

第 40 回日本小児感染症学会特別講演 3

麻疹ウイルス研究の最近の進歩*

柳 雄 介** 竹 田 誠** 橋 口 隆 生**

要旨 麻疹ウイルスの主要な細胞受容体は SLAM (CD150) であり、麻疹ウイルスの免疫細胞へのトロピズムや免疫抑制を起こす性質はそれにより説明することができる。さらに、麻疹ウイルスは未知の受容体を介して極性上皮細胞にも感染でき、それが空気感染による強い伝播力の原因だと考えられる。また、麻疹ウイルスの受容体結合蛋白質の結晶構造解析から、なぜ麻疹ワクチンが有効に中和抗体を誘導できるかも明らかになってきた。

I. 麻疹ウイルス

麻疹は、発熱、発疹を主症状とする非常に伝播力の強い小児の代表的ウイルス感染症である。優れた弱毒生ワクチンが存在するが、いまだに毎年世界中で約 3,000 万人の患者と 30 万人を超える死者が出ており、5 歳未満の小児の死因の約 4% を占める。わが国ではワクチンの未接種やワクチン不全による成人麻疹も問題になっている。免疫抑制による二次感染や頻度は少ないが感染後脳炎、亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) の合併も未解決の問題である。

麻疹ウイルスは、パラミクソウイルス科モルビリウイルス属に分類されるマイナス鎖 RNA ウイルスである¹⁾。ゲノムは脂質二重膜のエンベロープで覆われ、エンベロープ上には hemagglutinin (H) 蛋白質と fusion (F) 蛋白質の 2 つの糖蛋白質が存在する。H 蛋白質は受容体との結合、F 蛋白質は膜融合を担っている。ゲノム上には 6 つの遺伝子が並んでおり、それぞれ対応する蛋白質をコー

ドしている。例外的に、P 遺伝子には 3 つの蛋白質がコードされている。P 遺伝子が忠実に転写された P mRNA からは、読み取り枠 (reading frame) の異なる 2 つの開始コドンから蛋白質が翻訳され、それぞれ P 蛋白質 (RNA ポリメラーゼのサブユニット) とウイルス粒子中には存在しない C 蛋白質が作られる。P 遺伝子からは、さらに RNA 編集と呼ばれるメカニズムにより、ゲノムにはない塩基が 1 個挿入された V mRNA が転写され、塩基挿入部より N 末端側は P 蛋白質と同じ配列だが、それより C 末端側は独自の配列をもった V 蛋白質が産生される。ウイルス感染細胞中における C 蛋白質、V 蛋白質の役割はまだ完全には解明されていないが、その一部は I 型インターフェロンの働きを抑えることにある。これらの蛋白質は I 型インターフェロンの誘導、シグナル伝達、抗ウイルス作用のさまざまなステップを阻害することにより、インターフェロンの働きに対抗してウイルスの増殖を可能にしていると考えられる^{2,3)}。

麻疹ウイルスには、クローニングされたゲノム

* Recent progress in measles virus research

Key words : 麻疹ウイルス, H 蛋白質, SLAM, 極性上皮細胞

** 九州大学大学院医学研究院ウイルス学 Yusuke Yanagi, Makoto Takeda, Takao Hashiguchi
〔〒 812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1〕

を基にさまざまな組換えウイルスを作製するための効率の良い reverse genetics の系が確立されている⁴⁾。それを使って作製された緑色蛍光蛋白質 (GFP) 発現組換えウイルスは、麻疹ウイルス感染を容易に検出する方法として培養細胞や動物を用いた多くの感染実験で用いられている⁵⁾。

II. 麻疹ウイルスの免疫細胞へのトロピズムと免疫抑制

1990年に、小船博士により B95-8 細胞およびそれに由来する B95a 細胞が麻疹ウイルスに高い感受性をもっていることが報告された⁶⁾。われわれは、麻疹ウイルスの細胞感染における受容体を明らかにするために、B95a 細胞の cDNA ライブラリーを作製し、発現クローニングを行った。その結果、活性化されたリンパ球、成熟樹状細胞、マクロファージなどの免疫細胞に発現する signaling lymphocyte activation molecule (SLAM, CD150) が麻疹ウイルスの受容体として機能することを明らかにした^{7,8)}。SLAM は免疫グロブリン・スーパーファミリーに属する糖鎖に富んだ膜蛋白質であり、細胞外に V と C2 の 2 つの免疫グロブリン・ドメインをもっている。他の免疫細胞上の SLAM と相互作用することにより細胞内にシグナルを送り、CD4⁺T 細胞のサイトカイン産生やマクロファージの機能に関与している。GFP 発現組換え麻疹ウイルスをサルに感染させた実験から、SLAM 陽性のリンパ球および樹状細胞が実際に体内での麻疹ウイルスの主要な標的細胞であることが示された⁹⁾。したがって、麻疹ウイルスの免疫細胞に対する指向性 (トロピズム) や免疫抑制能は、SLAM を受容体として免疫細胞に感染することでうまく説明される。

