

野生型麻疹ウイルスの二つのレセプター

田原 舞乃, 竹田 誠

国立感染症研究所 ウイルス第三部

麻疹は、伝染力の強い急性発疹性ウイルス感染症である。一過性の強い免疫抑制を引き起こし、細菌などによる二次感染症が合併することが多く、致死率も高い。2000年に麻疹ウイルスのレセプターが免疫細胞上の分子 SLAM であることが明らかにされ、これにより麻疹ウイルスがリンパ節、脾臓、胸腺などのリンパ系臓器を主な標的として感染し、免疫抑制を引き起こす現象の説明がついた。しかしながら、麻疹ウイルスの高い伝染力を説明する分子機構については未解明であった。われわれは麻疹ウイルスが SLAM とは異なるレセプターを用いて極性上皮細胞にも感染する能力をもつことを示したが、最近、Nectin4 というアドヘレンスジャンクション分子が上皮レセプターであることが解明された。麻疹ウイルスが免疫系細胞と上皮細胞のそれぞれに感染する能力をもったウイルスであることは、麻疹ウイルスの病原性を理解する上で非常に重要な知見である。

麻疹の病態

麻疹には効果的なワクチンがあるにもかかわらず、いまだに多くの人が麻疹によって死亡している。2008年の世界の麻疹死亡者数は164,000人にもおぼろげに、そのうちの95%以上が途上国の5歳以下の小児であることがWHOにより報告されている (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/>)。麻疹ウイルスに感染すると、10～12日前後を経て胸腺、脾臓、リンパ節等の免疫機能に関連する臓器、腎臓、肝臓、肺、消化管、眼球の結膜、皮膚、口腔等全身の多様な臓器、組織に感染が広がる。この頃には発熱、結膜炎、咳が現れ、続いて麻疹特有の口腔内のコプリック斑や斑状丘疹が出現する。多くは熱が下がるとともに回復に向かうが、中には脳炎、肺炎、中耳炎等の重篤な合併症をおこす場合がある。麻疹ウイルスは非常に感染力が強い。また、麻疹に対する免疫のない人が感染した場合には、ほぼ100%発症する。人から人への感染様式に

は主として飛沫感染、空気感染、接触感染がある^{1,14)}。

ワクチン株レセプター CD46 と野生株レセプター SLAM

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、非分節で1本鎖のマイナス極性RNAをゲノムとして持っている。脂質二重膜であるエンベロープで被われ、エンベロープ上にはヘマグルチニン(Hタンパク質)と融合タンパク質(Fタンパク質)の2種類の糖タンパク質が存在する。Hタンパク質は細胞表面のレセプターに結合する働きを、Fタンパク質は膜融合活性を持っている。麻疹ウイルスは、Hタンパク質が細胞表面の特異的なレセプターに結合し、細胞内に侵入することによって感染を開始する(図1)。したがってレセプターの有無がウイルスのトロピズムを決定する重要な要因になっている。古くは、ワクチン株を用いてレセプターの探索が行われ、CD46という補体の制御因子が同定された^{2,3)}。しかし、野生株の分離法が確立されるとCD46はワクチン株および一部の実験室馴化株のみが用いるレセプターであり、野生株はCD46を使えないことが明らかとなった^{4,5)}(表1)。筆者らは、野生株の馴化の過程でHタンパク質に変異が蓄積しCD46を効率良く使えるようになることを示した⁶⁾。さらに馴化にはHタンパク質の他にMやLタンパク質の変異も重要な意味を持っていることを明らかにした^{7,8,31)}。2000年に、野生株が用いるレセプター signaling lymphocyte activation molecule (SLAM/CD150) が同定された⁹⁾。SLAMはB細胞、T細胞、胸腺細胞、マクロファージ、樹状細

