

「シス受容体はモルビリ ウイルス神経病原性の鍵となるか」

東京科学大学大学院医歯学総合研究科ウイルス制御学 教授

白銀 勇太

要旨

麻疹ウイルス (MeV) は融合 (F) 遺伝子の変異により神経増殖能を獲得し、亜急性硬化性全脳炎 SSPE を引き起こす。変異 MeV は、宿主 CADM1/2 を膜融合誘導因子 (シス受容体) として利用し、神経細胞融合によりゲノムを伝播すると考えられている。本研究では、CADM1/2 の利用能がイヌジステンパーウイルス (CDV) や鯨類モルビリウイルス (CeMV) 等の動物モルビリウイルスにも共通するかを検証した。解析の結果、CADM1/2 は CDV および CeMV の細胞融合を誘導する宿主因子であることを明らかにした。MeV では CADM 利用に F 遺伝子の変異が必要だが、CDV や CeMV は野生型 F で利用可能であり、これが CDV、CeMV の強い神経病原性を説明する要因である可能性が示唆された。また、MeV の SSPE 株は変異の蓄積により CADM 以外の因子も利用可能となっており、モルビリウイルスが F 遺伝子の変異により神経増殖能を強化する進化ポテンシャルを持つことも判明した。以上より、CADM1/2 はモルビリウイルス属に共通する重要な神経病原因子であり、F 遺伝子の変異解析が病原性リスク評価に有用である可能性が示された。

背景・目的

【背景】

麻疹ウイルス (MeV) はエンベロープを持つ RNA ウイルスで、パラミクソウイルス科モルビリウイルス属に属する。MeV はまれに患者個体内で変異して中枢神経系での増殖能を新たに獲得し、致死性の脳炎 (亜急性硬化性全脳炎、Subacute sclerosing panencephalitis、SSPE) を引き起こす[1]。私たちは 2021 年度の化血研若手研究奨励助成を受けて MeV の神経病原性獲得機構の解明に取り組んできた。これまでの研究により、MeV は融合タンパク質に変異を獲得すると宿主のシス受容体 CADM1 および CADM2 の働きにより神経細胞同士が融合し、ウイルスゲノムが伝播できるようになることを明らかにした[2-4]。

MeV が属するモルビリウイルス属には、強い神経病原性を持つイヌジステンパーウイルス (CDV)、アザラシジステンパーウイルス (PDV)、鯨類モルビリウイルス (CeMV) などが含まれている。このような動物モルビリウイルスがヒト集団に侵入・適応した場合、高病原性の致死性新興ウイルスとなりうる。CADM1/2 は MeV のみならずモルビリウイルス全体に共通する神経病原因子である可能性がある。

【目的】

本研究計画の目的は CADM1/2 が動物モルビリウイルスに果たす役割を解明することでその神経病原性の基盤解明を進め、新興モルビリウイルス感染症の発生対策に資する情報を提供することである。

方法

(1) イヌの組織から得られた公開 RNA-seq データセット (NCBI BioProject RJNA78827) を解析し、CADM1/2 のイヌにおける組織分布を解析した。また、イヌ CADM1/2 遺伝子を人工遺伝子合成により合成し、哺乳類発現ベクターに組み込むことで発現プラスミドを作製した。次に、同発現プラスミドと CDV 由来 H・F 遺伝子 (膜融合を担う糖タンパク質遺伝子) の発現プラスミドを培養細胞に一過性に発現させて、その融合能を解析した。また、イヌ CADM1/2 の作用様式の解析を実施するため、分割レニラルシフェラーゼタンパク質 (Dual Split Protein, DSP) をそれぞれ恒常発現する 293FT 細胞を用いた解析を実施した (細胞融合が起こると分割タンパク質が会合し活性を発揮する)。