SLAM が麻疹ウイルスの受容体であることは、Burkitt リンパ腫や Hodgkin リンパ腫の患者が麻疹に罹患することにより腫瘍が退縮したという報告^{10,11)}や、HIV に感染した小児が麻疹に罹患すると一時的に血漿中の HIV RNA 量の顕著な減少がみられるという報告¹²⁾もうまく説明することができる。Burkitt リンパ腫や Hodgkin リンパ腫の発生には Epstein-Barr ウイルスが関与しているが、Epstein-Barr ウイルスでトランスフォームした B

細胞は SLAM を高発現している。また、HIV がプロウイルスとして感染し、あるいは活発に複製しているのは記憶 CD4⁺T 細胞や活性化された CD4⁺T 細胞であるが、これらの細胞はいずれも SLAM が発現している細胞である。したがって、麻疹ウイルスは SLAM を発現している腫瘍 B 細胞や HIV 感染細胞に感染し、それらを破壊することにより上記のような現象を起こしたと考えられる。

ヒトの SLAM と違い、マウスの SLAM は麻疹ウイルスの受容体として機能しない。それがマウスに麻疹ウイルスが感染できない理由の一つである。われわれは、受容体機能に重要なヒト SLAM の V ドメインをコードしている遺伝子領域 (エクソン) をマウスの SLAM 遺伝子との間で置換した SLAM ノックインマウスを作製した¹³⁾。このマウスは、I 型インターフェロン受容体ノックアウトマウスと交配することにより、麻疹ウイルスの感染と増殖を許すようになり、麻疹ウイルスのトロピズムと免疫抑制を再現できる動物モデルとなることが示された。麻疹の詳細な病態解明に向けて本マウスの応用が期待される。

現在、患者からの麻疹ウイルス分離には、B95a 細胞に代わって、ヒト SLAM 遺伝子を導入した Vero 細胞 (Vero/hSLAM 細胞) が一般的に用いられ、良い結果が得られている。麻疹ウイルスの受容体として最初に報告されたのは CD46 (赤血球を除くすべてのヒト細胞に発現している) であるが、この分子を受容体として使用するのはワクチン株と一部の実験室株のみであり、野生株は CD46 を使用できない⁸⁾。ワクチン株や実験室株は、本来の受容体をもたない細胞で継代が繰り返される過程で受容体と結合する H 蛋白質に突然変異が起り、CD46 を介して感染できるようになったと考えられる。かつて、CD46 は発現しているが、SLAM を発現していない Vero 細胞を用いて麻疹ウイルスを分離していた頃に、ウイルス分離が困難であったのはこのためである。

III. 麻疹ウイルスの上皮細胞感染と空気感染による伝播

麻疹ウイルスの主要な標的は免疫細胞であり、それは SLAM を受容体として使うことで説明され

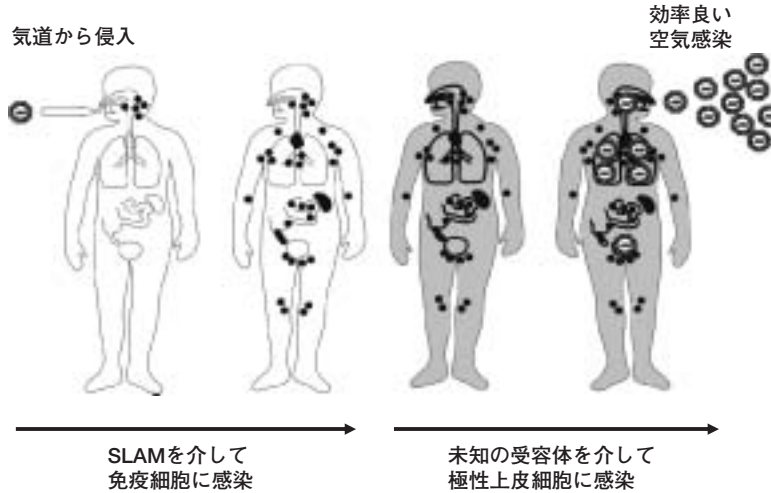


図 1 麻疹ウイルスの受容体と伝播機構

る。しかし、ヒトや動物モデルの病理標本で、免疫細胞以外にも、上皮細胞や神経細胞のような SLAM を発現していない細胞にもウイルスの感染が認められている。上記の GFP 発現ウイルスを用いたサルの感染実験でも感染後期には気道などの上皮細胞に GFP 陽性細胞が多数認められた⁹⁾。これらの所見はどのように理解したらよいであろうか。