連絡先

〒208-0011

東京都武蔵村山市学園4-7-1

国立感染症研究所 ウイルス第三部

TEL: 042-561-0771

FAX: 042-562-8941

E-mail: maino@nih.go.jp

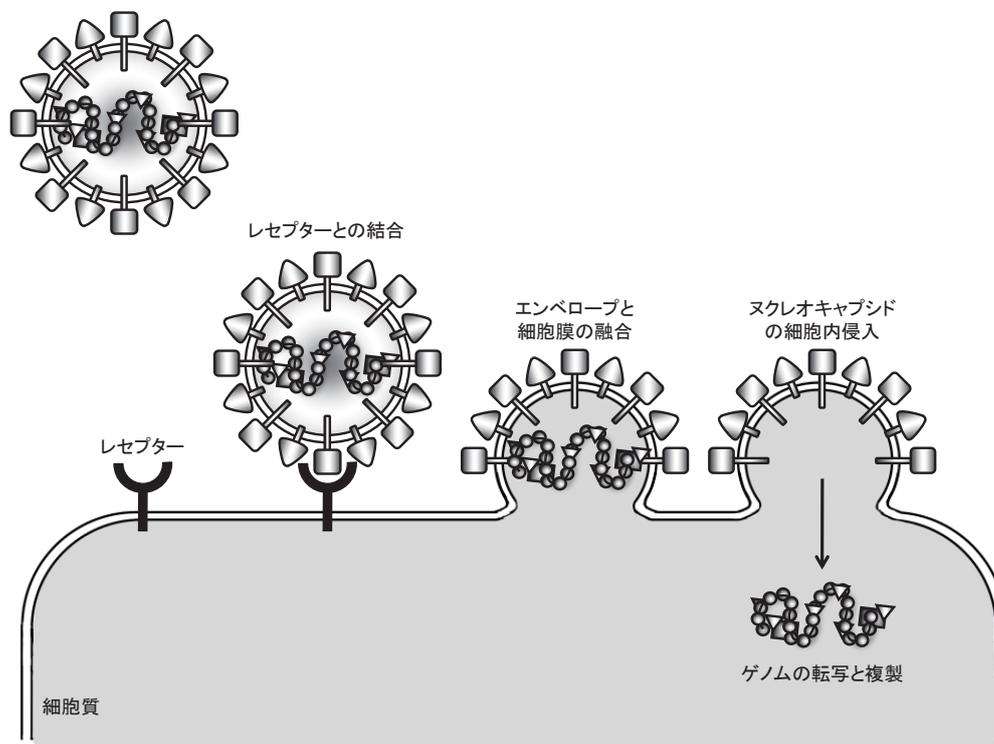


図1 麻疹ウイルスの細胞侵入機構

Hタンパク質が細胞表面のレセプターに結合し、Fタンパク質による膜融合によって細胞表面からウイルスのヌクレオキャプシドが細胞内に侵入する。

表1 麻疹ウイルス株による利用可能レセプターの違い

	野生株	ワクチン株
CD46	×	○
SLAM	○	○
Nectin4 (上皮レセプター)	○	○

胞などの免疫系の細胞に発現している¹⁰⁾。SLAMの分布は体内における麻疹ウイルスのトロピズムによく一致し、また麻疹ウイルスによる免疫抑制などの現象もうまく説明できる^{11,12,30)}。また、GFPを発現する野生株麻疹ウイルスを用いたサルへの感染実験で、麻疹ウイルスが体内で最初に感染するのはSLAM陽性のマクロファージや樹状細胞であることが分かった^{13,15)}。

麻疹ウイルスの上皮への感染

麻疹患者の臨床病理検体や、サルの感染モデルを用いた病理学的解析から、麻疹ウイルスの全身リンパ系臓器での増殖がピークに達する頃には、気管、肺、口腔、咽頭、食道、腸、肝臓、膀胱などの上皮組織にも、麻疹ウイルスの感染像が見られることが示されていた^{16,17)}。しかし、上皮組織はSLAM陰性細胞で構成されており、麻疹ウイルスがどのように上皮で感染を拡大するのか不明であった。

