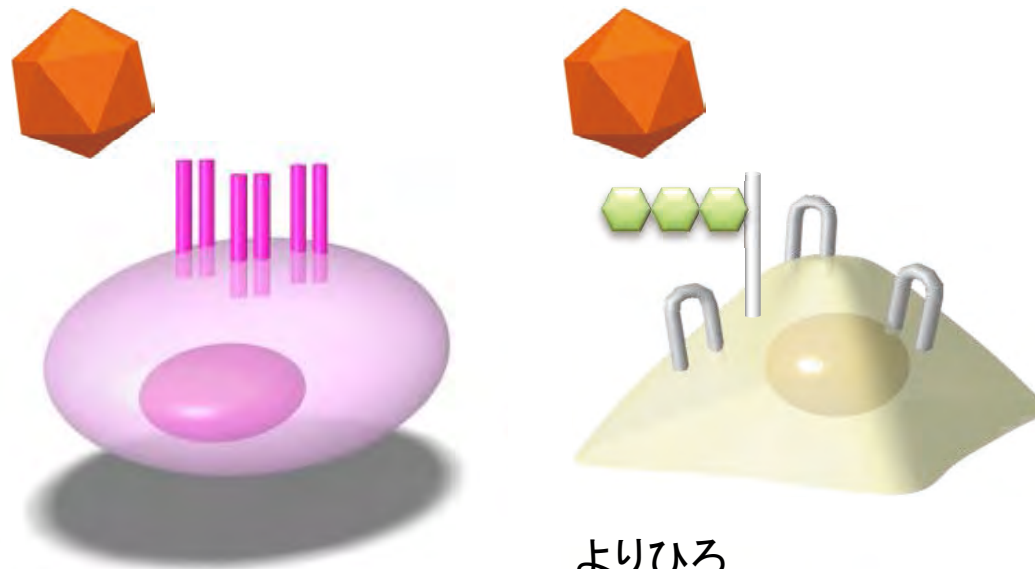


第14回 ウイルス学キャンプ in 湯河原
2017年6月5日

エンテロウイルス71型を受容体に関する 最新の知見



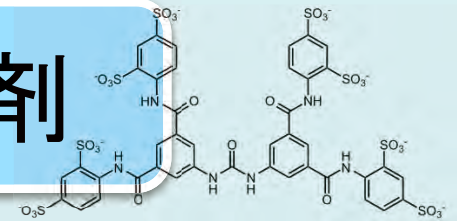
よりひろ
西村 順裕

国立感染症研究所
ウイルス第二部

エンテロウイルス71の受容体

背景：エンテロウイルスと受容体

EV71に作用する感染阻害剤



PSGL-1
(Jurkat細胞)



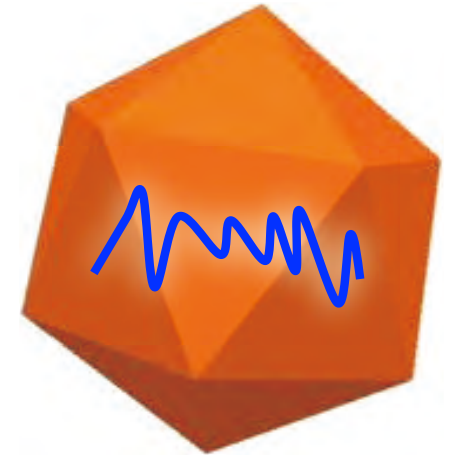
SCARB2
ヘパラン硫酸
(RD細胞)



ピコルナウイルス科

Picornaviridae

小さい RNA (1本鎖、+)



31 Genus

Aphthovirus

Aquamavirus

Avihepatovirus

Avisivirus

Cardiovirus

Cosavirus

Dicipivirus

Enterovirus

Erbovirus

Gallivirus

Hepatovirus

Hunnivirus

Kobuvirus

Kunsagivirus

Limnipivirus

Megrivirus

Mischivirus

Mosavirus

Oscivirus

Parechovirus

Pasivirus

Passerivirus

Potampivirus

Rosavirus

Sakobuvirus

Salivirus

Sapelovirus

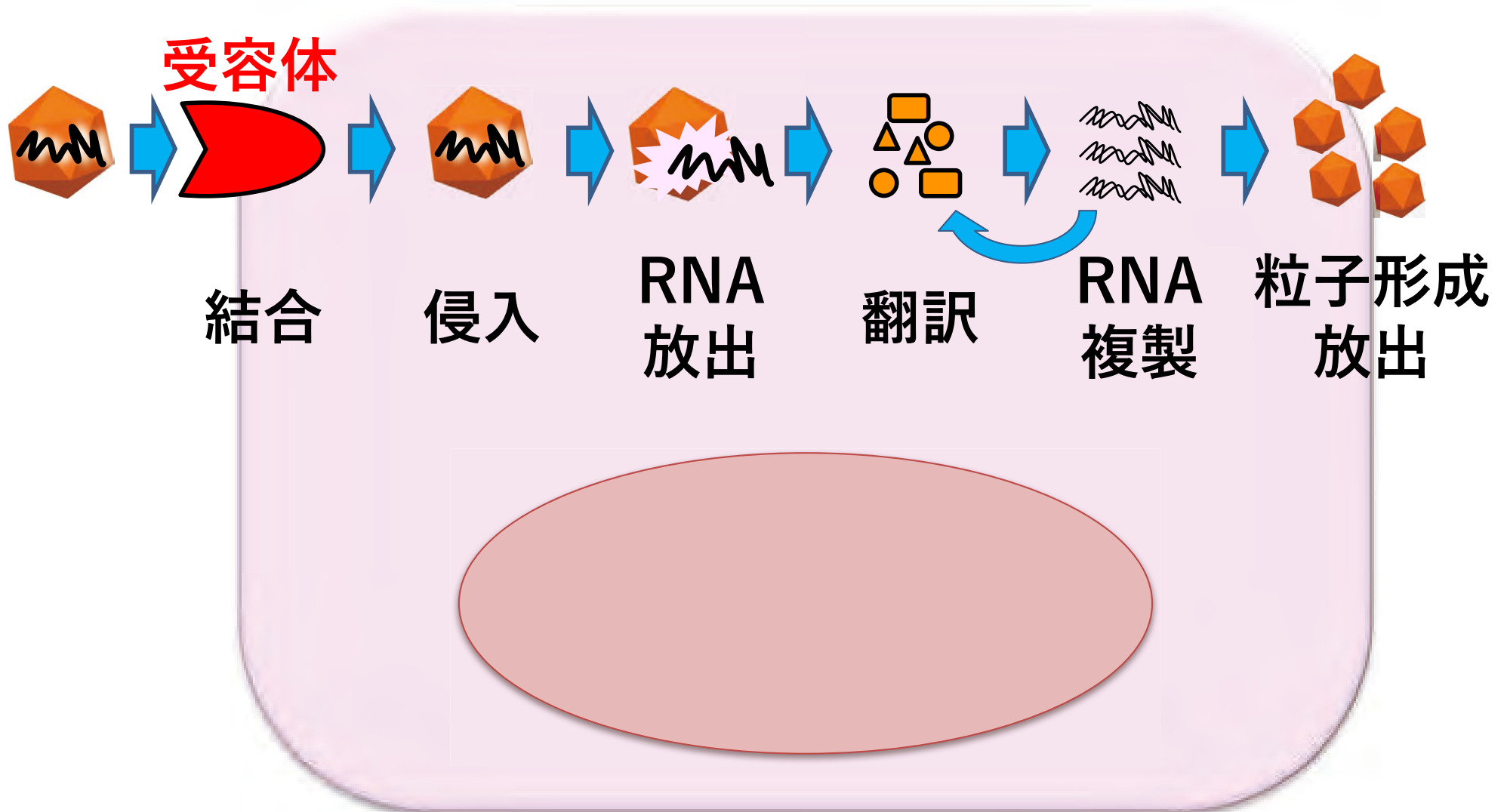
Senecavirus

Sicinivirus

Teschovirus

Tremovirus

エンテロウイルス感染の経過



EV71 受容体

PSGL-1

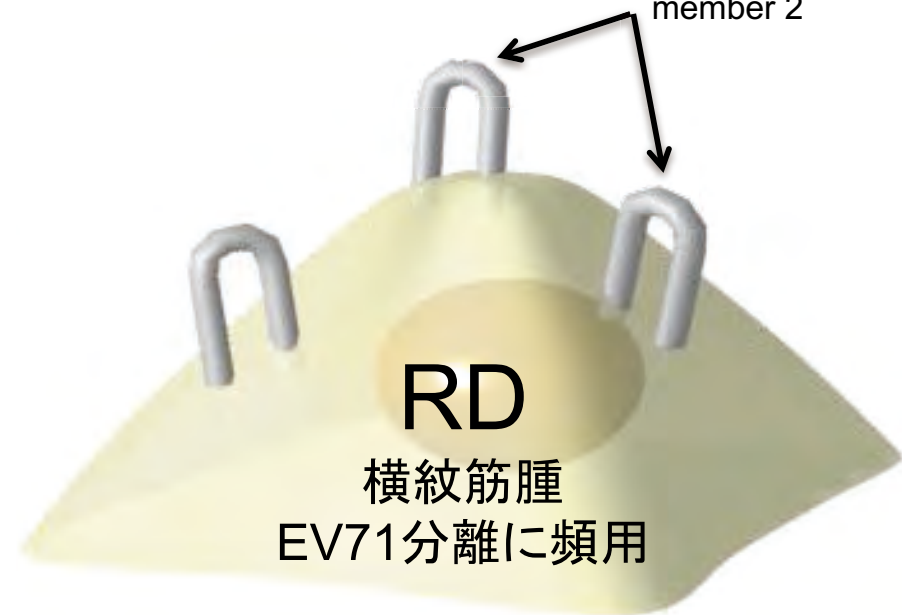
P-selectin glycoprotein ligand 1



Nishimura et al. *Nat Med* 2009

SCARB2

Scavenger receptor class B
member 2



Yamayoshi et al. *Nat Med* 2009

PSGL-1 (CD162)

P-selectin glycoprotein ligand 1

硫酸化がEV71結合に必須

Nishimura et al. *PLoS Pathog* 2010

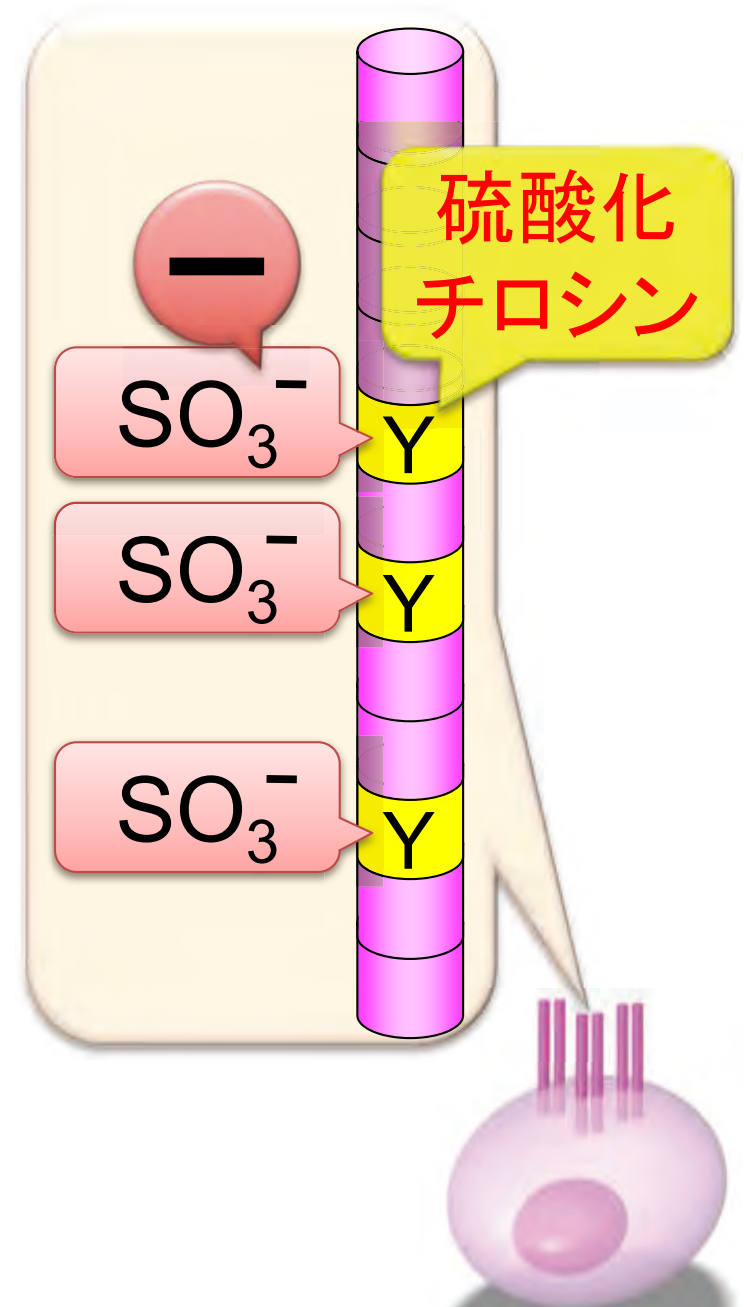
主に白血球、細胞表面

EV71に結合するが、
ウイルス構造変化を誘導しない

Yamayoshi et al. *J Virol* 2013

トランスジェニックマウス
EV71感染性を獲得しない

Liu et al. *Arch Virol* 2012



SCARB2 (LIMP II)

