

戦略的創造研究推進事業
発展研究 (SORST)

研究終了報告書

研究課題「感染症を制御する特異的免疫レセプター
の解明」

研究期間：平成18年4月1日～
平成21年3月31日

荒瀬 尚

(大阪大学・微生物病研究所・教授)

1. 研究課題名

感染症を制御する特異的免疫レセプターの解明

2. 研究実施の概要

① 目的

本研究では、病原体と免疫細胞との相互作用を明らかにするために、免疫細胞の発現する種々の免疫制御レセプターによる病原体感染細胞の認識機構の解明を行った。特に、本研究では、活性化と抑制化レセプターから構成されるペア型レセプターが病原体とともに進化してきたのではないかという新たな仮説を立て、それに基づき研究を進めた。

② 方法

ペア型レセプターによる病原体認識機構を明らかにするために、種々の可溶性のペア型レセプターや我々の開発した NFAT-GFP レポーター細胞を用いて、それらが感染細胞や病原体を認識するかどうかについて解析を進めてきた。病原体を認識するレセプターに関しては、そのリガンドを質量分析、発現クローニング、マイクロアレイ等を用いて同定を試みた。さらに、免疫学的、微生物学的に病原体のペア型レセプターリガンド分子の機能解析を行った。

③ 結果

種々のウイルス感染細胞を解析することにより、単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) 感染細胞に、我々が解析を進めてきたペア型レセプター抑制化 PILR のリガンドが発現していることを見だし、さらに、PILR リガンドが HSV-1 のエンベロープ分子である Glycoprotein B であることを同定した。PILR の HSV-1 の感染における機能を解析することにより、PILR が HSV-1 のウイルスレセプターであることが明らかになった。以上より、抑制化レセプターを介して免疫応答を惹起せず細胞に侵入するという HSV-1 の新たな感染機構が明らかになった (Sato et al. *Cell* 2008)。さらに、PILR と HSV-1 との相互作用を阻害することによりヒト単球等に対する HSV-1 の感染を阻止することが可能であることを見いだした (特願 2007-005229)。一方、PILR の認識機構を解析すること

により、PILR はタンパク構造と糖鎖構造双方を認識する今までに例のない特殊なレセプターであることが明らかにした(Wang et al. *J. Immunol.* 2008)。また、Glycoprotein B は全てのヘルペスウイルスに共通のエンベロープ分子であることから、他のヘルペスウイルスの感染についても PILR および PILR 類似分子が感染に関与しているかどうかについて解析を進めた。その結果、ブタの単純ヘルペスウイルスである pseudorabies に関しても、PILR がエントリーに関与していることを明らかにした(Arii et al. *J. Virol.* 2009)。また、単純ヘルペスウイルスと同じアルファヘルペスウイルスに属する水痘帯状疱疹ウイルスに関して、PILR の関与を調べたところ、水痘帯状疱疹ウイルスの gB には PILR が会合しなかった。ところが、PILR と同様なペア型レセプターについて解析を進めたところ、神経系に特異的に発現している VZV gB Receptor (VgBR)が水痘帯状疱疹ウイルスの gB と会合することが判明し、さらに、VgBR と gB との相互作用が水痘帯状疱疹ウイルスの感染の際の膜融合に関与していることが判明した(特願 2008-009717, Suenaga et al. Submitted)。いままで、水痘帯状疱疹ウイルスの感染の際の膜融合に関与している分子は知られていなかったことから、本発見は、水痘帯状疱疹ウイルスの感染機構において非常に重要な知見である。以上より、免疫細胞の発現するペア型レセプターとウイルスとの相互作用の解析を進めることにより、ウイルス学において 20 年来明らかにされなかった単純ヘルペスウイルスや水痘帯状疱疹ウイルスの感染機構を解明することができた。

また、本研究によりマラリア原虫感染赤血球上に抑制化ペア型レセプターのリガンドが発現していることを見いだした。マラリア原虫のサブクローンの解析により、このペア型レセプターリガンドはマラリア原虫の *in vitro* での生存に必須ではなく、サブクローン間で多様性があることが判明した。マラリア原虫のペア型レセプターリガンドを解明することにより、マラリア原虫による免疫制御機構が明らかになると考えられた。以上のように、ペア型レセプターと病原体との相互作用を解析することにより、今までに全く明らかにされていなかった宿主病原体相互作用が明らかになると考えられた。