2007年に筆者らは麻疹ウイルスが効率よく増殖できる肺癌細胞(H358細胞)を見つけ出し、上皮細胞への感染がSLAM非依存的におこることを証明し、新たな上皮レセプターの存在を示した¹⁸⁾。次にH358細胞のマイクロアレイ解析を行った。その結果、この細胞にはタイトジャンクションの形成や細胞接着に関わる分子が多く発現していることが分かった。そのことから多くの極性上皮細胞への麻疹ウイルスの感染を調べたところすべての極性上皮細胞株が麻疹ウイルスに対する感受性を示した。よって麻疹ウイルスは上皮細胞の中でもタイトジャンクション形成能のある極性上皮細胞に特異的に感染することが明らかになった¹⁹⁾。ただし、カルシウム欠損培地での培養などで、タイトジャンクション形成を阻害した場合に感染効率がむしろ上昇することから、極性そのものは重要ではなく、タイトジャンクション周辺に発現している分子が重要であることが明らかになった²⁰⁾。極性上皮細胞に感染した麻疹ウ

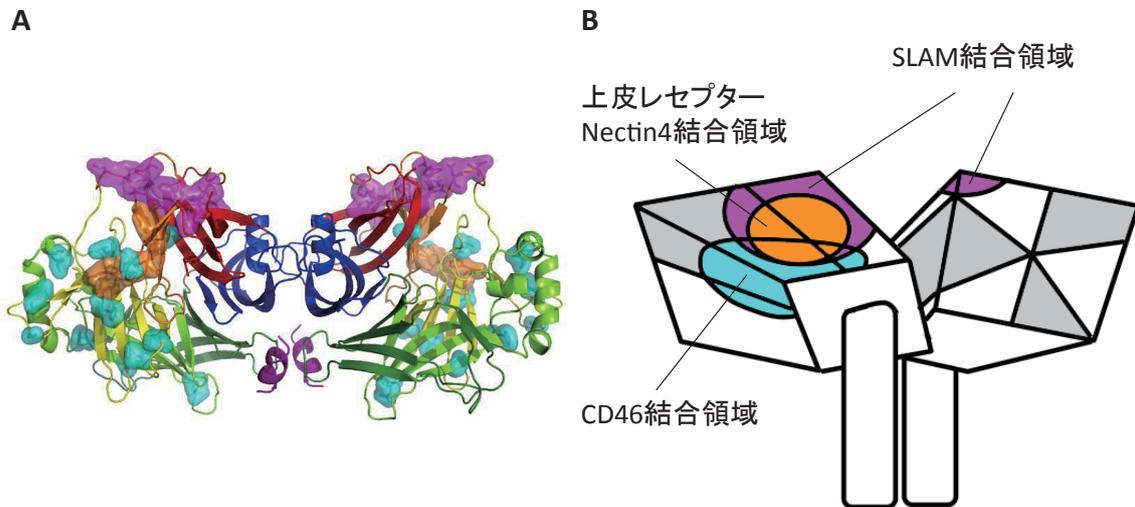


図2 Hタンパク質立体構造上のレセプター結合部位^{25,19)}

A) Hタンパク質二量体の頭部. 上皮レセプター Nectin4 結合に重要なアミノ酸は SLAM と CD46 結合アミノ酸の間に位置している. マゼンタ: SLAM 結合部位, オレンジ: Nectin4 結合部位, シアン: CD46 結合部位.

B) Hタンパク質二量体の模式図. Hタンパク質単量体の頭部が大きく屈曲することにより, レセプター結合領域が, 二量体の頭頂部に位置している.

イルスは, 子孫粒子を選択的にアピカル (頂端) 膜側に放出した¹⁹⁾. アピカル側とは体内での管腔側であることから, この性質はウイルスの体外への効率的な放出に関わることが示唆された. また, Hタンパク質表面にある様々なアミノ酸の機能を解析した結果, 麻疹ウイルスの上皮細胞への感染に重要なアミノ酸は, SLAM への結合に重要なアミノ酸とは異なることが明らかになった¹⁹⁾ (図2). これらの結果により, 麻疹ウイルスが免疫系細胞と上皮細胞のそれぞれに感染する能力を備えた二重指向性ウイルスであることがはっきりと示された³²⁾.