Scavenger receptor class B member 2
Lysosome membrane protein 2

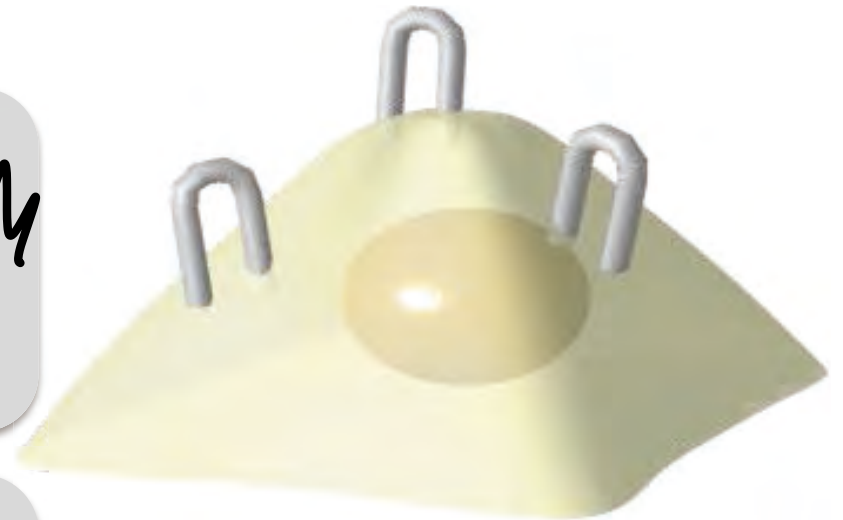
あらゆる組織、主にリソソーム

EV71に結合し、
ウイルス構造変化を誘導する

Yamayoshi et al. *J Virol* 2013

トランスジェニックマウス
EV71感染性を獲得する

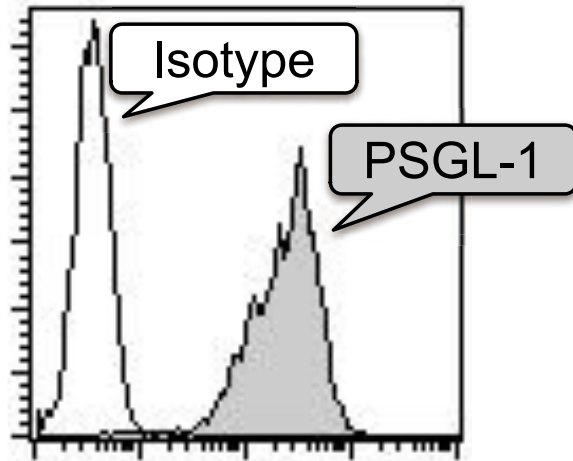
Lin et al. *PLoS One* 2013; Fujii et al. *PNAS* 2013



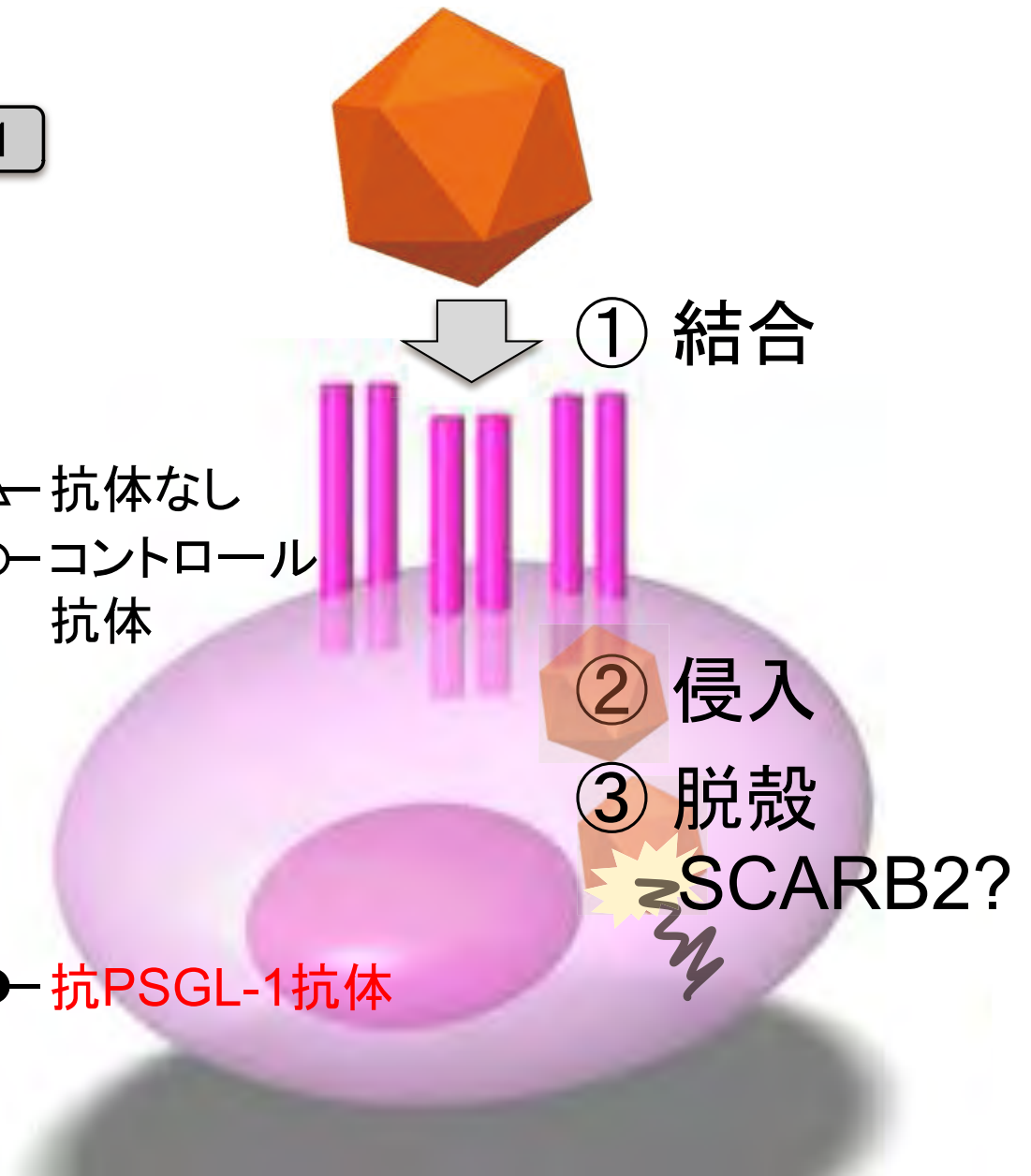
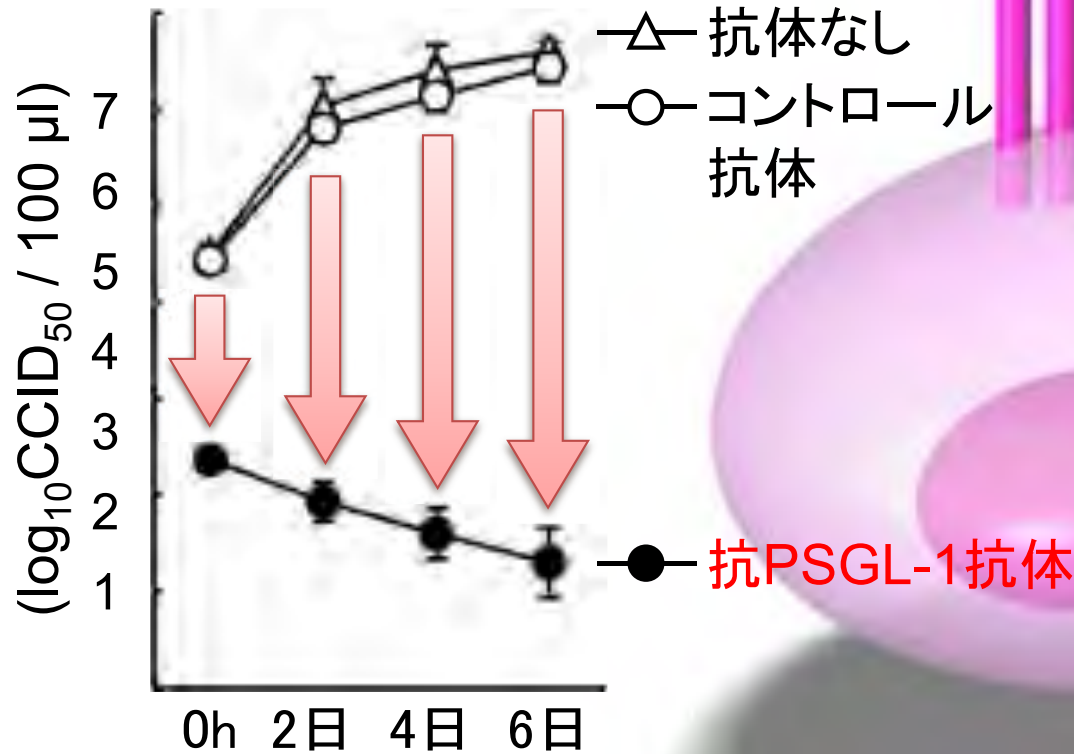
JurkatでのPSGL-1依存的感染