3. 研究構想

① 目標

病原体の免疫逃避機構や病原体に対する感染抵抗性機構の解明は、弱毒ワクチンやウイルス感染治療法の開発に重要である。そこで、本研究事業では、病原体がどのようにして免疫応答からの逃避機構を獲得したのか、逆に、免疫システムは、免疫逃避機構を獲得した病原体に対して、どのように抵抗性を獲得してきたのかの解明を目的とした。免疫細胞は自己に対する応答性を抑制するために種々の抑制化レセプターを発現している。興味深いことに、ウイルスの中には抑制化レセプターに対するリガンドを発現し免疫応答から逃避するものが存在する一方、免疫細胞は抑制化レセプターに高い相同性を持ち病原体リガンド特異的な活性化レセプターを発現し、宿主の感染抵抗性を担う(Arase et al. *Science* 2002)。従って、抑制化レセプターと活性化レセプターから成る“ペア型レセプター”による病原体の認識は、感染の抵抗性と密接な関連があり、“ペア型レセプター”が病原体とともに進化してきたレセプターではないかと言う新たな仮説を提唱した(Arase et al. *Rev. Med. Virol.* 2004)。ペア型レセプターには10種類以上あり、その中にはNK細胞レセプターのように20以上のレセプターから構成されるものもある。本研究では、我々の提唱した仮説に基づきペア型レセプターを介した病原体に対する免疫応答を解析し、新たな病原体と免疫細胞との相互作用の解明を目指した。さらに、その結果に基づき、新たな感染症の制御方法の開発を目標とした。

② 研究計画

本研究ではペア型レセプターに対する病原体のリガンド分子を同定することにより、新たな宿主病原体相互作用の解明を行った。宿主病原体相互作用を明らかにするために、種々のペア型レセプターのIg融合タンパクを作製し、病原体に対する結合を解析した。さらに、我々の開発したNFAT-GFPレポーター細胞に、ペア型レセプターを発現させ、細胞レベルでの相互作用の解明を行った。特に、Ig融合タンパクに関しては、申請者らの開発した多量体Ig融合タンパクを用いることにより、高感度にリガンド分子を検出することが可能になった。リガンドの認められた病原体に関しては、発現クローニング

法によってリガンド分子を同定すると共に、ペア型レセプターの Ig 融合タンパクを用いてリガンド分子を免疫沈降し、質量分析機によって同定した。

③ 進め方の概要

本研究では、病原体として、ウイルスばかりでなく、免疫応答と密接な関連があると思われるマラリア原虫等も含めた病原体を標的として研究を進めることを計画した。種々の可溶性ペア型レセプターおよび我々が開発した NFAT-GFP レポーター細胞 (Ohtsuka et al. *PNAS* 2002; Arase et al. *Science* 2002)等を用いて解析した結果、ウイルスばかりでなく、マラリア原虫等にもペア型レセプターのリガンドを発現し免疫応答を制御している可能性が本研究によって初めて明らかになった。そこで、病原体による免疫制御機構を明らかにするために、病原体リガンドの同定し、病原体による免疫逃避の分子機構の解明を行った。さらに、病原体による免疫逃避機構を制御することにより、効果的なワクチンの開発や感染症の治療法の開発を目指して研究をすすめた。

④ その後の新展開から生まれた目標

本研究の結果、我々が解明してきたペア型レセプターの一つである PILR に関して(Shiratori et al. *J. Exp. Med.* 2004)、単純ヘルペスウイルス I 型(HSV-1)のリガンドの同定に成功した。さらに、予想外にも PILR が単純ヘルペスウイルスのウイルスレセプターであり、PILR の機能を阻害することにより HSV-1 の細胞への感染そのものを阻害できることを明らかにした(Satoh et al. *Cell* 2008)。さらに、水痘帯状疱疹ウイルスの感染にも新たなペア型レセプターが重要な役割を担っていることが明らかになってきた(特願 2008-009717, Suenaga et al. Submitted)。実際、PILR のような抑制化レセプターを介して細胞に感染することは、細胞による免疫応答を抑制することができ、ウイルスの生存にとって好条件であると考えられる。この様に当初は病原体による免疫逃避機構の解明を目指し、その制御法を目指していたが、抑制化レセプターがウイルス感染そのものに重要な機能を担っていることが明らかになり、抑制化レセプター自体が病原体の感染そのものをコントロールするための非