麻疹ウイルス上皮感染の重要性

上皮レセプター結合に重要なアミノ酸に変異を導入して上皮レセプターを利用できなくしたウイルスを用いたサルでの感染実験で, 鼻腔内に接種されたウイルスが, 依然としてリンパ系組織に感染し増殖することが示された²¹⁾. このことから経気道的に感染したウイルスの最初の標的は上皮細胞ではなく, SLAM 陽性細胞であることが分かった. このサルは発疹などの臨床所見及びウイルス血症は野生株ウイルス感染サルと同様に起こしたことから個体内での増殖には上皮レセプターは必要ないことが明らかとなった. ところが, ウイルス血症がピークとなった後もこのサルの気道の分泌液中にはウイルスが検出されなかった. このことから上皮への感染が体外へのウイルス排出, すなわち個体間の伝播に重要な意味を持つことが強く示唆された.

上皮レセプター Nectin4

上皮レセプターの存在がはっきりと示されたことにより, 世界中でレセプターの探索が進められた. その結果, カナダならびに米国の研究チームが, Nectin4 が麻疹ウイルスの上皮レセプターであることを明らかにした^{22,23)}. 予想どおり, 上皮レセプター (Nectin4) は極性細胞に形成されるアドヘレンスジャンクションに存在する細胞接着分子であった (図3). 気管上皮, 皮膚, 肺, 前立腺, 胃に発現が報告されている. また, 上記の研究で用いられた麻疹ウイルス感受性, 非感受性の上皮細胞での発現も完全に一致した. Nectin4 に対する抗体, または siRNA での発現抑制で, 麻疹ウイルス感染は明らかに減少した. また Vero 細胞などの非感受性細胞へ Nectin4 を発現させると, 麻疹ウイルスは巨細胞を形成しながら増殖するようになる (図4). Nectin4 は SLAM と同様, 免疫グロブリンスーパーファミリーに属する一回膜貫通型タンパク質であり, 細胞外に1個のVドメインと2個のC2ドメインを持っている²⁴⁾. Hタンパク質との結合には細胞から遠い方のVドメインが重要で, これも SLAM を使う場合と同様である. Biacore を用いた解析では Hタンパク質と Nectin4 との結合力は SLAM と同等かそれ以上と示された.

おわりに

ウイルスは, 自己の増殖, 伝播を有利にするための様々な機構を備えている. 麻疹ウイルスは, SLAM をレセプター

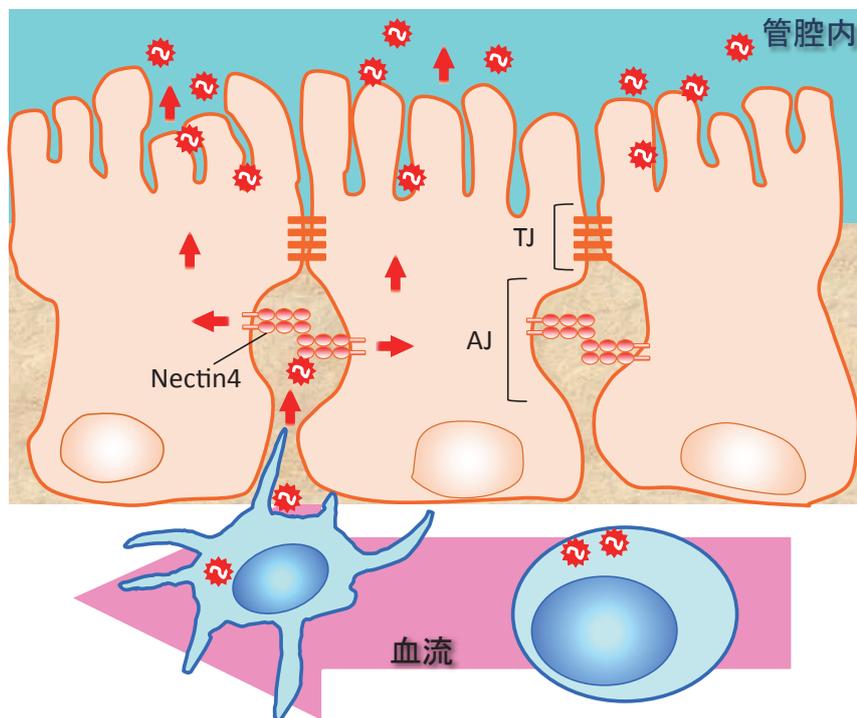


図3 麻疹ウイルスの上皮細胞への感染モデル

麻疹ウイルスに感染した免疫細胞からアドヘレンスジャンクション(AJ)に存在するNectin4をレセプターとして上皮細胞に感染する^{22,23,33)}。上皮で増殖した麻疹ウイルスはアピカル側へ放出される¹⁹⁾。

