



## イオンチャネル様ウイルスタンパク質「ピロポリン」の機能発現機構を解明

### 研究成果のポイント

- ・ヒトの致死的神経難病「進行性多巣性白質脳症」を引き起こす JC ウイルスのピロポリンであるアグノプロテイン（アグノ）に結合する宿主タンパク質として Adaptor protein complex 3 の  $\delta$  サブユニット（AP3D）を同定。
- ・アグノと AP3D の結合がアグノのピロポリン活性を制御していることを発見し、その分子機構を解明。
- ・アグノと AP3D の結合を阻害することにより JC ウイルス感染を抑制することに成功。

### 研究成果の概要

悪性腫瘍や後天性免疫不全症候群（AIDS）などにより免疫力が低下した状態で発症する致死的神経難病「進行性多巣性白質脳症」の原因ウイルス、JC ウイルスのピロポリンであるアグノプロテイン（アグノ）に結合する宿主タンパク質として Adaptor protein complex 3 の  $\delta$  サブユニット（AP3D）を同定し、アグノが AP3D と結合することによりピロポリンとして機能することを発見しました。

さらに、アグノと AP3D の結合を阻害することにより JC ウイルス感染を抑制することに成功し、ピロポリンが JC ウイルス感染症治療の新たな標的と成り得ることを明らかにしました。ピロポリンを有する他のウイルスにも同様の機構が存在することが予想され、今後、様々なウイルスでピロポリンを標的とした新規抗ウイルス薬の開発が期待されます。

### 論文発表の概要

研究論文名：Viroporin activity of the JC polyomavirus is regulated by interactions with the adaptor protein complex 3 (JC ポリマーウイルスのピロポリン活性はアダプタータンパク質複合体 3 との相互作用により制御されている)

著者：氏名（所属）：鈴木忠樹<sup>(1)(2)</sup>、大場靖子<sup>(1)</sup>、牧野吉倫<sup>(1)</sup>、岡田由紀<sup>(3)</sup>、寸田祐嗣<sup>(4)</sup>、長谷川秀樹<sup>(2)</sup>、William W Hall<sup>(5)</sup>、澤 洋文<sup>(1)</sup>（<sup>(1)</sup>北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、<sup>(2)</sup>国立感染症研究所、<sup>(3)</sup>北海道大学大学院医学研究科、<sup>(4)</sup>北海道大学大学院獣医学研究科、<sup>(5)</sup>アイルランド ダブリン大学）

公表雑誌：Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America（米国科学アカデミー紀要）（2012 年度の雑誌の影響度を測る指標である impact factor が 9.737）

公表日：アメリカ東部時間 2013 年 10 月 28 日（月）

## 研究成果の概要

### (背景)

人間や動物に感染するウイルスの宿主細胞内での増殖過程には、宿主細胞への吸着、侵入、ウイルスゲノムの複製など様々なステップが存在します。ウイルスが宿主内で感染を拡大させていくためには、複製した子孫ウイルス粒子を感染細胞外へ放出する必要があります。ウイルスは、ウイルスゲノムを包むタンパク質の殻であるウイルスカプシドが脂質二重膜に覆われているエンベロープウイルスと、脂質二重膜を持たないノンエンベロープウイルスに分類されます。エンベロープウイルスは、ウイルス粒子が細胞外へ放出される時に、宿主の脂質二重膜からなる生体膜を被ったまま出芽することによりエンベロープを獲得します。この機構により、宿主の膜を物理的に破壊することなく効率良くウイルス粒子を細胞外へ放出することができると考えられています。一方、ノンエンベロープウイルスは、細胞内で増殖した子孫ウイルス粒子を細胞外へ放出するために宿主細胞の膜を破壊する必要があり、ウイルスの持つ特定のタンパク質が宿主細胞の膜透過性を亢進させ、膜の破綻および宿主細胞の破壊を誘導していると考えられています。

