

1. RNA ウイルスの病原性, 進化, 集団内相互作用

白 銀 勇 太

九州大学大学院 医学研究院 ウイルス学

麻疹ウイルス (Measles virus) は急性熱性発疹性疾患である麻疹 (はしか) の原因であるが、まれに脳に持続感染し致死的な神経変性疾患である亜急性硬化性全脳炎 (subacute sclerosing panencephalitis, SSPE) を引き起こす。野生型の麻疹ウイルスは神経親和性を持たないため、感染個体内でウイルスが進化することにより神経増殖能を獲得し SSPE を引き起こすと考えられる。我々は SSPE 分離株の解析により、麻疹ウイルスは融合 (F) 遺伝子の変異により神経接着因子 Cell adhesion molecule 1 (CADM1) および CADM2 を受容体模倣因子として利用可能となり、神経細胞同士をシナプス領域で融合させてゲノムを伝播することを明らかにした。またこの増殖様式では複数のゲノムが細胞融合を介して集団伝播する。したがって感染細胞では異なるゲノムにコードされる F タンパク質が共発現し、機能的に正負の相互作用が生じることで集団としての麻疹ウイルス神経増殖能が決定される。本稿ではこのような麻疹ウイルスの神経病原性獲得メカニズムについて我々の研究成果を中心に概説したい。

1. はじめに

RNA ウイルスは一般的にゲノム複製時のエラー率が高く、一つのウイルス集団内に多数のバリエーションが混在する「疑似種 (quasispecies)」と呼ばれる状態になる^{1,2)}。その特性はウイルスの迅速な進化を可能にし、抗原性の変化による宿主免疫の回避、抗ウイルス薬に対する耐性獲得、また新興ウイルス感染症の出現などにつながるため、RNA ウイルスの進化メカニズムの解明によりウイルス感染症を制御するための重要な知見が得られる。我々は麻疹ウイルスが感染個体内で進化して引き起こす合併症、亜急性硬化性全脳炎 (subacute sclerosing panencephalitis, SSPE) の研究に継続して取り組んできた。本稿では我々の研究成果を中心に、麻疹ウイルスによる SSPE 発症メカニズムについて現在分かっていることを概説したい。

2. 麻疹の病態と麻疹ウイルス

麻疹 (ましん, はしか) は麻疹ウイルスの感染によって起こる急性熱性発疹性疾患である³⁾。発熱、結膜炎、咳嗽といった症状に続き、麻疹に特徴的な口腔内のコプリック斑や全身性の斑状発疹が出現する。中には肺炎、中耳炎、クループ、脳炎などの重篤な合併症が起こる場合もある。また麻疹ウイルスは主に免疫細胞で増殖し、記憶リンパ球が減少するため数週間以上続く免疫抑制を引き起こす⁴⁾。そのため他の細菌やウイルスによる二次感染も起こりやすくなる^{5,6)}。致死率は先進国においては0.1%程度であるが、栄養状態の悪い途上国では時に5%にも達する⁷⁾。幸いなことに安全で効果的な弱毒生ワクチンが開発されており、接種率の高い本邦では土着の麻疹ウイルスの流行は見られない (2015年にWHOにより排除状態に認定)。しかしながら現在でも発展途上国を中心に流行が続いており、WHOの推計によれば2021年の1年間に世界で900万人が麻疹に罹患し、12万8千人が死亡している。本邦においても麻疹流行国からの輸入症例について引き続き注意が必要である。

麻疹ウイルス (図1A) 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、非分節一本鎖ネガティブ鎖RNAをゲノムとして持つ⁸⁾。ウイルス粒子はエンベロープ (脂質二重膜) に包まれており、細胞侵入時には標的細