Nishimura et al. *Nat Med* 2009

PSGL-1
発現



EV71
増殖

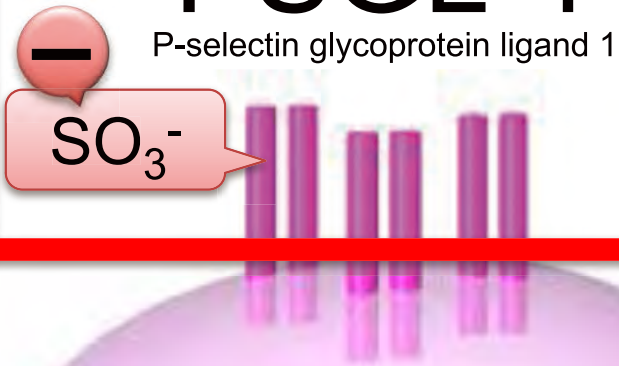


EV71 受容体

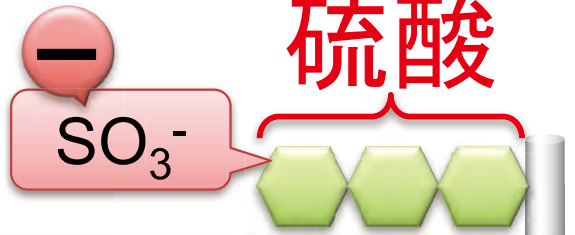
Negative charge

PSGL-1

P-selectin glycoprotein ligand 1

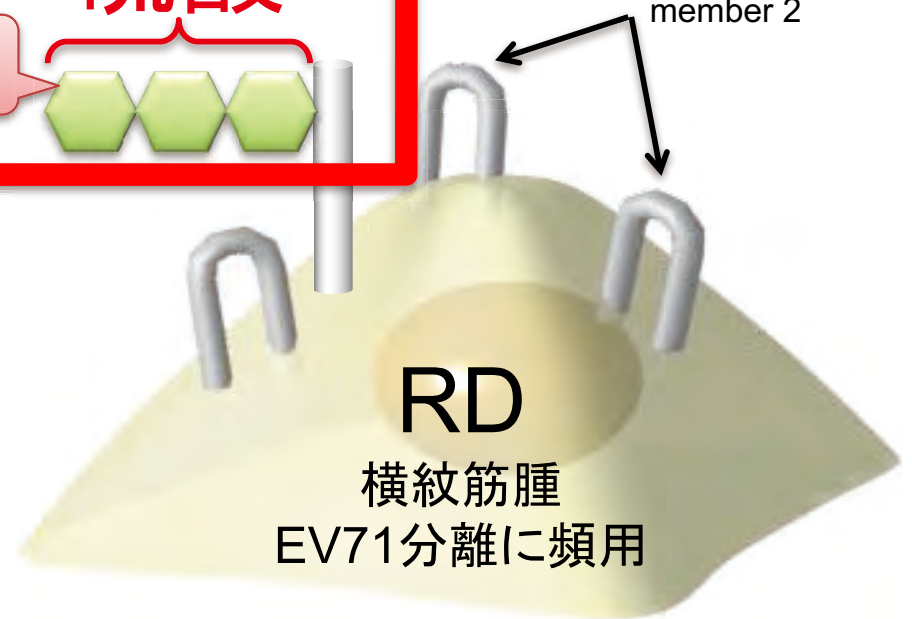


ヘパラン
硫酸



SCARB2

Scavenger receptor class B member 2



RD

横紋筋腫
EV71分離に頻用



Nishimura et al. *Nat Med* 2009

Tan et al. *J Virol* 2013

Yamayoshi et al. *Nat Med* 2009

Annexin II (Yang et al. *J Virol* 2011)

Nucleolin (Su et al. *J Virol* 2015)

まとめ ①

Picornavirus科 Enterovirus属

手足口病

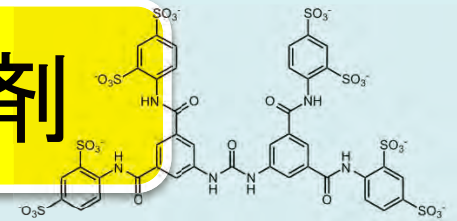
まれに重篤な中枢神経合併症

PSGL-1、ヘパラン硫酸、SCARB2 など

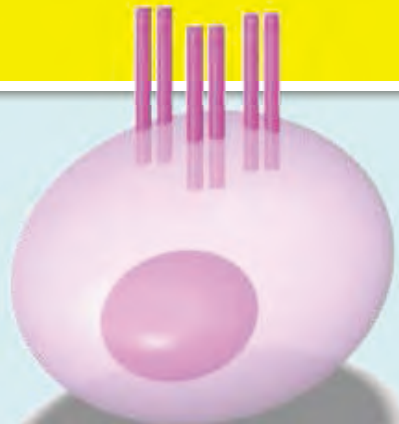
エンテロウイルス71の受容体

背景：エンテロウイルスと受容体

EV71に作用する感染阻害剤



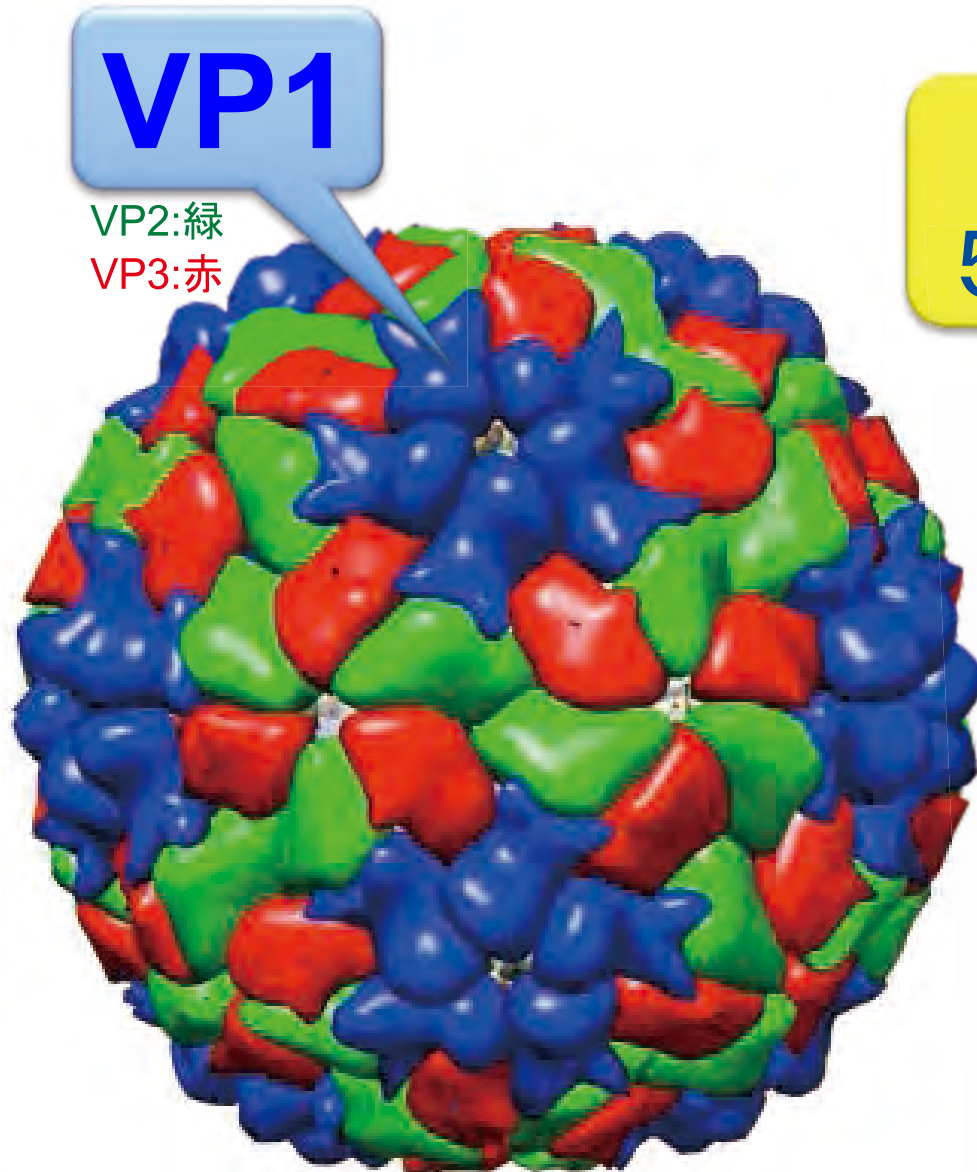
PSGL-1
(Jurkat細胞)



SCARB2
ヘパラン硫酸
(RD細胞)



EV71の構造(正20面体)