常に重要な標的分子になり得ることが明らかになってきた。そこで、同様な抑制化レセプターを介して感染する他の病原体をさらに幅広く検索するとともに、感染症における抑制化レセプターの機能解明をすすめた。

4. 研究実施内容

(1)実施の内容

① 研究のねらい

本研究では、上記のように抑制化レセプターと活性化レセプターから構成される“ペア型レセプター”が病原体とともに進化してきたレセプターではないかという新たな仮説を立て、それに基づいてペア型レセプターを介した病原体の新たな免疫逃避機構や宿主の病原体抵抗性を解明することが目的である。さらに、病原体と免疫細胞の相互作用の制御法を開発し、感染症に対する新規ワクチン開発や新規治療法を開発することを最終目的にして研究を遂行する。

② 研究実施方法

本研究では、ペア型レセプターによる病原体の認識機構を明らかにするために種々のペア型レセプターの Ig キメラ分子や我々が開発した NFAT-GFP レポーター細胞(Ohtsuka et al. *PNAS* 2002, Arase et al. *Science* 2002)を用いて、それらの免疫レセプターがウイルスやマラリア原虫等の病原体の感染細胞や細菌等の病原体を認識するかどうかを解析した。さらに、ペア型レセプターが認識する病原体に関しては、以下の3種類の方法によって同定を試みた。

- a) 可溶性レセプター分子を用いてペア型レセプターが認識する病原体リガンド分子を免疫沈降し、質量分析機によって同定する。
- b) 感染細胞の cDNA ライブラリーを作製し、発現クローニングにより病原体リガンド分子を同定する。
- c) 病原体リガンド発現感染細胞と非発現細胞との間で遺伝子発現パターンの差をマイクロアレイを用いて解析し、病原体リガンドの候補分子を検索する。

ペア型レセプターの病原体リガンドの同定に成功した分子に関しては免疫学的、および微生物学的にどのような機能を持っているかを *in vitro* および *in vivo* で解析を進めた。また、本研究で明らかになったペア型レセプターと病原体との相互作用を制御することにより、感染症を制御するための新たな方法の開発を行った。

③ 研究結果

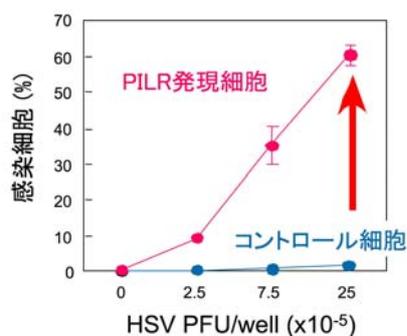
a) 抑制化 PILR を介した HSV-1 の感染機構の発見

単純ヘルペスウイルス I 型(HSV-1)等、種々のウイルス感染細胞を解析した結果、私どもが解明してきた抑制化 PILR (Shiratori et al. *J. Exp. Med.* 2004) のリガンドが HSV-1 感染細胞に発現することを見いだした。今まで、HSV-1 が免疫レセプターを介して免疫応答を制御する分子機構は知られていなかったが、HSV-1 感染細胞が抑制化 PILR リガンドを発現することから、HSV-1 もサイトメガロウイルス等と同様に、抑制化レセプターを介して免疫応答から逃避していると考えられた。

そこで、感染細胞の発現するヒト PILR リガンドを質量分析で同定すると、HSV-1 のエンベロープタンパクである Glycoprotein B であることが判明した。Glycoprotein B は HSV-1 の感染に必須の分子であるが、長年、どのような分子と会合し HSV-1 の感染に関与しているのか不明であった分子である。従って、Glycoprotein B と会