麻疹ウイルス野生株は、一般に SLAM を発現している培養細胞株以外では感染が認められない。しかし、多くの培養細胞を調べることにより、SLAM を発現していない上皮細胞由来のヒト培養細胞株のなかには麻疹ウイルスに感受性を示すものがあることが明らかになった^{14,15)}。それらの細胞はいずれも tight junction を形成する極性をもつ細胞株であった。極性上皮細胞は tight junction の所で apical 側と basolateral 側に分けられるが、麻疹ウイルスに感染した極性上皮細胞からのウイルスの放出は apical 側（体内では、管腔側に相当）にのみ起こることが示された¹⁵⁾。極性上皮細胞への感染に関与する受容体分子は解明されていないが、受容体と結合する H 蛋白質に変異を導入した組換えウイルスを用いた実験により、SLAM を介した感染と上皮細胞受容体を介した感染には、H 蛋白質上の異なる領域が関与していることがわかった¹⁵⁾。また、上皮細胞受容体との結合能だけを選

択的に欠損させた組換えウイルスを経鼻的にサルに感染させたところ、ウイルス血症や発疹などの麻疹の症状は起こったが、気道へのウイルス放出は起こらなくなった¹⁶⁾。

以上の実験結果から、図 1 に示すように、麻疹ウイルスは空気感染で気道から体内に侵入し、気道の SLAM 陽性免疫細胞、おそらくリンパ球や樹状細胞にまず感染した後、それらによって全身の免疫系に運ばれさらに多くの免疫細胞に感染し増殖すると考えられる。その過程で、リンパ球の減少や免疫抑制が起こるのであろう。感染が進むと、上皮細胞にも感染し、ウイルスは気道の管腔に放出され、咳やくしゃみにより他の個体へと伝播していくと考えられる。それが、同じように免疫細胞を主な標的とする HIV が決して空気感染することなく血液を介してのみ伝播するのに対し、麻疹ウイルスが効率よく空気感染で伝播する理由と考えられる。

SSPE の際にみられるような神経細胞への感染機構はまだ明らかではないが、神経細胞に特異的な受容体が存在するか、あるいは上皮細胞受容体と同じ分子が使われていると考えられる。

IV. 麻疹ウイルスと受容体の相互作用

麻疹ウイルスと受容体の相互作用の構造基盤を明らかにするために、最近われわれは麻疹ウイル

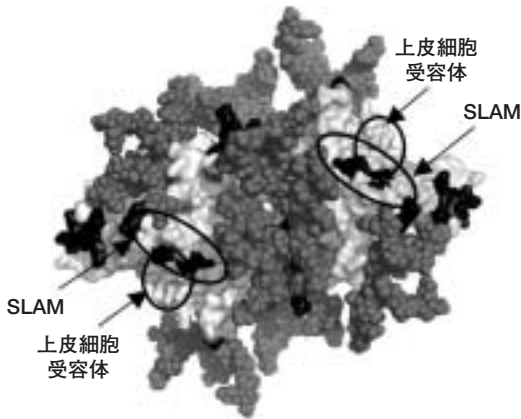


図 2 麻疹ウイルス H 蛋白質二量体構造と受容体結合部位

上から見下ろした H 蛋白質二量体の構造を示す。SLAM, 上皮細胞受容体との結合部位は丸線で囲む。これらの受容体結合部位は、受容体との相互作用に都合のよい H 蛋白質の最上部に位置する。濃灰色部分は N 結合型糖鎖を、黒色部分は報告されている中和抗体のエピトープを示す。抗体のなかには、H 蛋白質の SLAM 結合部位や上皮細胞受容体結合部位のような変異するとウイルスの存続にかかわる領域に結合するものがある。また、受容体結合部位以外に結合するにもかかわらず、H 蛋白質と受容体の相互作用を障害して中和するものもある。

ス H 蛋白質を大量に発現した後、結晶化し、X 線解析によりその構造を解明することに成功した¹⁷⁾。H 蛋白質は 617 アミノ酸からなる II 型の膜蛋白質で、N 末端から、細胞内領域、膜貫通領域、ストーク領域、そして C 末端の受容体結合ドメインをもっている。今回構造解析を行ったのは受容体結合ドメイン (アミノ酸 149-617) で、6 つの羽根をもつプロペラ状の構造をしていることがわかった。それぞれの羽根は 4 本のベータ鎖からなっている。これまでに構造が解明されている他のパラミクソウイルスの受容体結合蛋白質やインフルエンザウイルスのノイラミニダーゼも同様の 6 枚の羽根をもつベータ・プロペラ構造をしている。

H 蛋白質の部位特異的変異体の機能解析から、SLAM との相互作用に重要なアミノ酸残基が明らかにされている。それらのアミノ酸は、H 蛋白質の立体構造のうえではベータ 5 シートの領域に局在していた¹⁷⁾。この領域には負電荷を帯びたアミ