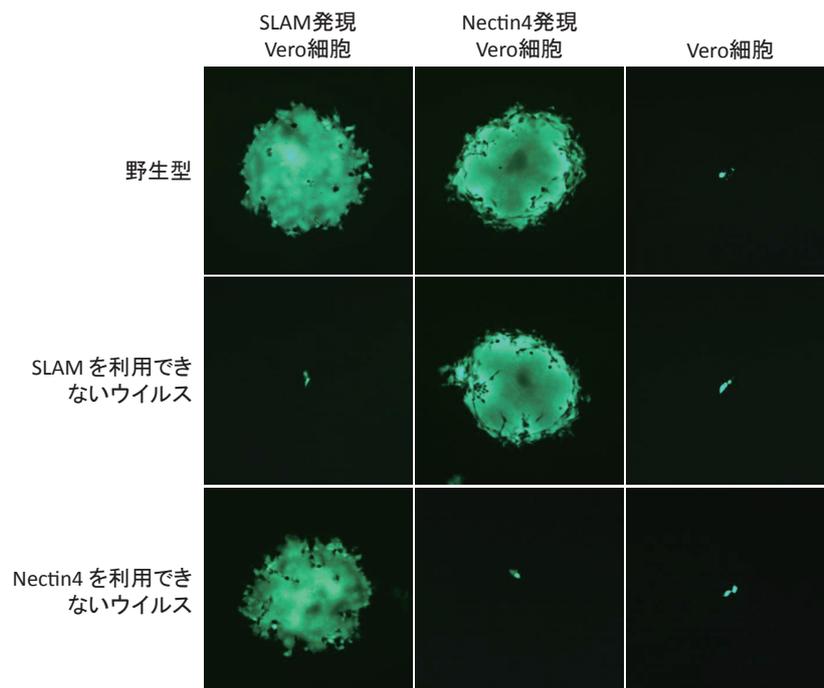


図4 SLAMまたはNectin4発現Vero細胞での麻疹ウイルスの増殖

EGFP発現組換え麻疹ウイルスを用いて巨細胞形成能を観察した。非感受性細胞であるVero細胞にSLAMまたはNectin4を発現させると、野生型麻疹ウイルスは巨細胞を形成しながら増殖するようになる。Hタンパク質のレセプター結合アミノ酸に変異を導入し、SLAMまたはNectin4を特異的に利用できない麻疹ウイルスを作ることができる。