(2) CeMV および PDV 由来 H・F 遺伝子を人工遺伝子合成により合成し、哺乳類発現ベクターに組み込んだ。そして、(1) と同様の実験を行った。

(3) MeV の SSPE 分離株 (Patient B 株および OSA3/Bs/B 株) に見られる F 遺伝子の多重変異による CADM およびそれ以外の融合誘導因子の利用能について上記融合アッセイを用いて解析した。また、神経細胞に H・F タンパク質発現プラスミドおよび緑色蛍光タンパク質 EGFP 発現プラスミドを直接トランスフェクションし、蛍光の広がりから神経細胞間の融合を評価する神経スプレッドアッセイを実施した。

結果

(1) イヌ CADM1/2 はイヌ中枢神経系に発現していること (Fig. 1A)、また、CDV による細胞融合を誘導する宿主因子であること (Fig. 1B) が明らかとなった。更に、イヌ CADM1/2 は麻疹ウイルスの時と同様に、CDV 感染細胞に発現した H/F タンパク質と同一細胞上でシスに作用することが明らかとなった (Fig. 1C)。

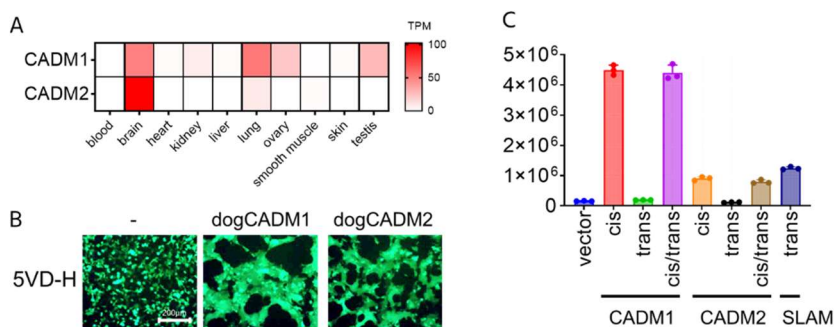


Fig. 1. CADM1/2 は CDV による膜融合を誘導するシス受容体模倣因子である

A. CADM1/2 遺伝子 mRNA のイヌにおける組織発現分布。B. CDV (5VD 株) の H・F タンパク質発現プラスミドを用いた細胞融合アッセイによりイヌ CADM1/2 の機能を評価した。C. イヌ CADM1/2 をシス (*cis*) およびトランス (*trans*) に発現した場合の細胞融合能を DSP アッセイにより定量評価した。

(2) CeMV においても、CADM1/2 は細胞融合を誘導する宿主因子であることが明らかとなった (Fig. 2 上)。面白いことに、CDV や CeMV においては、宿主の CADM1/2 のみならず、ヒトの CADM1/2 に

よっても高効率に膜融合が誘導された。PDV においては CADM1/2 の発現により細胞融合は誘導されなかった (Fig. 2 下)。本実験に用いた CADM はヒト由来のものであるが、現在、クジラおよびアザラシ由来の CADM 遺伝子のクローニングを進めている。

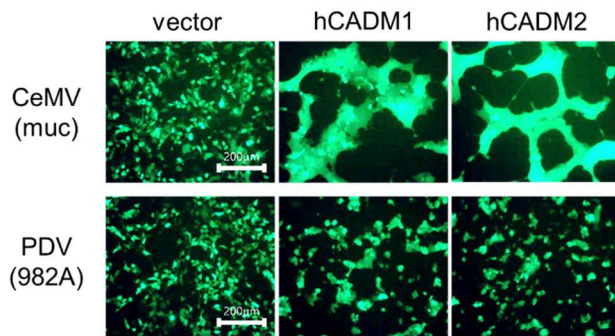


Fig. 2. CeMV および PDV の細胞融合にヒト CADM1/2 の発現が与える影響

(3) MeV の SSPE 分離株には複数の融合促進変異の蓄積が見られた。複数の変異を持つ F タンパク質は単独の変異を持つ F タンパク質よりも融合能がさらに上昇しており、また、CADM1/2 以外の宿主因子も膜融合誘導因子として利用できるようになることが明らかとなった。また、神経スプレッドアッセイにより、多重変異 F は神経細胞融合をより強く起こすことが示された[5]。