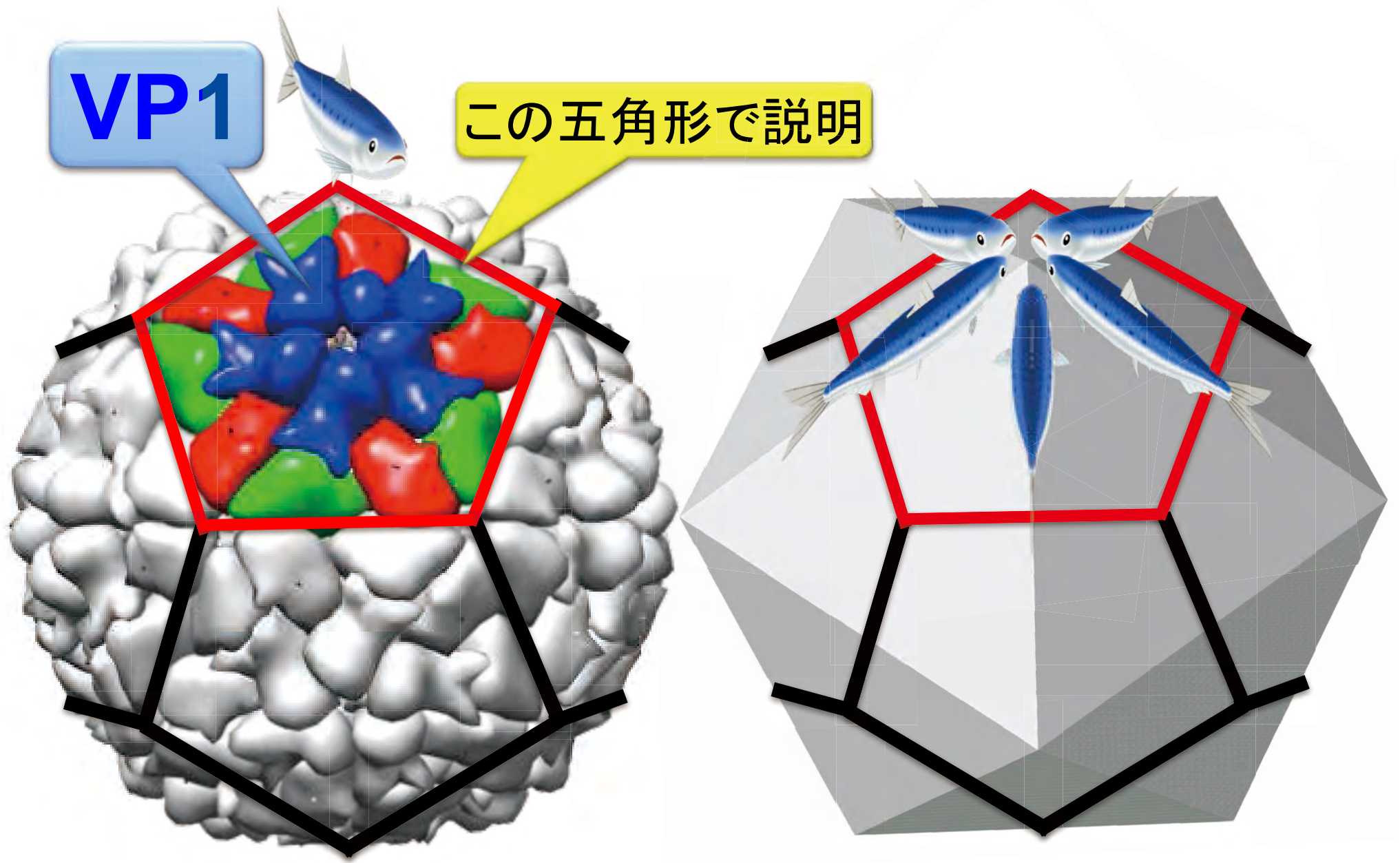


VP1が
5個集合

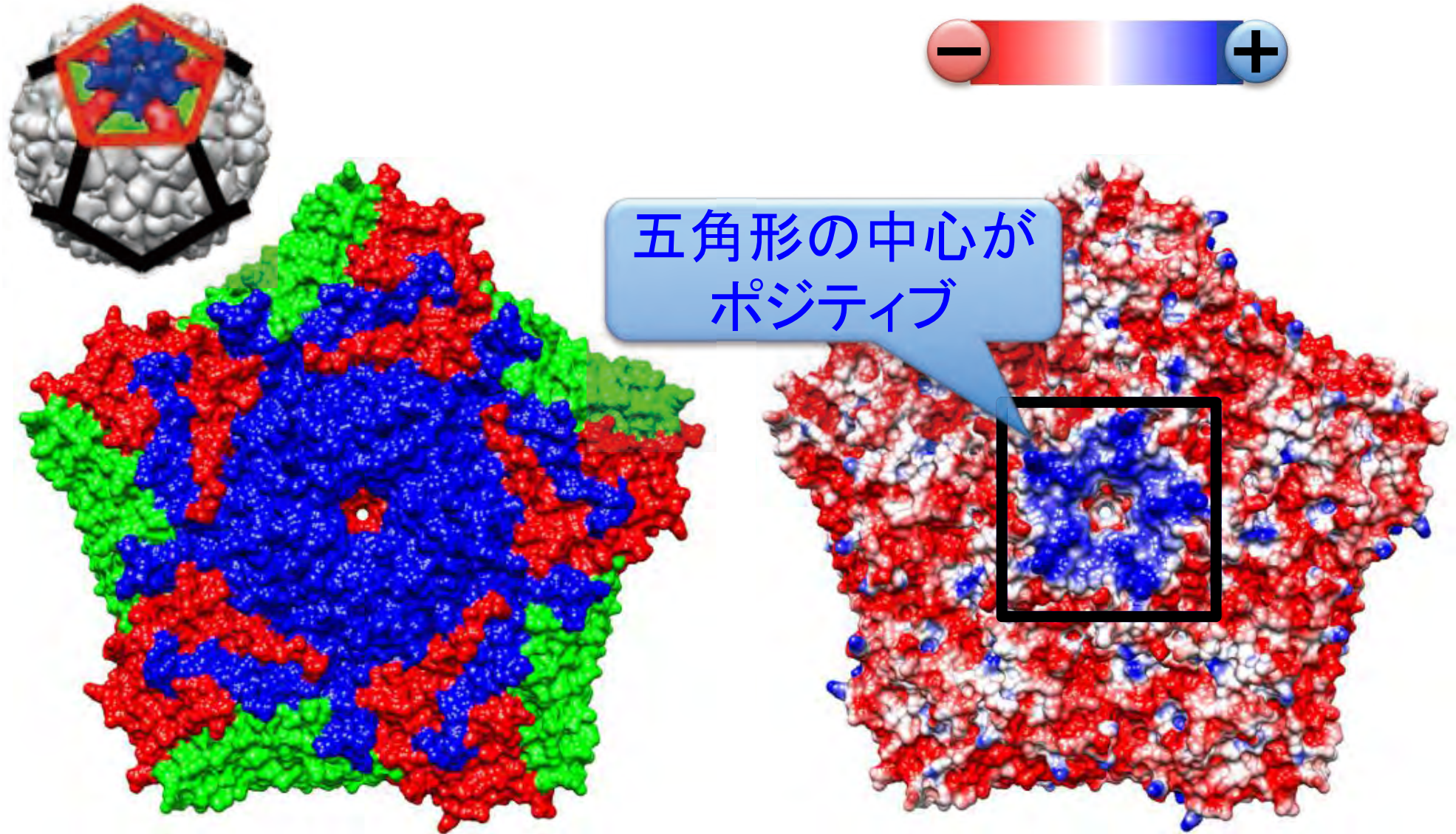
頂点は
12個



VP1に着目 → 五角錐 x 12



EV71の静電ポテンシャルマップ

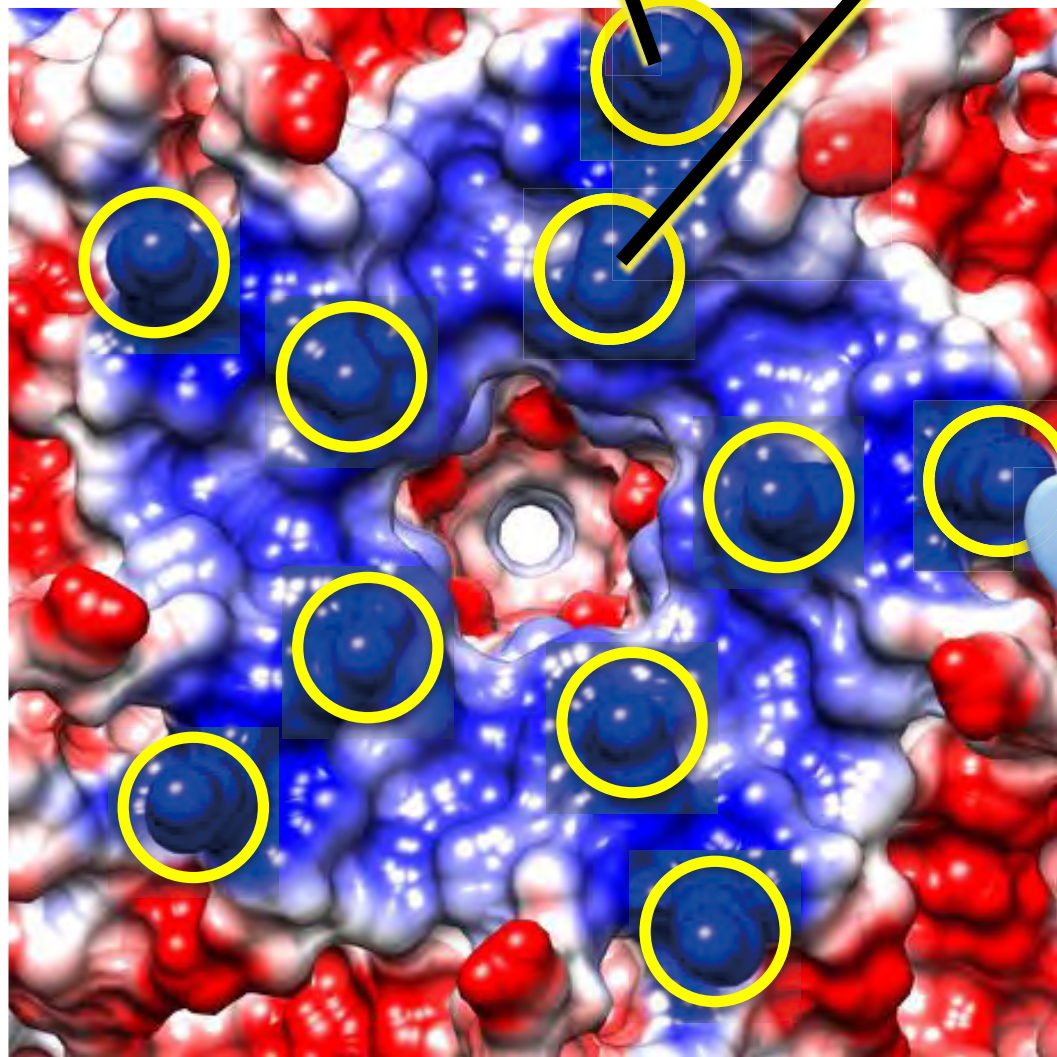


Plevka et al. *Science* 2012
(4AED)