ノ酸残基が集積し、“acidic patch” 領域を形成している。一方、SLAM の構造モデルから、SLAM 分子上には正電荷を帯びたアミノ酸残基が集積した領域があり、“basic patch” を形成していると予想される。H 蛋白質と SLAM のそれらの領域における表面電荷は相補的で複合体の形成に適している。一方、未同定の上皮細胞受容体との相互作用には、SLAM 結合部位のすぐ隣に存在する疎水性や芳香族性のアミノ酸が重要であることが明らかとなった^{15,16)}。これらのアミノ酸は上皮細胞受容体と疎水性の相互作用をしていると考えられる。

H 蛋白質は二量体構造をとり、その表面の大部分は糖鎖に覆われている。SLAM や上皮細胞受容体との結合部位は、糖鎖に覆われていない領域において近接して存在している (図 2)。これらの受容体結合部位周辺は中和抗体のエピトープが集中する領域に重なっており、この領域に抗体が結合すると効率的に受容体への結合を阻害すると考えられる。一方、そのような中和抗体からのエスケープは H 蛋白質の受容体への結合能力を低下もしくは消失させることにつながる。これが、麻疹ウイルスが単一血清型であること、また 50 年前に分離されたウイルス株に由来するワクチンの接種によってすべての野生株に対して効果的な中和抗体が産生され、ワクチンからのエスケープ株が出現しないことの原因だと考えられる¹⁷⁾。

おわりに

最近の研究により、受容体を中心とした麻疹ウイルスの細胞侵入機構の理解が進み、麻疹の病態を分子レベルで説明できるようになった。今後、未同定の上皮細胞受容体を解明するとともに、H 蛋白質と個々の受容体の複合体、さらには F 蛋白質を含めた構造解析を進めることにより、細胞侵入機構の理解が深まり、それを標的とする抗ウイルス薬の開発につながることを期待される。

文 献

- 1) Griffin DE : Measles virus. Fields Virology, 5th ed (DM Knipe, et al eds). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007, 1551-1585
- 2) Randall RE, et al : Interferons and viruses : an

- interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol* 89 : 1-47, 2008
- 3) Nakatsu Y, et al : Measles virus circumvents the host interferon response by different actions of the C and V proteins. *J Virol* 82 : 8296-8306, 2008
 - 4) Nakatsu Y, et al : Rescue system for measles virus from cloned cDNA driven by vaccinia virus Lister vaccine strain. *J Virol Methods* 137 : 152-155, 2006
 - 5) Hashimoto K, et al : SLAM (CD150)-independent measles virus entry as revealed by recombinant virus expressing green fluorescent protein. *J Virol* 76 : 6743-6749, 2002
 - 6) Kobune F, et al : Marmoset lymphoblastoid cells as a sensitive host for isolation of measles virus. *J Virol* 64 : 700-705, 1990
 - 7) Tatsuo H, et al : SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature* 406 : 893-897, 2000
 - 8) Yanagi Y, et al : Measles virus : cellular receptors, tropism and pathogenesis. *J Gen Virol* 87 : 2767-2779, 2006
 - 9) de Swart RL, et al : Predominant infection of CD150 (+) lymphocytes and dendritic cells during measles virus infection of macaques. *PLoS Pathog* 3 : e178, 2007
 - 10) Bluming AZ, et al : Regression of Burkitt's lymphoma in association with measles infection. *Lancet* ii : 105-106, 1971
 - 11) Taqi AM, et al : Regression of Hodgkin's disease after measles. *Lancet* i : 1112, 1981
 - 12) Moss WJ, et al : Suppression of human immunodeficiency virus replication during acute measles. *J Infect Dis* 185 : 1035-1042, 2002
 - 13) Ohno S, et al : Measles virus infection of SLAM (CD150) knockin mice reproduces tropism and immunosuppression in human infection. *J Virol* 81 : 1650-1659, 2007
 - 14) Takeda M, et al : A human lung carcinoma cell line supports efficient measles virus growth and syncytium formation via a SLAM- and CD46-independent mechanism. *J Virol* 81 : 12091-12096, 2007
 - 15) Tahara M, et al : Measles virus infects both polarized epithelial and immune cells using distinctive receptor-binding sites on its hemagglutinin. *J Virol* 82 : 4630-4637, 2008
 - 16) Leonard VH, et al : Measles virus blind to its epithelial cell receptor remains virulent in rhesus monkeys but cannot cross the airway epithelium and is not shed. *J Clin Invest* 118 : 2448-2458, 2008
 - 17) Hashiguchi T, et al : Crystal structure of measles virus hemagglutinin provides insight into effective vaccines. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 19535-19540, 2007

* * *