合することが明らかになった PILR は、HSV-1 の感染に関与している可能性が考えられた。そこで、HSV-1 抵抗性細胞に PILR を遺伝子導入し HSV-1 の感染を解析すると、HSV-1 に

PILRの発現細胞にヘルペスウイルスが感染する



PILR発現細胞はHSV-1に対して感染感受性を示す。

Satoh et al. *Cell* 2008

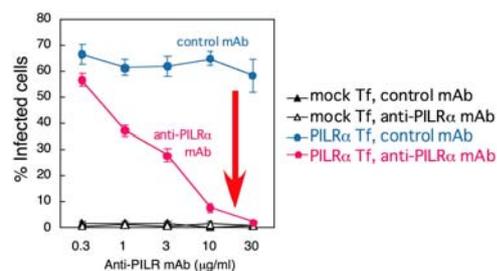
感受性になることが判明した。さらに、遺伝子導入細胞ばかりでなく、PILRを発現しているヒト抹消血の単球に対するHSV-1の感染を解析すると、PILR依存性にHSV-1が感染することが判明した(前頁図)。特に、PILR発現細胞に対するHSV-1の感染は抗PILR抗体、および可溶性PILRでほぼ完全に阻害されることが明らかになった(下図、Sato et al. *Cell* 2008)。

以上より、PILRはHSV-1のGlycoprotein Bと会合することによりHSV-1の感染に重要な機能を担っていることが判明した。抑制化PILRは、ほとんど全ての哺乳動物に認められる分子であり、樹状細胞、マクロファージ等に強く発現している。また、HSV-1は、樹状細胞に感染し、樹状細胞の機能を阻害する。従って、HSV-1は、抑制化PILRを介して抑制化シグナルを伝達することにより免疫細胞の活性化を不活化するばかりでなく、免疫応答に重要な機能を担っている樹状細胞等にPILRを介して直接感染してそれらの細胞機能を障害することにより、HSV-1に対する免疫応答の成立を阻害していると考えられた。

本研究により、ウイルスが抑制化レセプターを介して細胞に侵入する新たな感染経路が見つかり、免疫応答を抑えながらウイルスが細胞に侵入するという今までに全く知られていない新たなウイルス感染機構が明らかになった。また、PILRとHSV-1の相互作用を阻害することによりウイルス感染を阻害することができることから、PILRがHSV-1感染治療のための新たな標的分子になる(特願2007-005229、下図)。また、抑制化レセプターを介して宿主細胞へ侵入すると、

ウイルスに対する免疫応答を抑制することができウイルスの生存にとって好条件であることから、HSV-1以外のウイルスでも抑制化レセプターを介して宿主細胞に感染するウイル

抗PILR抗体によるHSV-1感染の阻害



PILR発現細胞に対するHSV-1の感染は抗PILR抗体で阻害される
Sato et al. *Cell* 2008

スが存在する可能性が考えられる。特に Glycoprotein B はヘルペスウイルスに共通なエンベロープ分子であることから、PILR を介した感染機構は他のヘルペスウイルスにも認められる可能性が考えられることから、種々のウイルスについても研究を進めた。

b) ヒト以外の単純ヘルペスウイルスの感染における抑制化 PILR を介した感染機構の解明

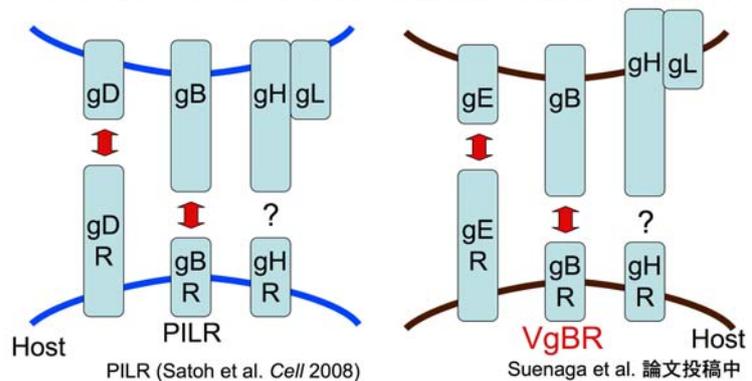
ヒト以外の種の単純ヘルペスウイルスに関して、HSV1 と同様な解析を行った。その結果、ブタの単純ヘルペスウイルスである pseudorabies の gB にも PILR が会合することが判明した。さらに、PILR 発現細胞に対する pseudorabies の感染を解析した結果、PILR が pseudorabies の感染時の膜融合に関与していることを見いだした(Arii et al. *J.Virol.* 2009)。このことから、PILR が種間を超えて単純ヘルペスウイルスの感染に関与しているエントリーレセプターであることが明らかになった。