リシンが集合

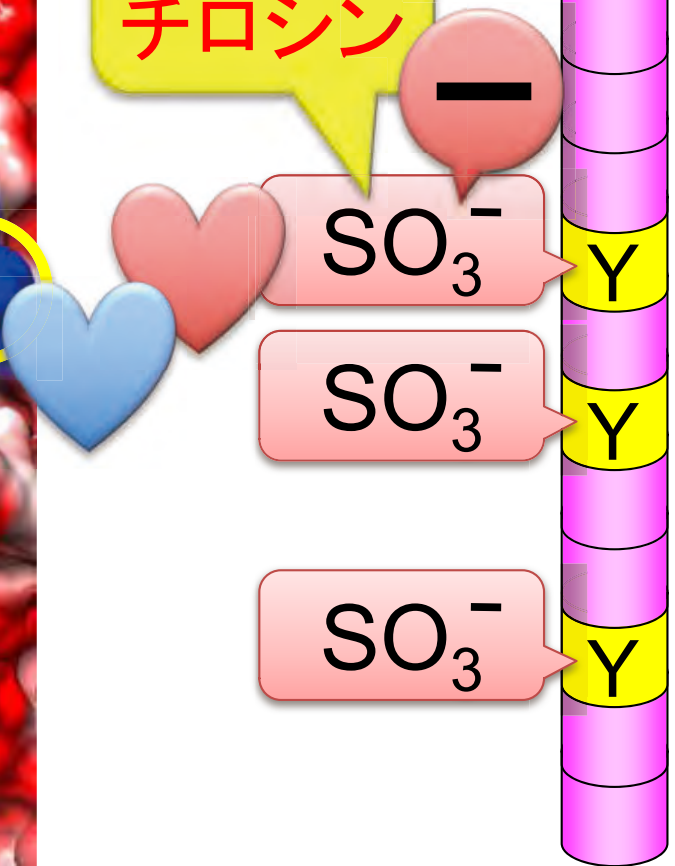
アラニン置換で
結合低下？

+ K242 K244 +

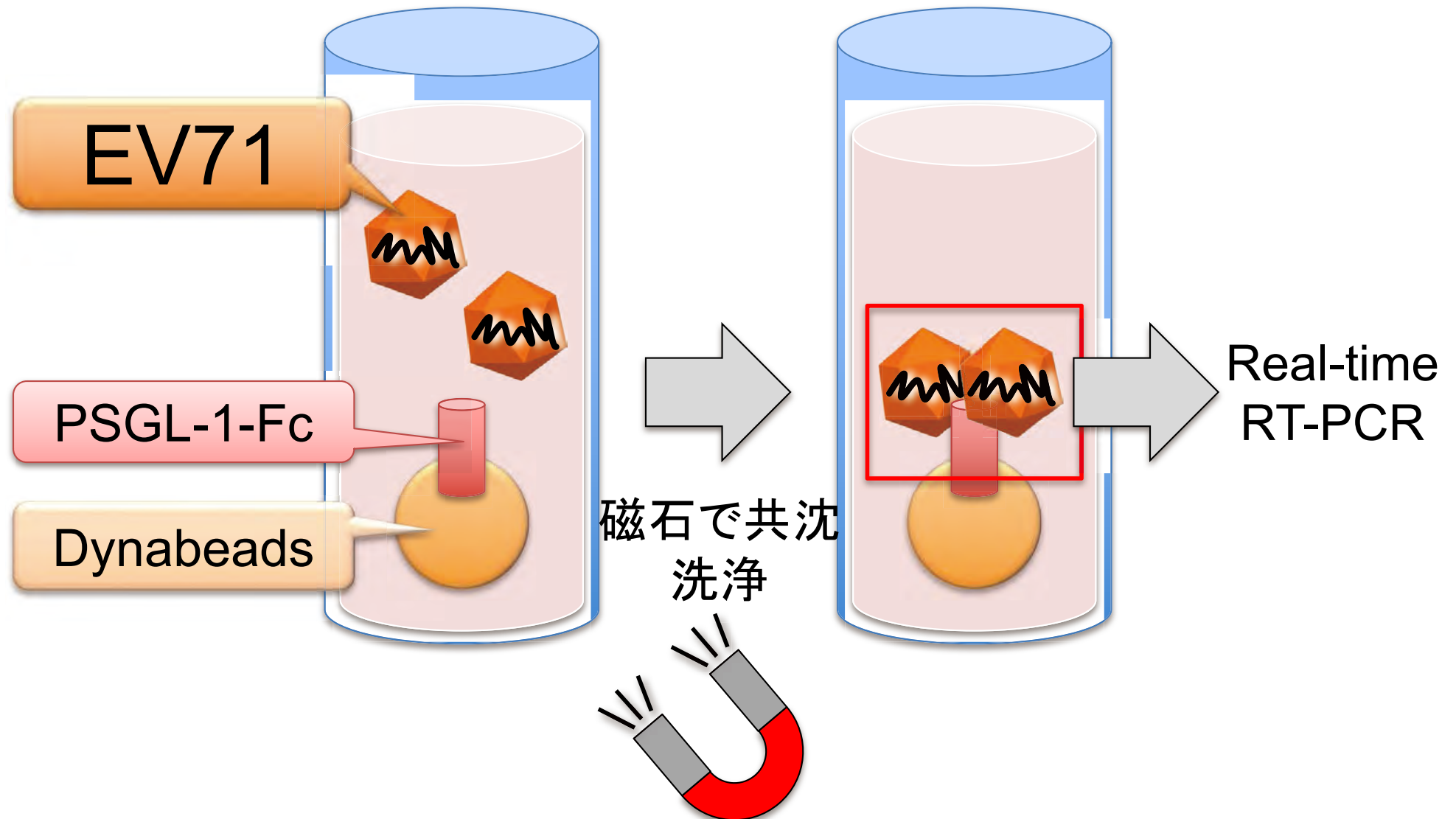


PSGL-1

硫酸化
チロシン

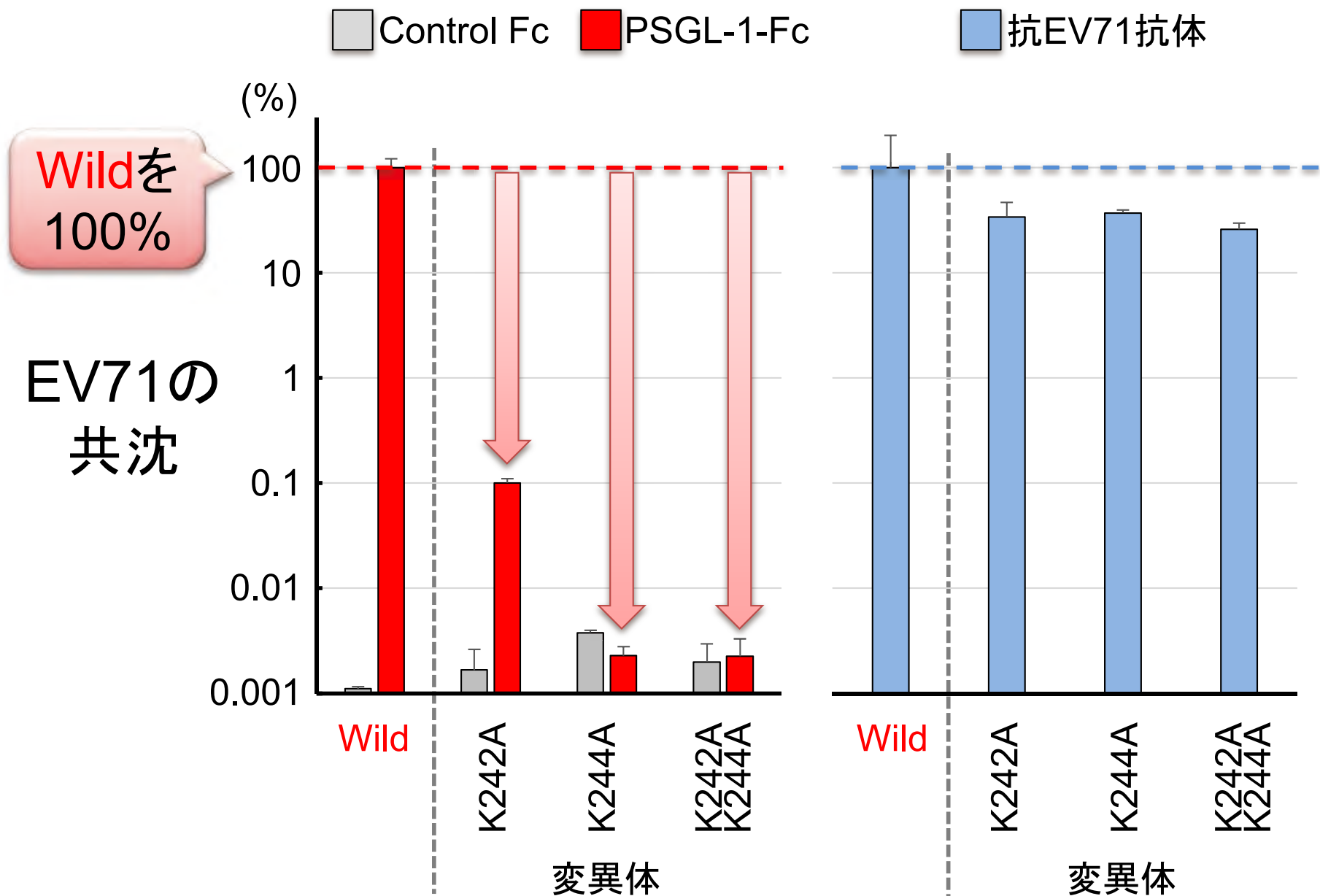


PSGL-1-Fc 結合アッセイ



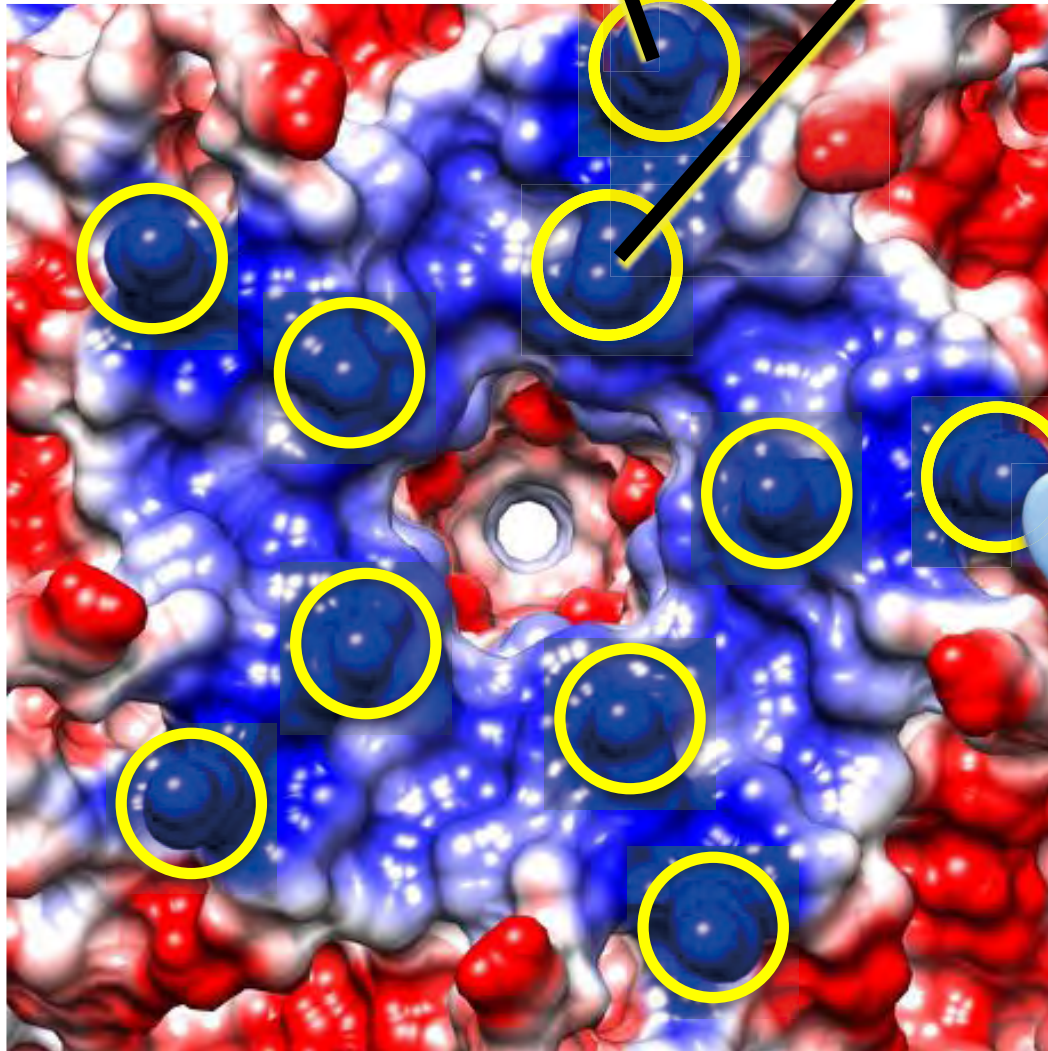
リシンがPSGL-1結合に必要

Nishimura et al. *PLoS Pathog* 2013



リシンがPSGL-1結合に必要

+ K242 K244 +



PSGL-1

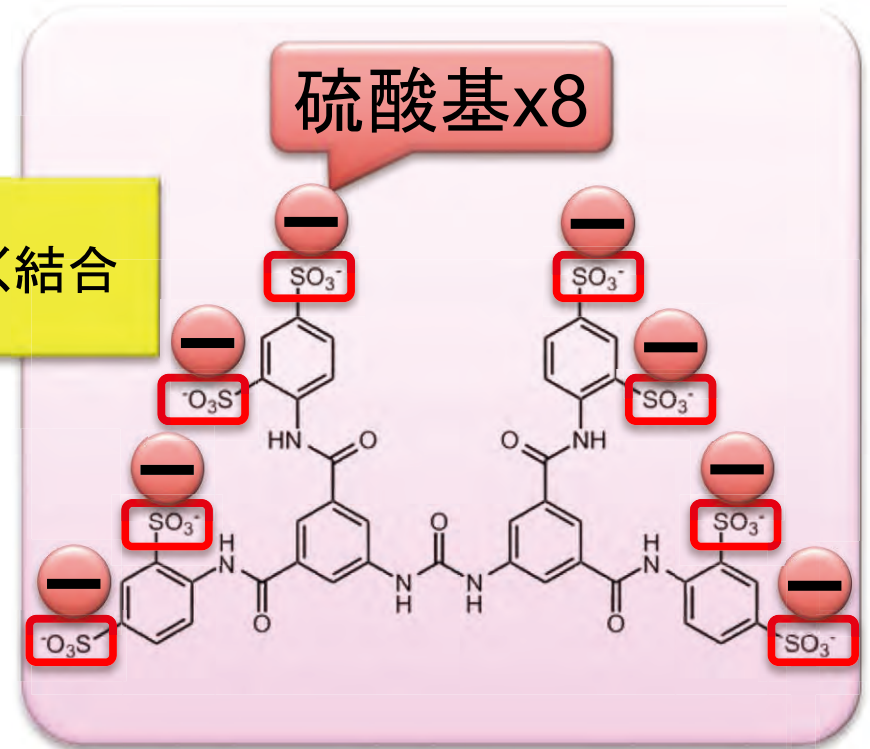
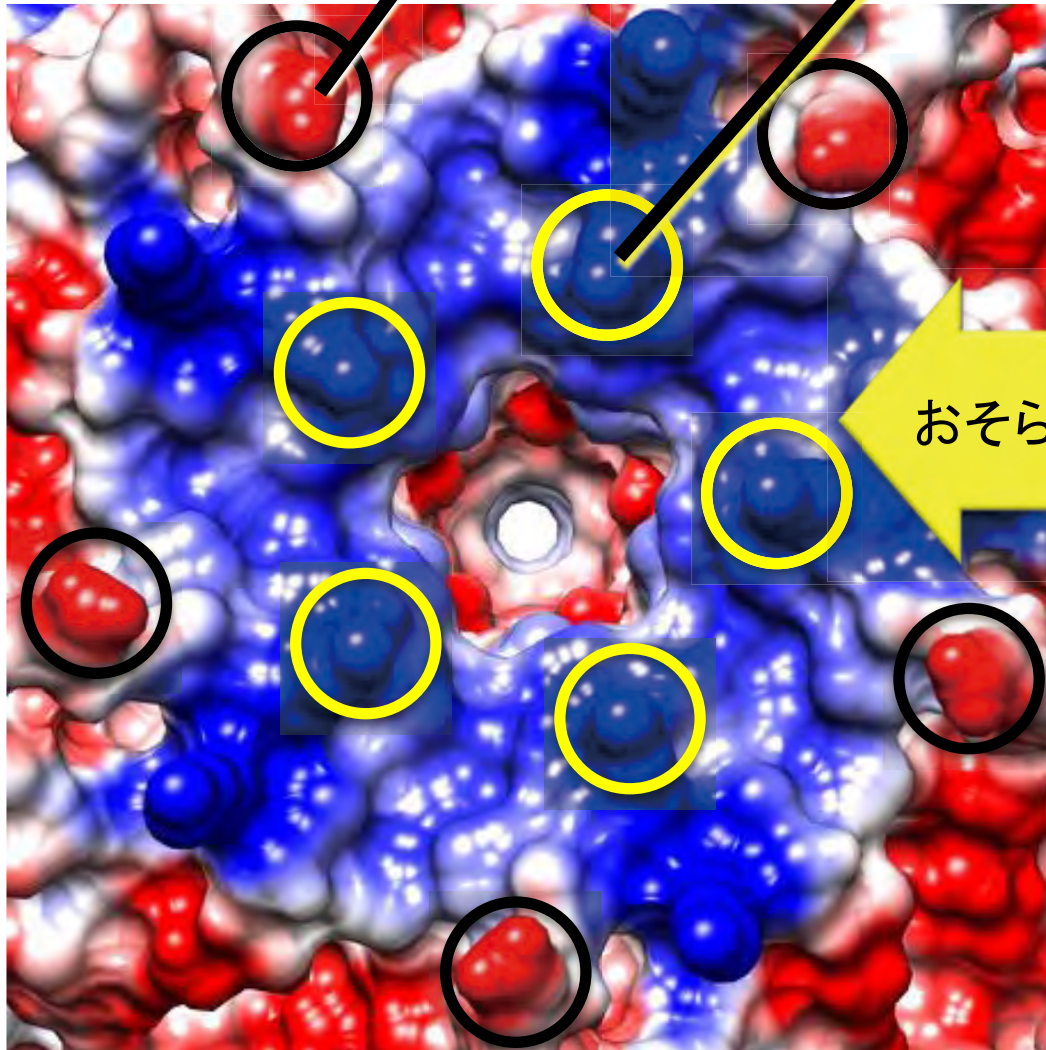