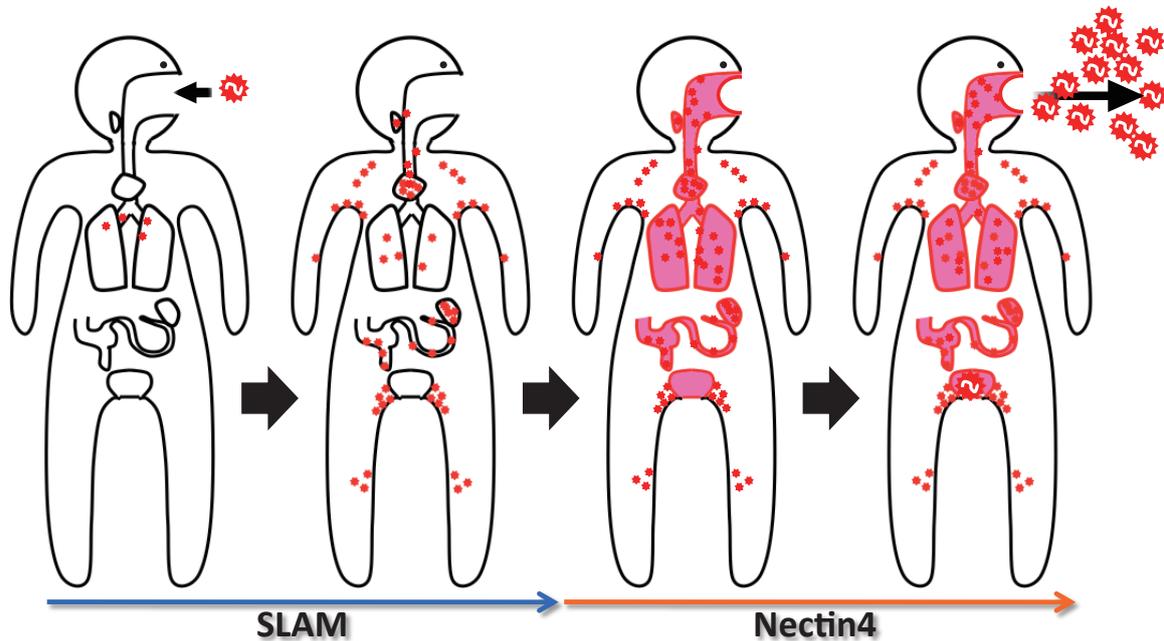


図5 麻疹ウイルスの2つのレセプターを用いた全身での増殖

麻疹ウイルスは経気道的に体内に侵入しSLAMをレセプターとして用いて免疫細胞で増殖する。感染リンパ球は血流に乗って運ばれ、全身の免疫組織で感染が拡大する。その後Nectin4をレセプターとして用いて上皮細胞へウイルスが感染する。上皮細胞のアピカル側にウイルスが出芽することにより、効率よく体外へ放出される。

として用いることにより自身を攻撃する免疫細胞や免疫システムそのものを感染の第一の標的とし、同時にリンパ球に感染することにより血流に乗って急速に全身へと感染を拡大する。全身に感染が拡大した頃には、Nectin4をレセプターとして用いて、外界との障壁である上皮組織へと感染を広げていくという二段構えの感染機構を持つことが明らかになった(図5)。Nectin4という分子が同定されたことで、今後、動物感染実験などによりさらに麻疹ウイルスの感染機構が明らかになっていくだろう。また、既にHタンパク質とSLAM、CD46との複合体の構造が解明されたが、このことで麻疹の膜融合のメカニズムの理解が進んだ^{25,26,27}。Nectin4との複合体の構造が解明すれば、複数のレセプターを用いるという麻疹ウイルスHタンパク質の独特の分子メカニズムも明らかになるだろう。ところで、麻疹ウイルスは中枢神経系にも親和性があると考えられているが感染機構は未解明である^{28,29}。免疫系細胞、上皮細胞のレセプターが同定されたいま、多くの研究者が中枢神経系への感染機構に関心を寄せている。

参考文献

- 1) Monto AS.: Interrupting the transmission of respiratory tract infections: theory and practice. *Clin Infect Dis* 28, 200-204, 1999.
- 2) Dorig RE, Marcil A, Chopra A, Richardson CD.: The human CD46, molecule is a receptor for measles virus (Edmonston strain). *Cell* 75: 295-305, 1993.
- 3) Naniche D, Varior-Krishnan G, Cervoni F, Wild TF, Rossi B, Rabourdin-Combe C, Gerlier D.: Human membrane cofactor protein (CD46) acts as a cellular receptor for measles virus. *J Virol* 67: 6025-6032, 1993.
- 4) Hsu EC, Sarangi F, Iorio C, Sidhu MS, Udem SA, Dillehay DL, Xu W, Rota PA, Bellini WJ, Richardson CD.: A single amino acid change in the hemagglutinin protein of measles virus determines its ability to bind CD46 and reveals another receptor on marmoset B cells. *J Virol* 72: 2905-2916, 1998.
- 5) Shibahara K, Hotta H, Katayama Y, Homma M.: Increased binding activity of measles virus to monkey red blood cells after long-term passage in Vero cell cultures. *J Gen Virol* 75: 3511-3516, 1994.
- 6) Tahara M, Takeda M, Seki F, Hashiguchi T, Yanagi Y.: Multiple amino acid substitutions in hemagglutinin are necessary for wild-type measles virus to acquire the ability to use receptor CD46 efficiently. *J Virol* 81:2564-2572, 2007.
- 7) Tahara M, Takeda M, Yanagi Y.: Contributions of matrix and large protein genes of the measles virus edmonston strain to growth in cultured cells as revealed by recombinant viruses. *J Virol* 79: 15218-15225, 2005.
- 8) Tahara M, Takeda M, Yanagi Y.: Altered interaction of the matrix protein with the cytoplasmic tail of hemagglutinin modulates measles virus growth by affecting virus assembly and cell-cell fusion. *J Virol* 81: 6827-