c) 水痘帯状ヘルペスウイルスの感染機構の解明

単純ヘルペスウイルス以外のウイルスについて、PILR や PILR と同様なペア型レセプターがウイルス感染に関与しているかどうかを解析した。その結果、PILR と同じアルファヘルペスウイルスに属する水痘帯状疱疹ウイルスの gB には PILR が会合しなかった。ところが、PILR と同様なペア型レセプターについて解析を進めたところ、神経系に特異的に発現している VgBR が水痘帯状疱疹ウイルスの

gB と会合することが判明し、さらに、VgBR と gB との相互作用が水痘帯状疱疹ウイルスの感染の際の膜融合に関与していること

単純ヘルペスウイルス 水痘帯状疱疹ウイルス



PILR (Satoh et al. *Cell* 2008)

Suenaga et al. 論文投稿中

が判明した(特願 2008-009717, Suenaga et al. Submitted)。いままで、水痘帯状疱疹ウィルスの感染の際の膜融合に関与している分子は知られていなかったことから、本発見は、水痘帯状疱疹ウィルスの感染機構において非常に重要な知見である(前頁図)。

d) 抑制化ペア型レセプターを介した熱帯熱マラリア原虫の免疫制御機構の解明

熱帯熱マラリア原虫は、ウィルスと同様に感染赤血球表面に、種々の分子を発現することが知られている。しかし、感染赤血球の接着に関与する分子は知られているが、免疫細胞と相互作用し、免疫応答を制御する分子機構は知られていない。しかし、マラリア原虫のように感染経過が長い病原体はHSV-1等の様に免疫細胞の活性化を制御していると考えられる。そこで、ペア型レセプターの中にマラリア原虫感染赤血球を認識するレセプターが存在するのではないかと仮説を立て、30種類以上の可溶性ペア型レセプターを用いて、マラリア原虫感染赤血球上にリガンドが存在していないかどうかを解析した。その結果、抑制化ペア型レセプターの一つのリガンドが感染赤血球上に発現することが明らかになった。実際、我々の開発したマラリア原虫に対するペア型レセプターを発現するNFAT-GFPレポーター細胞で解析すると、我々の発見したペア型レセプターは細胞レベルでもマラリア原虫感染赤血球を特異的に認識することが明らかになった(Suenaga and Arase 未発表)。

そこで、マラリア原虫感染赤血球上に発現するペア型レセプターのリガンドの同定を免疫沈降法により試みたが、同定には成功しなかった。しかし、熱帯熱マラリア原虫 3D7 株のサブクローンからリガンドの陽性クローンおよび陰性クローンを採取することには成功したため、リガンド陽性クローンと陰性クローン間でマイクロアレイ解析を行った。その結果、リガンド陽性クローンと陰性クローン間で発現に差が認められる分子が認められ、現在これらの分子に関して解析を進めている。また、高感度なリガンド同定法も新たに開発したので、これらの新たな手法を用いてリガンド分子の同定を進める予定である。特に、リガンド陰性クローンも陽性クローンと同等な増殖を示すことから、マラリア原虫感染赤血球上に発現するペア型レセプターのリ

リガンド分子は、マラリア原虫の生存自体に必須分子ではないと考えられ、宿主との相互作用に重要な分子であると考えられる。マラリア原虫が、免疫系の制御分子と直接相互作用することは、今までに全く知られていない新知見であり、リガンド分子の同定に成功すれば、免疫学的にも寄生虫学的にも非常に重要な研究成果に発展すると思われた。このように、ウイルスばかりでなくマラリア原虫も、免疫細胞の発現している抑制性レセプターを標的にすることが明らかになり、抑制性ペア型レセプターは病原体が免疫応答から逃れるための標的分子として狙われやすいのではないかと考えられ、ペア型レセプターとの相互作用を解析することにより、新たな宿主病原体相互作用が解明されると考えられた。