EV71感染阻害化合物: NF449

Arita et al. *J Gen Virol* 2008

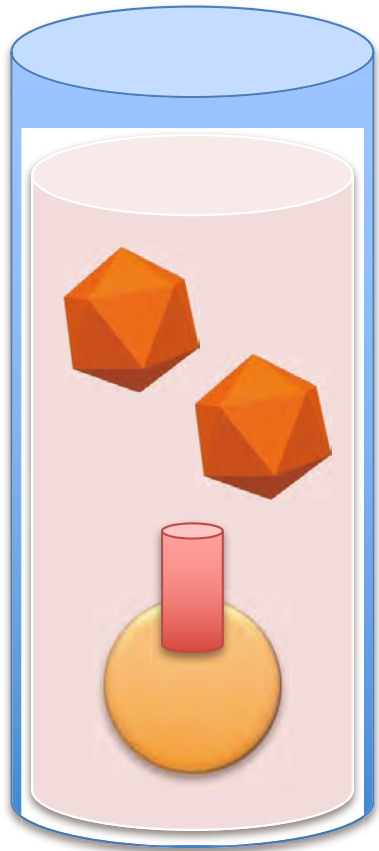
エスケープ変異は二つ **+**
E98 K244

感染初期
(2 hr以内)に作用



NF449は EV71とPSGL-1-Fcの結合を阻害

EV71



PSGL-1-Fc

Control Fc

VP1

Negative control

No inhibitor

2

3

6

13

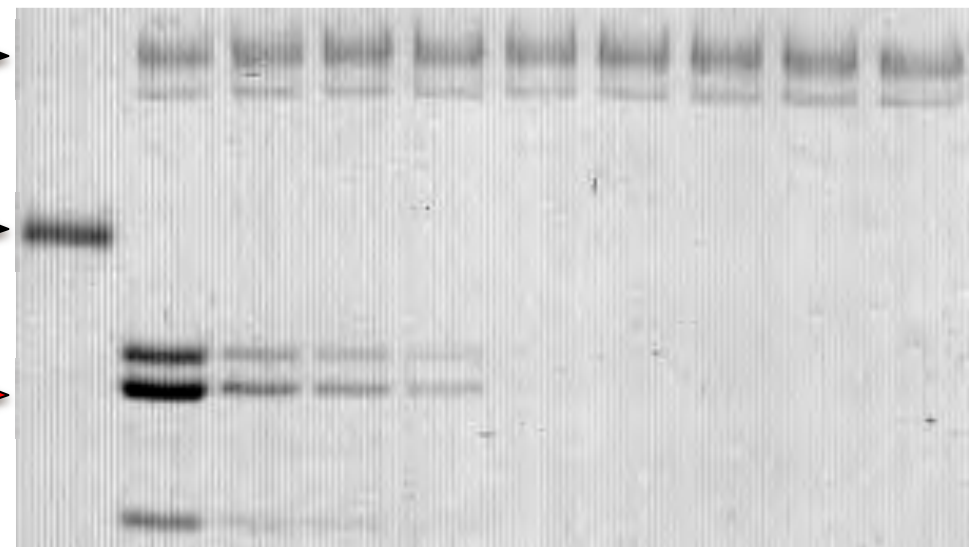
25

50

100

200

NF449 (μM)



PSGL-1に
依存して感染

NF449は

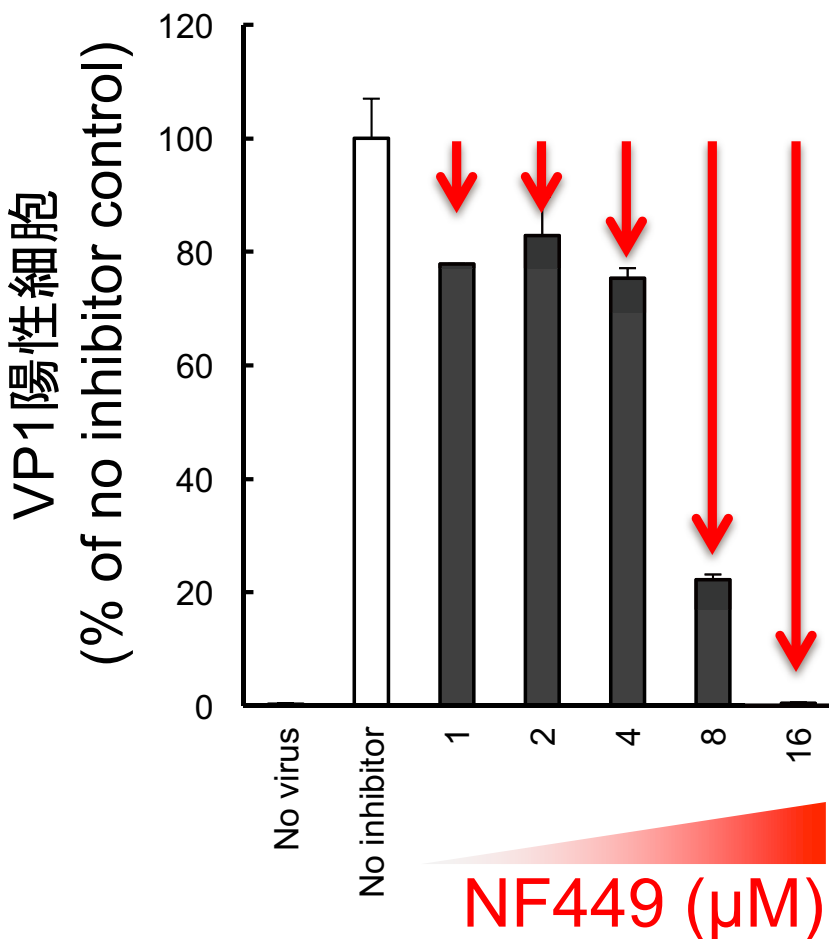
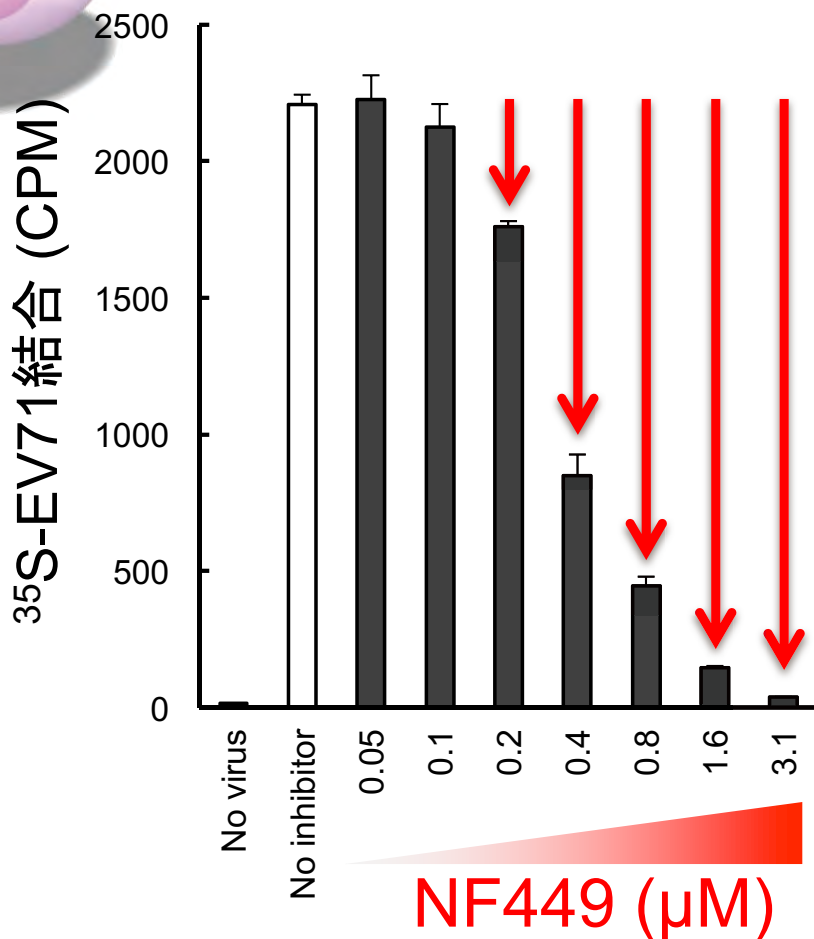
Jurkat細胞への結合・感染を阻害