考察

【考察】

今回の結果により、CADM の融合誘導能は麻疹ウイルスのみではなく広くモルビリウイルス属に共通する宿主因子であることが示唆された。麻疹ウイルスでは F 遺伝子の変異が CADM 利用には必須であるが、CDV および CeMV においては野生型の F 遺伝子でも CADM を利用できる点は興味深い。CADM 分子の利用能は CDV、CeMV の強い神経病原性を説明する重要なファクターである可能性がある。また、CDV および CeMV においては、ヒトの CADM1/2 によっても顕著な細胞融合が誘導された。これは動物モルビリウイルスがヒト集団に伝播した際、強い病原性を持ちうることを示唆している。一方、同じく強い神経病原性を持つ PDV では、CADM の発現により融合誘導は認められなかった。PDV には別の神経病原宿主因子が存在することが示唆される。現在、CeMV、PDV を含めて、その他のモルビリウイルスの H・F 遺伝子および宿主 CADM1/2 遺伝子のクローニングを進めている。今後も、引き続きモルビリウイルス属における CADM 利用能の網羅的な解析を進めたい。

また麻疹ウイルスでは F 遺伝子の変異の蓄積で CADM 以外の融合誘導因子の利用が可能となり、さらに神経増殖能が高まることが明らかとなった。これは、モルビリウイルスが融合変異の蓄積により、神経での増殖能を強化する進化ポテンシャルを持つことを示唆し、本研究結果は *Journal of Virology* 誌にアクセプトされた[5]。他のモルビリウイルスにおいても同様のことが起こり得るとすれば、モルビリウイルス病原性のリスク判定に F 遺伝子変異の有無を利用できるかもしれない。

共同研究者

九州大学名誉教授 柳雄介 教授
京都大学医生物学研究所 橋口隆生 教授
東京大学医学部 竹田誠 教授、加藤大志 准教授
国立感染症研究所 關文緒 主任研究員

引用論文

- [1] Diane E. Griffin. Measles Virus. *Fields Virology: RNA Viruses*, vol. 3. 7th ed., 2023, p. 228–66.
- [2] Shirogane Y, Takemoto R, Suzuki T, et al. CADM1 and CADM2 Trigger Neuropathogenic Measles Virus-Mediated Membrane Fusion by Acting in cis . *J Virol* 2021;95. <https://doi.org/10.1128/JVI.00528-21>.
- [3] Takemoto R, Suzuki T, Hashiguchi T, et al. Short-Stalk Isoforms of CADM1 and CADM2 Trigger Neuropathogenic Measles Virus-Mediated Membrane Fusion by Interacting with the Viral Hemagglutinin. *J Virol* 2022;96. <https://doi.org/10.1128/jvi.01949-21>.
- [4] Takemoto R, Hirai Y, Watanabe S, et al. Interaction of the Hemagglutinin Stalk Region with Cell Adhesion Molecule (CADM) 1 and CADM2 Mediates the Spread between Neurons and Neuropathogenicity of Measles Virus with a Hyperfusogenic Fusion Protein. *J Virol* 2023. <https://doi.org/10.1128/JVI.00340-23>.
- [5] Hirai Y, Takemoto R, Yanagi Y, et al. Amino acid changes accumulated in the fusion protein allow neuropathogenic measles viruses to use a broad repertoire of host factors for cell fusion triggering. *J Virol* 2025;99. <https://doi.org/10.1128/JVI.02307-24>.

助成研究に関連した発表論文

Hirai Y, Takemoto R, Yanagi Y, et al. Amino acid changes accumulated in the fusion protein allow neuropathogenic measles viruses to use a broad repertoire of host factors for cell fusion triggering. *J Virol* 2025;99. <https://doi.org/10.1128/JVI.02307-24>.