(2)得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

① 新たな感染阻害剤の開発

現在、単純ヘルペスウイルスや水痘帯状疱疹ウイルスに対する抗ウイルス薬として、アシクロビルが多用されている。アシクロビルは、感染細胞に対して殺傷的に働く抗ウイルス薬である。従って、感染細胞に対しては、非常に有効であるが、感染そのものの広がりを防いだりすることはできない。特に、アシクロビルが使われてもヘルペス脳炎は重症であり、依然として多くの患者で死亡もしくは、重篤な後遺症が認められる。神経細胞は再生能がないため、一度感染して神経細胞が死滅すると、大きな神経障害になってしまう。従って、PILR と gB との阻害剤は、ウイルスの新たな感染を阻害するうえでも有用であると考えられる。つまり、アシクロビルの投与により、感染細胞は死滅するが、同時に PILR と gB との会合を阻害する物質を投与すれば、死滅した感染細胞から放出されるウイルスによる新たな感染を抑えることができ、重症化の阻止、および後遺症の減少を期待できる。現在、九州大学の前仲准教授との共同研究により、PILR の立体構造、および PILR と gB との認識部位が明らかになった(**Tabata et al. 論文執筆中、Tabata et al. *Acta. Cryst.* 2008**)。そこで、この PILR と gB との構造解析をもとに、より強力な阻害剤を同定できる可能性もあり、今後の研究として期待できる。また、本研究により、水痘帯状疱疹ウイルスに対するエントリー機構も明らかになったこと

から、HSVと同様に、水痘帯状疱疹ウイルスの感染阻害剤についても、解明することができるようになった。この様に、本研究により、ウイルス学的、免疫学的に重要な宿主病原体相互作用が明らかになったばかりでなく、単純ヘルペスウイルス感染症や水痘帯状疱疹ウイルス感染症等の難治性ウイルス疾患の新たな治療法の開発にも大きく貢献すると思われる。

② 新たな熱帯熱マラリア制御法の開発

上記のように、ウイルス以外の病原体との相互作用についても解析を進めた結果、熱帯熱マラリア原虫感染赤血球上に抑制化ペア型レセプターのリガンドが発現することを見いだした。さらに、熱帯熱マラリア原虫 3D7 株からリガンド陽性サブクローンとリガンド陰性サブクロンの採取に成功し、それらのクローン間でマイクロアレイ解析や質量分析を用いてリガンド候補分子を検索した。本研究期間内に、熱帯熱マラリア原虫感染赤血球表面に発現するペア型レセプターのリガンド分子の同定には成功することができなかったが、リガンド同定のための新たな技術開発を進めることができた。特に、マラリア原虫感染赤血球からリガンド分子を特異的に同定する方法として、ラベルトランスファー法を用いた非常に高感度なリガンド分子の同定方法を開発した。そこで、本手法と同位体元素を用いた定量解析方法を組み合わせることにより、リガンド陽性サブクローンからマラリア原虫のペア型レセプターリガンドを同定できることが期待される。現在、本手法を用いて、リガンド分子の同定を試みている。

本研究により、マラリア原虫の新たな免疫逃避機構が解明できれば、なぜ、マラリア原虫に抵抗性の患者と感受性の患者が存在するか等、ペア型レセプターとマラリア原虫との相互作用の面から解明できる可能性が考えられる。特に、ペア型レセプターには、遺伝子多型性が認められるものも存在することから、個人間のペア型レセプターの認識機構の差によって、マラリア原虫に対する抵抗性の分子メカニズムを解明できる可能性がある。また、マラリア原虫の感染抵抗性の分子メカニズムを解明できれば、ペア型レセプターを標的として、マラリア感染症制御法を解明できる可能性も考えられる。