Nishimura et al. *PLoS Pathog* 2015



結合

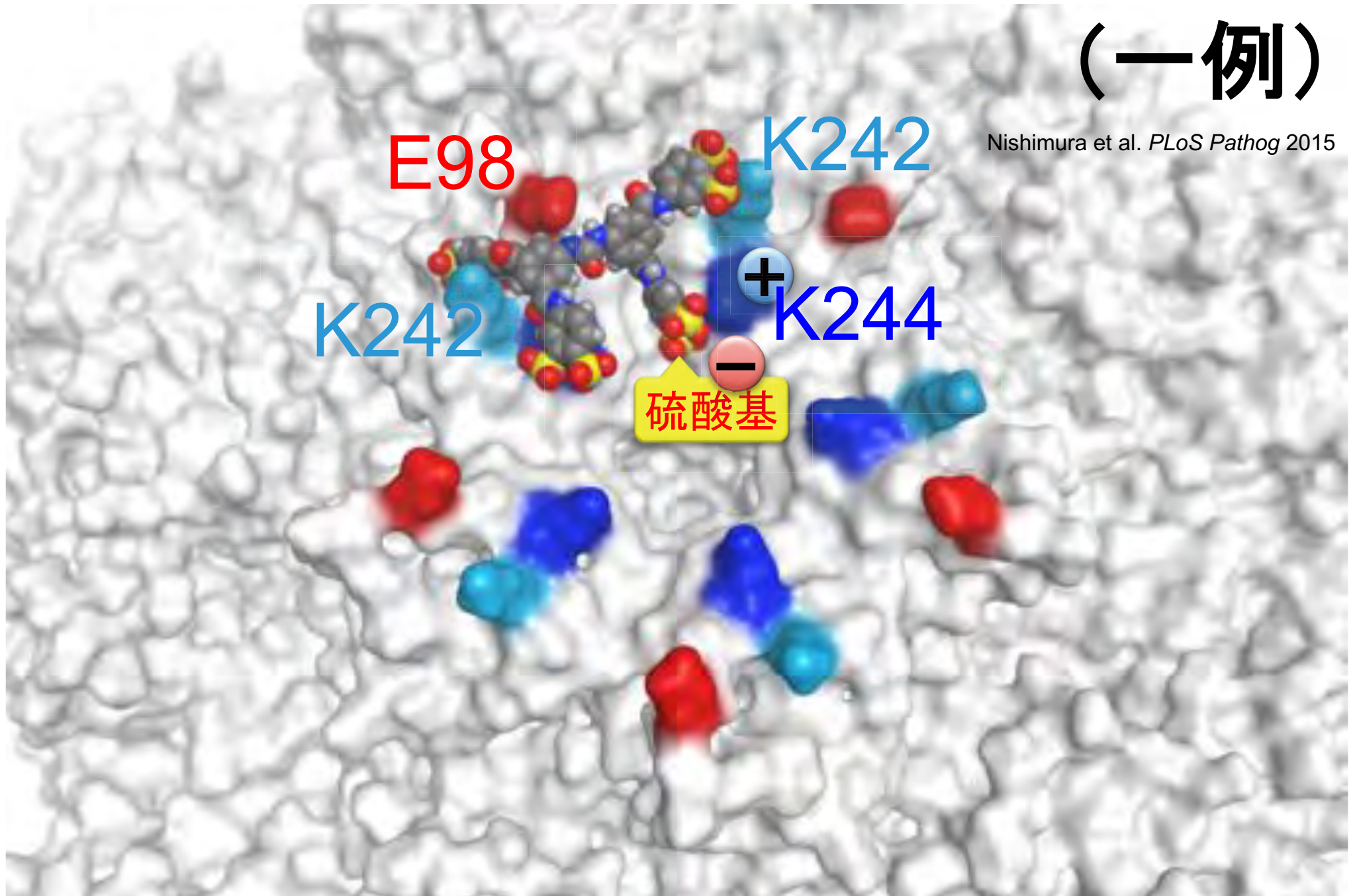
感染・複製 (16h後)



EV71-NF449ドッキングモデル

(一例)

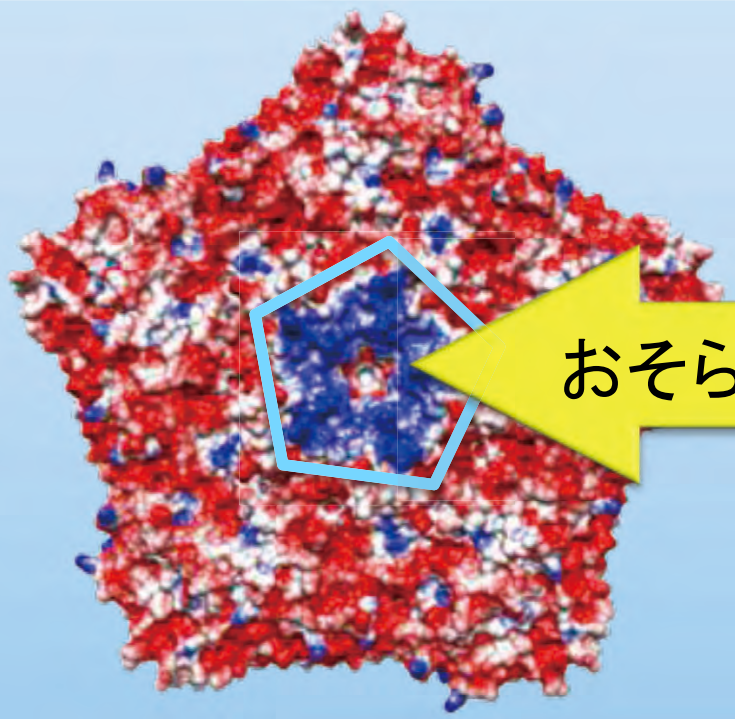
Nishimura et al. *PLoS Pathog* 2015



まとめ ②

EV71 **+**

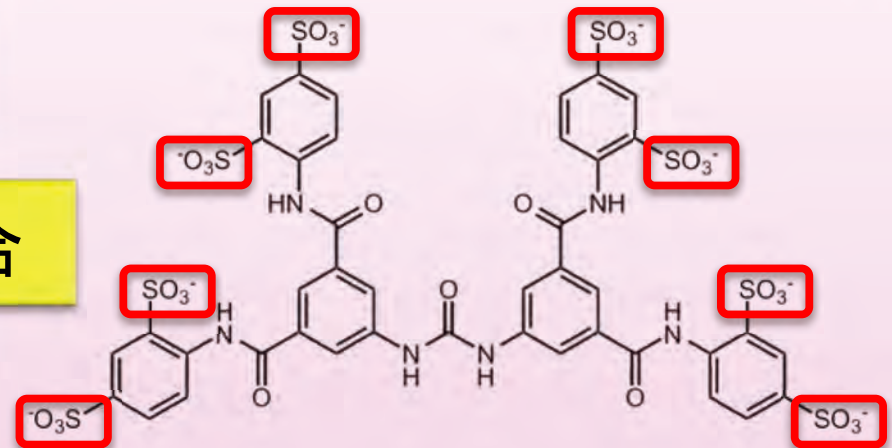
リシンが集合



おそらく結合

NF449 **-**

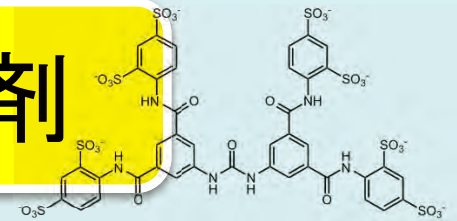
硫酸基 x 8



エンテロウイルス71の受容体

背景：エンテロウイルスと受容体

EV71に作用する感染阻害剤



PSGL-1
(Jurkat細胞)



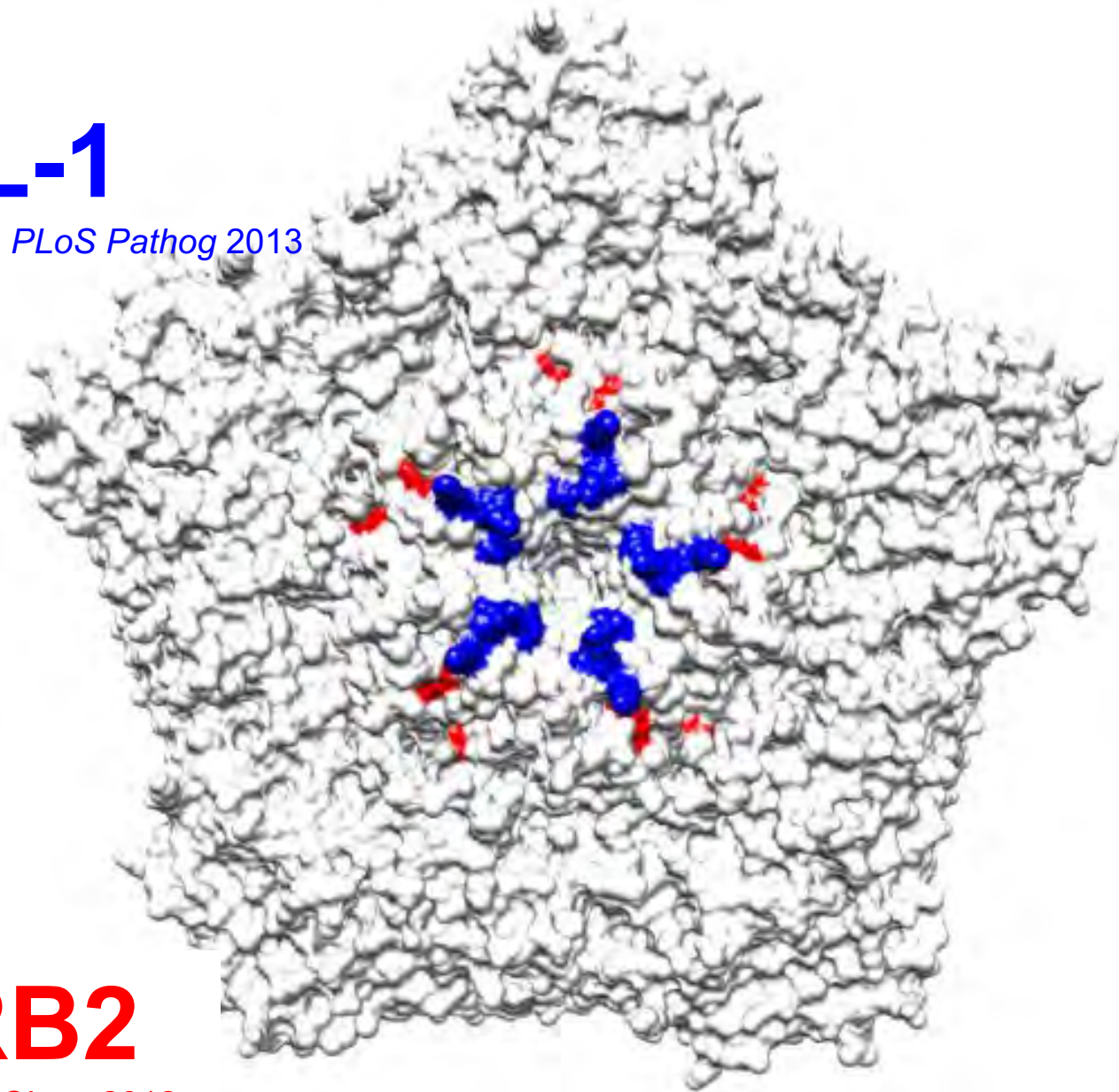
SCARB2
ヘパラン硫酸
(RD細胞)