6836. 2007.
- 9) Tatsuo H, Ono N, Tanaka K, Yanagi Y.: SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature*. 406:893-897. 2000.
 - 10) Veillette A. :Immune regulation by SLAM family receptors and SAP-related adaptors. *Nat. Rev. Immunol.* 6:56-66. 2006.
 - 11) Yanagi Y., Takeda M., Ohno S.: Measles virus: cellular receptors, tropism and pathogenesis. *J. Gen. Virol.* 87:2767-2779. 2006.
 - 12) Koga R, Ohno S, Ikegame S, Yanagi Y.: Measles virus-induced immunosuppression in SLAM knock-in mice. *J Virol.* 84:5360-7. 2010.
 - 13) de Swart RL, Ludlow M, de Witte L, Yanagi Y, van Amerongen G, McQuaid S, Yüksel S, Geijtenbeek TB, Duprex WP, Osterhaus AD.: Predominant infection of CD150+ lymphocytes and dendritic cells during measles virus infection of macaques. *PLoS Pathog.* 3:e178. 2007.
 - 14) Griffin DE.: Measles virus. In *Fields Virology*, 5th edn, pp1401-1441. , Edited by D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. A. Martin, B. Roizman & S. E. Straus. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.2007.
 - 15) Lemon K, de Vries RD, Mesman AW, McQuaid S, van Amerongen G, Yüksel S, Ludlow M, Rennick LJ, Kuiken T, Rima BK, Geijtenbeek TB, Osterhaus AD, Duprex WP, de Swart RL.: Early target cells of measles virus after aerosol infection of non-human primates. *PLoS Pathog.* 7:e1001263. 2011.
 - 16) Craighead JE.: Pathology and pathogenesis of human viral disease. In: Craighead JE, ed. *Rubeola (Measles)*. Philadelphia: Elsevier Inc. pp 397-410. 2000.
 - 17) Sakaguchi M, Yoshikawa Y, Yamanouchi K, Sata T, Nagashima K, Takeda K.: Growth of measles virus in epithelial and lymphoid tissues of cynomolgus monkeys. *Microbiol Immunol* 30: 1067-1073. 1986.
 - 18) Takeda M, Tahara M, Hashiguchi T, Sato TA, Jinouchi F, Ueki S, Ohno S, Yanagi Y.: A human lung carcinoma cell line supports efficient measles virus growth and syncytium formation via a SLAM- and CD46-independent mechanism. *J Virol.* 81:12091-6. 2007.
 - 19) Tahara M, Takeda M, Shirogane Y, Hashiguchi T, Ohno S, Yanagi Y.: Measles virus infects both polarized epithelial and immune cells by using distinctive receptor-binding sites on its hemagglutinin. *J Virol.* 82:4630-7. 2008 .
 - 20) Shirogane Y, Takeda M, Tahara M, Ikegame S, Nakamura T, Yanagi Y.: Epithelial-mesenchymal transition abolishes the susceptibility of polarized epithelial cell lines to measles virus.: *J Biol Chem.* 2; 285:20882-20890. 2010.
 - 21) Leonard VH, Sinn PL, Hodge G, Miest T, Devaux P, Oezguen N, Braun W, McCray PB Jr, McChesney MB, Cattaneo R.: 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.
 - 22) Noyce RS, Bondre DG, Ha MN, Lin LT, Sisson G, Tsao MS, Richardson CD.: Tumor cell marker PVRL4 (nectin 4) is an epithelial cell receptor for measles virus. *PLoS Pathog.* 7:e1002240. 2011.
 - 23) Mühlebach MD, Mateo M, Sinn PL, Prüfer S, Uhlig KM, Leonard VH, Navaratnarajah CK, Frenzke M, Wong XX, Sawatsky B, Ramachandran S, McCray PB, Cichutek K, von Messling V, Lopez M, Cattaneo R.: Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature*. [Epub ahead of print] 2011.
 - 24) Fabre S, Reymond N, Cocchi F, Menotti L, Dubreuil P, Campadelli-Fiume G, Lopez M.: Prominent role of the Ig-like V domain in trans-interactions of nectins. Nectin3 and nectin 4 bind to the predicted C-C'-C"-D beta-strands of the nectin1 V domain. *J Biol Chem* 277, 27006-27013, 2002.