以上より、ウイルスばかりでなく、マラリア原虫との相互作用の解析を進

めることにより、全く新たな、宿主病原体相互作用が明らかになってきた。今後、PILR の様な抑制化ペア型レセプターと病原体との相互作用の解析を進めることにより、いままで明らかになっていなかった新たな宿主病原体相互作用が解明されることが期待される。

5. 類似研究の国内外の研究動向・状況と本研究課題の位置づけ

ペア型レセプターは、現在まで種々の分子が同定されてきたが、それらが病原体の認識と関連づけて解析している研究グループは文献上我々以外に存在せず、ユニークな研究であると思われる。特に、本研究によりペア型レセプターPILR が HSV-1 の Glycoprotein B と会合するウィルスレセプターであることを発見したが、Glycoprotein B は HSV-1 の多くの研究者が長年解析しても、それが会合する分子を解明できなかった分子である。さらに、PILR と Glycoprotein B との会合を阻害することにより HSV-1 の感染を抑えられることを本研究により初めて明らかになった。また、水痘帯状疱疹ウィルスに関しても、膜融合に関与している分子を初めて同定した。従って、本研究は、国内外を通じて我々のみが行っている独創性の高い研究である。また、マラリア原虫に関しても、種々の分子が感染赤血球上に発現することが知られているが、免疫細胞の活性化を制御するような分子は知られておらず、本研究によって初めてマラリア原虫に免疫細胞を直接制御する分子機構が存在することが判明した。

本研究のように、免疫レセプター側から病原体を解析する研究は、国内外を通じて行われておらず独自性の高い研究であると同時に、病原体自体の研究にとっても非常に有用であることが判明した。特に単純ヘルペスウィルスや水痘帯状疱疹ウィルスの感染機構の解明のように病原体側の研究のみでは解明できなかった病原体の感染機構を、本研究の新たなアプローチによって解明されると思われる。

6. 研究実施体制

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
荒瀬 尚	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター	教授	研究全般・統括	平成18年4月～平成21年3月
佐藤毅史	大阪大学・微生物病研究所	助教	HSVの感染機構の解明	平成18年4月～平成21年2月
末永忠広	大阪大学・微生物病研究所	助教	VZVの感染機構の解明	平成18年4月～平成21年3月
上堀淳二	大阪大学・微生物病研究所	特任研究員	PILRの機能解析	平成18年4月～平成21年3月
王 静	大阪大学・微生物病研究所	JST研究補助員	HSV感染における糖鎖機能の解明	平成18年4月～平成19年3月
王 静	大阪大学医学研究科	特任研究員	HSV感染における糖鎖機能の解明	平成20年4月～平成21年3月
廣畑糧子	大阪大学・微生物病研究所	JST研究技術員	遺伝子クローニング、Igキメラ分子の作製	平成18年4月～平成20年3月
廣畑糧子	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター	技術職員	遺伝子クローニング、Igキメラ分子の作製	平成20年4月～平成21年3月
松本麻紀	大阪大学・微生物病研究所	JST研究技術員	遺伝子クローニング、Igキメラ分子の作製	平成18年4月～平成20年3月
松本麻紀	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター	技術職員	遺伝子クローニング、Igキメラ分子の作製	平成20年4月～平成21年3月

7. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

無し（さきがけタイプのSORSTでありワークショップ・シンポジウム等を開催する計画は当初より含まれていない）

(2) 招聘した研究者等

無し（外国人研究者を招聘することは当初より研究計画に含まれていない）

8. 発展研究による主な研究成果

(1)論文発表 (英文論文 11 件 邦文論文 0 件)