受容体結合に重要なアミノ酸

PSGL-1

Nishimura et al. *PLoS Pathog* 2013



SCARB2

Chen et al. *J Biol Chem* 2012

相互作用に重要な部位

PSGL-1 5回転軸周辺

ヘパラン硫酸

NF449

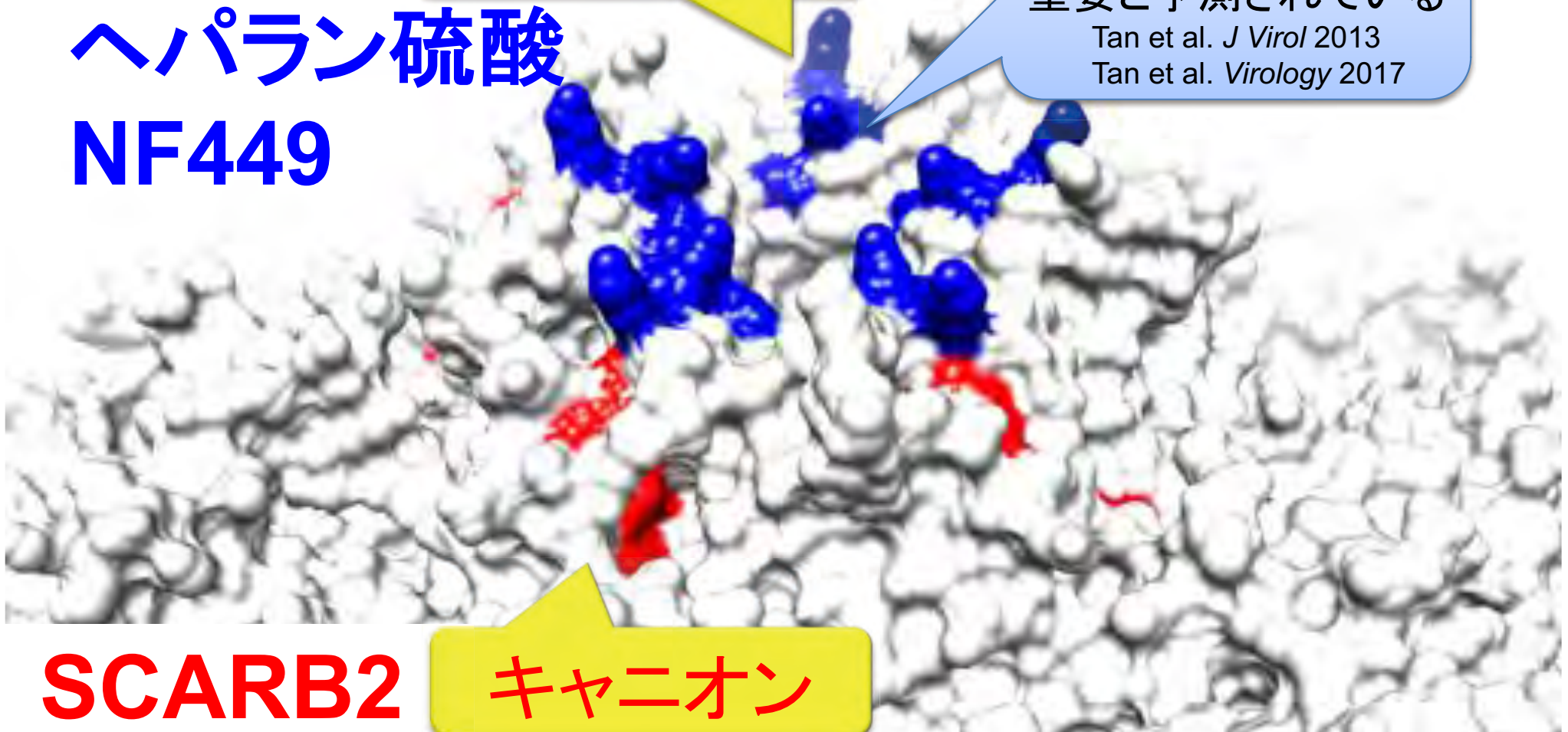
VP1-K244などは、
ヘパラン硫酸結合にも
重要と予測されている

Tan et al. *J Virol* 2013

Tan et al. *Virology* 2017

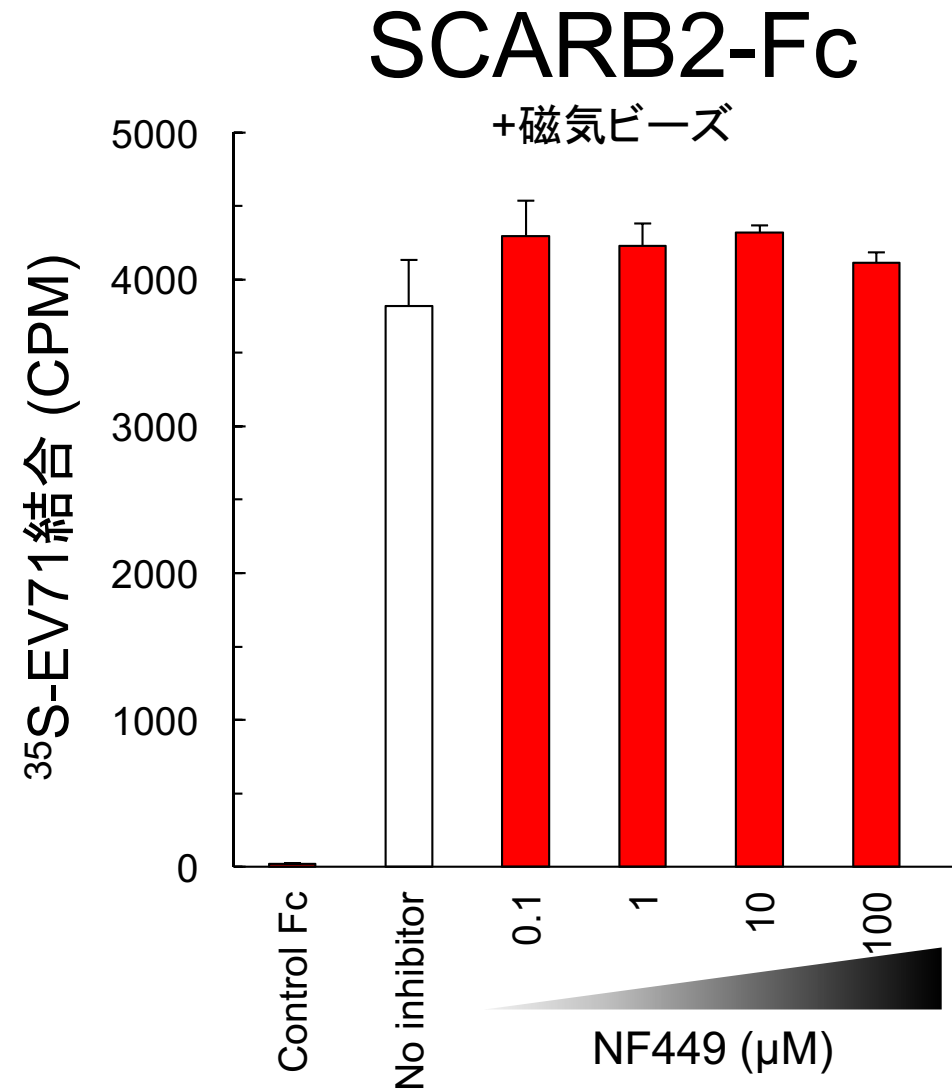
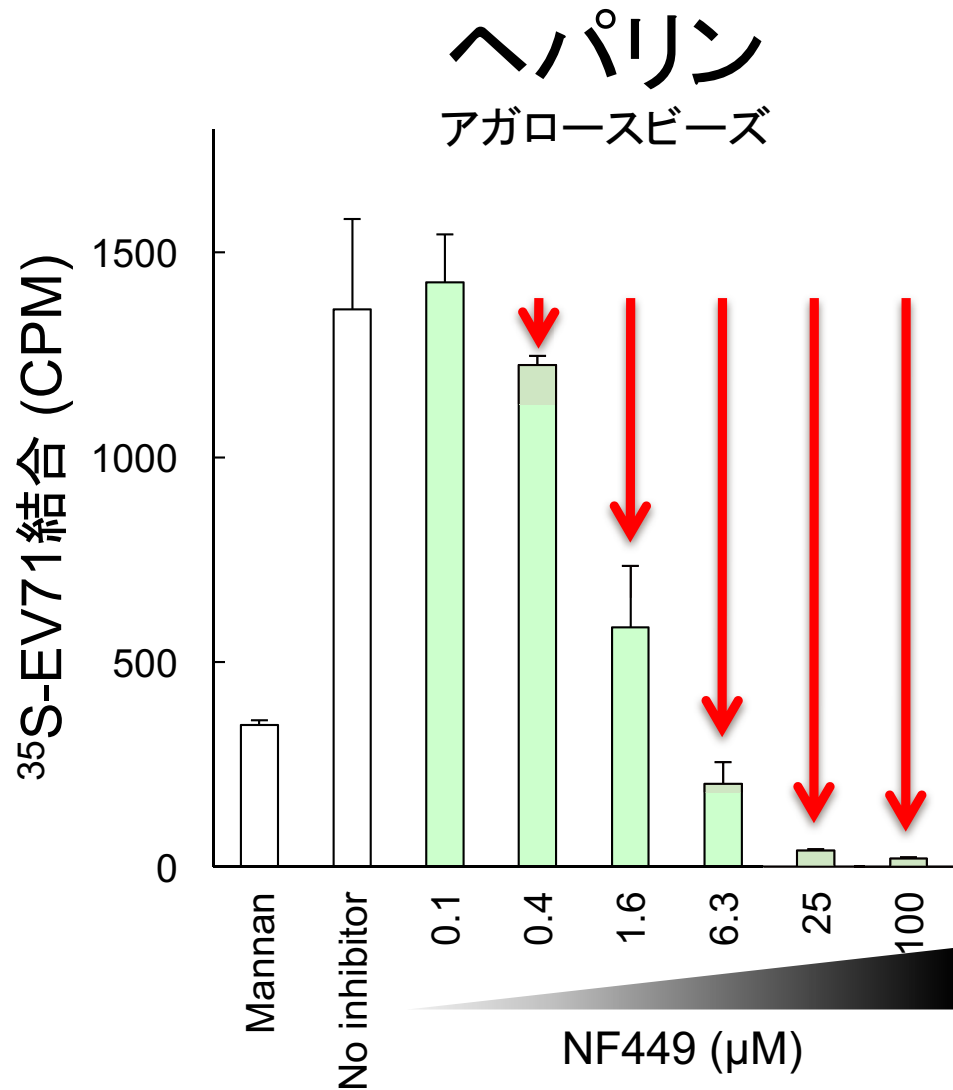
SCARB2

キャニオン



NF449は EV71-SCARB2を阻害しない

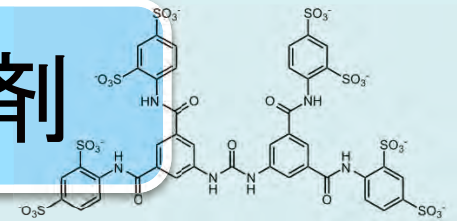
Nishimura et al. *PLoS Pathog* 2015



エンテロウイルス71の受容体

背景：エンテロウイルスと受容体

EV71に作用する感染阻害剤



PSGL-1
(Jurkat細胞)



SCARB2
ヘパラン硫酸
(RD細胞)



若手研究者へのメッセージ

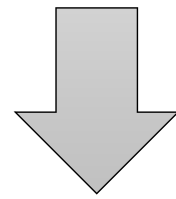
ヒューマンエラー

人生は楽しむもの

ダイヤル式のカギ



たまたま、開くことがある



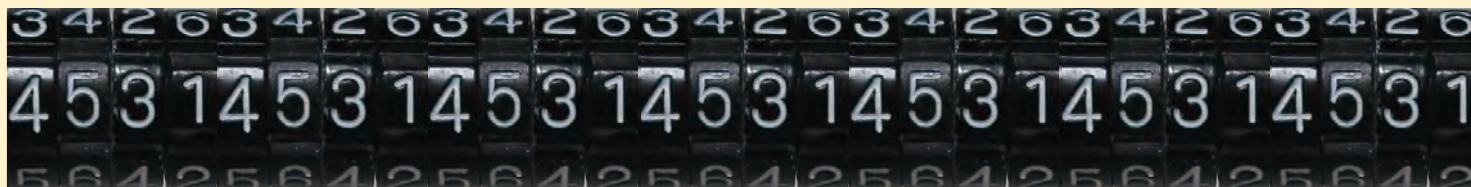
カチャカチャまわす



RNAワールド

2
3
4
数字を a
c
g
u に変更

どんどん繋げて長くする



カチャカチャまわす(エラー)

いつか、生命(ウイルス)ができる

ウイルスに目的があるか？

なんでか、わからないけど、
増えちゃってます (^_^)



いつか、生命(ウイルス)ができる

ヒトは「何のために」
生きているのか？

答えはおそらく、ない？

私は運良く、生きちゃってる

人生を楽しむことが大切

生命(人間)は、普通、間違える

ヒューマンエラーを徹底的になくす

自分を疑い、「間違いさがし」のように何度も確認する etc.

疲れるが、再現性のあるデータ

早く実験が終わる

できた時間を
人生を楽しむことに使う

謝辞

フィラデルフィア小児病院
Division of Infectious Diseases
ペンシルベニア大学
Department of Pediatrics

Jeffrey M. Bergelson

ペンシルベニア州立大学
Department of
Microbiology
and Immunology

Susan Hafenstein
Hyunwook Lee

国立感染症研究所
ウイルス第二部

清水 博之
有田 峰太郎