近年、イオンチャネル様の構造体を形成し、ウイルス粒子の細胞外放出過程に関わるウイルス膜タンパク質が様々なウイルスにおいて同定され、「Viroporin (ビロポリン)」と総称されています。ビロポリンは100アミノ酸残基程度からなる小さな膜タンパク質で、多量体化して脂質二重膜に細胞外と細胞内を交通させる「孔」を作ります。この「孔」がイオンや小分子の膜透過性を亢進させ、細胞内のpH、イオン濃度、および浸透圧等を変化させることにより宿主細胞膜の破綻を誘導し、その結果としてウイルス粒子が細胞外に放出されると考えられています。しかしながら、本来、細胞には細胞内イオン濃度や浸透圧の恒常性を維持するために様々な制御機構が存在しており、ビロポリンがどのようにこれらの制御機構を破綻させ、最終的に宿主細胞の破壊を誘導するかについては、ほとんど分かっていませんでした。

私たちの研究グループは長年、悪性腫瘍や後天性免疫不全症候群(AIDS)などにより免疫力が低下した状態で発症する致死的神経難病である「進行性多巣性白質脳症 (Progressive Multifocal Leukoencephalopathy : PML)」という病気の研究をしてきました。この病気はエンベロープを持たないポリオーマウイルスに属するJCウイルスによる感染症であることが30年以上前に分かっていましたが、発症機序に不明な点が多く、未だに特異的な治療法は開発されていません。PMLは、JCウイルスがヒト中枢神経内の髄鞘形成細胞であるオリゴデンドログリア細胞に感染し、この細胞を破壊することにより引き起こされますが、ノンエンベロープウイルスであるJCウイルスはウイルス粒子放出時に宿主細胞を破壊することから、JCウイルスのウイルス粒子放出過程はウイルスの増殖だけでなくPMLの病態の形成に直接的に関わっていると考えられます。すなわち、ウイルス粒子放出過程の分子機構を解明することにより、PMLの病態形成機構を明らかにすることができ、新規予防法・治療法の開発につながるものが予想されます。そこで、私たちは、宿主細胞内でのウイルス粒子形成と放出に焦点を当て、その分子機構を解明することを目標に研究を進めており、この研究の過程で、JCウイルスのコードするアグノプロテイン (アグノ) が子孫ウイルス粒子放出を担うビロポリンであることを発見しました。

### (研究手法)

本研究では、宿主細胞内におけるビロポリンと宿主因子の相互作用を明らかにする目的で酵母ツーハイブリッドシステムを用いてアグノに結合する宿主因子の探索を行いました。同定した宿主因子と

の相互作用について分子生物学および生化学的手法を用いて詳細に解析し、さらに、この相互作用が宿主細胞やウイルス感染に及ぼす影響について細胞生物学的手法を用いて解析しました。

#### (研究成果)

本研究の結果、アグノのピロポリン活性に必須の宿主因子として Adaptor protein complex 3 の  $\delta$  サブユニット (AP3D) を同定しました。アグノは、AP3D と直接結合することにより、細胞内小胞輸送系を阻害し、アグノ自身がリソソームに輸送され分解されることを抑制していました。その結果、アグノはピロポリンとして機能する場である形質膜上へ移動することが可能となり、ピロポリンとしての機能を発揮していることが明らかになりました。さらに、得られた結果に基づいて、アグノと AP3D の相互作用を阻害するタンパク質を設計し、感染細胞内にこのタンパク質を発現させたところ、ウイルス粒子の細胞外放出は抑制され、最終的にウイルス感染を抑制することに成功しました。

#### (今後への期待)

私たちの発見により、JC ウイルスの作るイオンチャネル様タンパク質「ピロポリン」が機能するためには、細胞膜上に「孔」を形成することだけでなく、特定の宿主因子と直接的に相互作用することが必要不可欠であることが明らかになりました。さらに、ピロポリンと宿主因子との特異的な相互作用は JC ウイルス感染症治療薬の新たな標的となる可能性が示されました。本機構はピロポリンを有する他のウイルスにも存在することが予想されることから、今後、様々なウイルスでピロポリンを標的とした新規の抗ウイルス薬の開発が期待されます。

なお、本研究は国立感染症研究所との共同研究であり、北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター一般共同研究の研究課題、および科学研究費補助金、厚生労働省科学研究費補助金等の助成を受けて実施されました。

#### お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 教授 澤 洋文（さわ ひろふみ）  
TEL：011-706-5185 FAX：011-706-7370 E-mail：h-sawa@czc.hokudai.ac.jp  
ホームページ：<http://www.czc.hokudai.ac.jp/pathobiol/>