1. ○ Arii, J., Uema, M., Morimoto, T., Sagara, H., Akashi, H., Ono, E., Arase, H., Kawaguchi, Y. 2009 Entry of herpes simplex virus 1 and other alphaherpesviruses via the paired immunoglobulin-like type 2 receptor α . *J. Virol.* in press.
2. Orr, M. T., Sun, J. C., Hesslein, D. G. T., Arase, H., Phillips, J. H., Takai, T., and Lanier, L.L. 2009 Ly49H signaling through DAP10 is essential for optimal NK cell responses to mouse cytomegalovirus infection. *J. Exp. Med.* in press.
3. 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.
4. Liang S., Ristich, V., Arase, H., Dausset, J., Carosella, E. D. and Horuzsko, A. 2008. Modulation of dendritic cell differentiation by HLA-G and ILT4 requires the IL-6-STAT3 signaling pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:8357-8362.
5. Mizui, M., Shikina, T., Arase, H., Suzuki, K., Yasui, T., Rennert, P. D., Kumanogoh, A., and Kikutani, H. 2008. Bimodal regulation of T cell-mediated immune responses by TIM-4. *Int. Immunol* 20:695-708.
6. ○ Satoh, T., Arii, J., Suenaga, T., Wang, J., Kogure, A., Uehori, J., Arase, N., Shiratori, I., Tanaka, S., Kawaguchi, Y., Spear, P. G., Lanier, L.L. and Arase, H. 2008. PILR α is a herpes simplex virus-1 entry co-receptor that associates with glycoprotein B. *Cell* 132:935-944.
7. ○ Tabata, S., Kuroki, K., Wang, J., Kajikawa, M., Shiratori, I., Kohda, D., Arase, H. and Maenaka, K. 2008. Biophysical characterization of O-glycosylated CD99 recognition by paired Ig-like type 2 receptors (PILR) *J. Biol. Chem.* 283: 8893-8901.
8. ○ Wang, J., Shiratori, I., Satoh, T., Lanier, L. L., and Arase, H. 2008. An essential role of sialylated O-linked sugar chains in the recognition of mouse CD99 by paired immunoglobulin-like type 2 receptor (PILR). *J. Immunol.* 180:1686-1693.
9. ○ Tabata, S., Kuroki, K., Maita, N., Wang, J., Shiratori, I., Arase, H., Kohda, D., and Maenaka, K. 2008. Expression, crystallization and preliminary x-ray diffraction analysis of human paired Ig-like type 2 receptor α (PILR α). *Acta. Cryst.* 64:44-46.
10. Suenaga, T., Arase, H., Yamasaki, S., Kohno, M., Yokosuka, T., Takeuchi, A., Hattori, T., and Saito, T. 2007. Cloning of B-cell-specific tetramembrane spanning molecule BTS possessing B cell proliferation inhibitory function. *Eur. J. Immunol.* 37:3197-3207.
11. Shiroishi, M., Kuroki, K., Ose, T., Rasubala, L., Shiratori, I., Arase, H., Tsumoto, K., Kumagai, I., Kohda, D., Maenaka, K. 2006. Efficient leukocyte IG-like receptor signaling and crystal structure of disulfide-linked HLA-G dimer. *J. Biol. Chem.* 281:10439-10447.

(2)口頭発表

① 学会

国内 10 件, 海外 1 件

② その他

国内 5 件, 海外 0 件

(3)特許出願 (SORST 研究の成果に関わる特許)

- ① 荒瀬 尚、末永忠広：水痘帯状疱疹ウイルス感染阻害剤のスクリーニング方法
(特願 2008-009717)
- ② 荒瀬 尚、佐藤毅史、川口寧：ヘルペスウイルス感染阻害剤、ヘルペスウイルスの感染阻害方法およびその利用 (特願 2007-005229; WO 2008/084710)

	件数
国内出願	1
海外出願	1
計	2

(4)その他特記事項

発表論文 6 番は Cell 誌に掲載され、平成 20 年 3 月 21 日付の朝日新聞、日本経済新聞、産経新聞、時事通信、共同通信、科学新聞で報道されました。

9. 結び

PRESTO「生体と制御、竹田美文研究総括」および発展研究「吉田光昭研究総括」でそれぞれ 3 年間研究させて頂きました。その間、病原体と免疫との相互作用について、掘り下げて研究することができたと思います。本研究の 1 番の成果として今年の Cell 誌への発表がありますが、本研究費がなければ、このような研究を発展させることは不可能であったと言っても過言ではありません。PRESTO や CREST では、継続してまとまった研究費を使用することができるため、目先の研究成果のみにとらわれなく研究できるため、大変すぐれたシステムであると思っております。今後も、PRESTO や CREST のような研究費のシステムがますます発展してくれることを期待しております。