痘帯状疱疹ウイルスの感染時の膜融合に関与していることを見だし、水痘帯状疱疹ウイルス感染の分子機構を初めて解明したが、さらに、Siglec-4ばかりでなくSiglec-7も水痘帯状疱疹ウイルスのgBと会合することによってウイルスのエントリーに関与することが明らかになった。これらの研究によりヘルペスウイルス科の感染にはgBに対するレセプターが重要であることが明らかになったと同時に、ウイルス等の病原体は抑制化レセプターを用いて免疫応答を制御するばかりでなく、宿主細胞への感染そのものにも利用されていると考えられる。また、宿主リガンドについてもPILRの血清中の可溶性分子についても同定に成功し、現在免疫学的な機能を解析中である。そこで、さらにペア型レセプターと種々の病原体との相互作用の解明、および宿主分子との相互作用の解明を行い、感染症や免疫疾患の発症にペア型レセプターがどの様に関わっているかの解明を進める。

PILRの認識機構、および、PILRの制御法を開発するためにPILRの構造解析を行ってきた。その結果、昨年度におおよそ構造解析に成功したヒトPILR $\alpha$ とHSV-1 gBとの複合体の結晶構造を基に、本年度はリガンド分子の低分子化を目指した。PILR $\alpha$ がgBの糖とペプチドを同時認識することから、ペプチド領域を適切に短くした化合物について、Surface Plasmon Resonance (SPR) を利用したin vitro結合実験やHSV-1感染実験の阻害効果を検証した。その結果、この化合物は活性をある程度の低下が見られたものの、PILR $\alpha$ を介するHSV-1の感染を阻害できることを確かめることができた。これまで以上により詳細な認識の分子基盤がわかったので、さらなる化合物の設計に結びつくことが期待できる。さらに、低分子化した化合物とPILR $\alpha$ との複合体の結晶化にも成功しつつあり、来年度は継続して構造解析を遂行する予定である。

また、PILRと同じく免疫系細胞表面受容体であるSLAMを、麻疹ウイルスは表面受容体結合

H 蛋白質を利用して認識し、ヒト免疫細胞に感染する。このエントリーに重要な H 蛋白質と SLAM との複合体の結晶構造解析に成功し、2量体が対になって配置変化を伴うことによる新たなエントリー機構についての提唱を行った(文献3)。さらに麻疹ウイルスワクチンの有効性についても、これまでに我々が提唱してきた糖鎖による制御を確認することができた。

## §4. 成果発表等

### (4-1) 原著論文発表

#### ●論文詳細情報

1. Arii, J., Wang, J., Morimoto, T., Suenaga, T., Akashi, H., Arase, H., and Kawaguchi, Y. “A single-amino-acid substitution in herpes simplex virus 1 envelope glycoprotein B at a site required for binding to the paired immunoglobulin-like type 2 receptor alpha (PILR $\alpha$ ) abrogates PILR $\alpha$ -dependent viral entry and reduces pathogenesis”, *J. Virol.*, vol.84, No.20, pp.10773-10783, 2010 (DOI: 10.1128/JVI.01166-10)
2. Arii, J., Goto, H., Suenaga, T., Oyama, M., Kozika-Hata, H., Imai, T., Minowa, A., Akashi, H., Arase, H., Kawaoka, Y., and Kawaguchi, Y. “Non-muscle myosin IIA is a functional entry receptor for herpes simplex virus-1”, *Nature*, vol. 467, pp.859-862, 2010 (DOI: 10.1038/nature09420)
3. Hashiguchi, T., Ose, T., Kubota, M., Maita, N., Kamishikiryo, J., Maenaka K. and Yanagi, Y. “Structure of the measles virus hemagglutinin bound to its cellular receptor SLAM”, *Nature Structural & Molecular Biology*, vol.18, No.2, pp.135-141, 2011 (DOI: 10.1038/nsmb.1969)
4. Kogure, A., Shiratori, I., Wang, J., L. Lanier, L., Arase, H. “PANP is a novel *O*-glycosylated PILR $\alpha$  ligand expressed in neural tissues”, *Biochem Biophys Res Commun*, vol, 405, No.3, pp.428-433, 2011 (DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.01.047)