 - 25) Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K, Yanagi Y.: Structure of the measles virus hemagglutinin bound to its cellular receptor SLAM. *Nat Struct Mol Biol.* 18:135-141. 2011.
 - 26) Santiago C, Celma ML, Stehle T, Casasnovas JM.: Structure of the measles virus hemagglutinin bound to the CD46 receptor. *Nat Struct Mol Biol.* 17:124-129. 2010.
 - 27) Navaratnarajah CK, Oezguen N, Rupp L, Kay L, Leonard VH, Braun W, Cattaneo R.: The heads of the measles virus attachment protein move to transmit the fusion-triggering signal. *Nat Struct Mol Biol.* 18:128-134. 2011.
 - 28) Rima BK, Duprex WP.: Molecular mechanisms of measles virus persistence. *Virus Research* 111: 132- 147, 2005.
 - 29) Seki F, Yamada K, Nakatsu Y, Okamura K, Yanagi Y, Nakayama T, Komase K, Takeda M.: The SI Strain of Measles Virus Derived From an SSPE Patient Possesses Typical Genome Alterations and Unique Amino Acid Changes that Modulate Receptor Specificity and Reduce Membrane Fusion Activity. *J Virol.* 2011 [Epub ahead of print].
 - 30) Ohno S, Ono N, Seki F, Takeda M, Kura S, Tsuzuki T, Yanagi Y.: Measles virus infection of SLAM (CD150) knockin mice reproduces tropism and immunosuppression in human infection. *J Virol.* 81:1650-1659. 2007.
 - 31) Takeda M, Ohno S, Tahara M, Takeuchi H, Shirogane Y, Ohmura H, Nakamura T, Yanagi Y.: Measles viruses possessing the polymerase protein genes of the Edmonston vaccine strain exhibit attenuated gene expression and growth in cultured cells and SLAM knock-in mice. *J Virol.* 82:11979-11984. 2008 .
 - 32) Takeda M.: Measles virus breaks through epithelial cell barriers to achieve transmission. *J Clin Invest.* 118:2386-2389. 2008.
 - 33) Ludlow M, Rennick LJ, Sarlang S, Skibinski G, McQuaid S, Moore T, de Swart RL, Duprex WP.: Wild-type measles virus infection of primary epithelial cells occurs via the basolateral surface without syncytium formation or release of infectious virus. *J Gen Virol.* 91:971-979. 2010

Two Different Receptors for Wild Type Measles Virus

Maino TAHARA, Makoto TAKEDA

Department of Virology III, National Institute of Infectious Diseases

Gakuen 4-7-1, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan

Email: maino@nih.go.jp

Measles is a highly contagious acute viral disease characterized by a maculopapular rash. It causes severe and temporary immune suppression and is often accompanied by secondary bacterial infections. In 2000, signaling lymphocyte activation molecule (SLAM) was identified as a receptor for measles virus (MV). Observations that SLAM is expressed on cells of the immune system provided a good explanation for the lymphotropic and immunosuppressive nature of MV. However, molecular mechanisms of highly contagious nature of MV have remained unclear. Previously we have demonstrated that MV has an intrinsic ability to infect polarized epithelial cells by using a receptor other than SLAM. Recently, nectin4, a cellular adhesion junction molecule, was identified as the epithelial cell receptor for MV. Understanding the molecular mechanisms of MV to infect both epithelial and immune cells provides a deep insight into measles pathogenesis.