連絡先

〒812-8582

福岡県福岡市東区馬出3-1-1

九州大学大学院 医学研究院 ウイルス学

TEL: 092-642-6138

FAX: 092-642-6140

E-mail: shirogane.yuta.528@m.kyushu-u.ac.jp

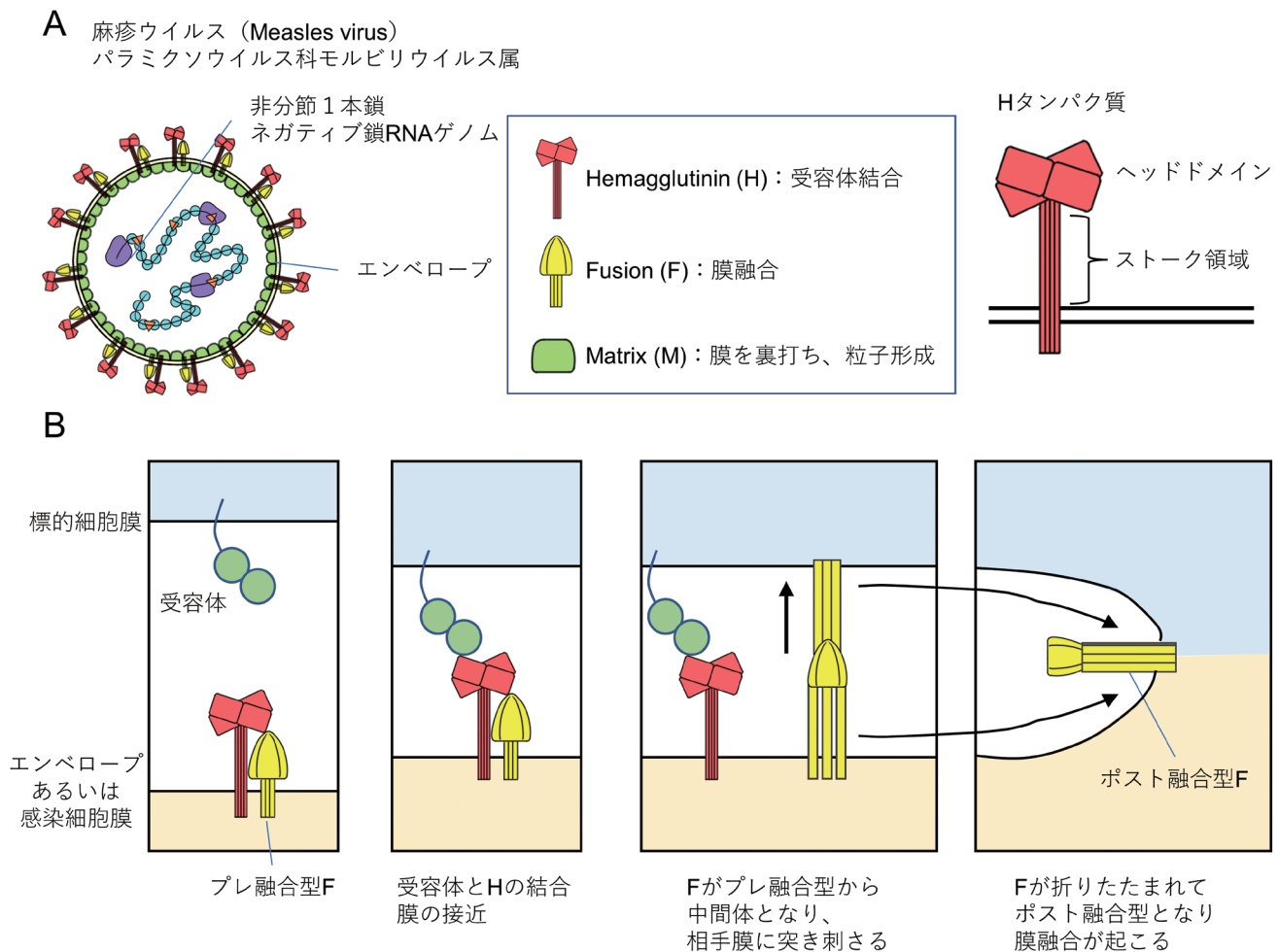


図1 A. 麻疹ウイルスの粒子構造とエンベロープタンパク質. B. 麻疹ウイルスによる膜融合メカニズム.

胞膜と自身のエンベロープを融合させて粒子内部のゲノムを細胞質に送りこむ. その膜融合を担うタンパク質として, 麻疹ウイルスのエンベロープ上にはヘマグルチニン (hemagglutinin, H) タンパク質と融合 (fusion, F) タンパク質の二種類の糖タンパク質が存在している. 細胞侵入時にはまず H タンパク質が標的細胞膜上の受容体と結合し, その後, F タンパク質のプレ融合型からポスト融合型への大きな構造変化が誘導されてエンベロープと細胞膜の融合が起こる (図1B)^{9,10)}. したがって, 受容体は細胞侵入を成立させるために必須の宿主因子であり, 受容体を持たない細胞では膜融合が起こらず麻疹ウイルスに非感受性となる. また感染細胞膜上にも H・F タンパク質が発現するため, 同様の機序で感染細胞と隣接する感受性細胞の細胞融合が誘導される. その結果, 粒子を介さずに細胞間を直接ゲノムが伝播して感染が広がることもある.

3. 麻疹ウイルス受容体

急性期の麻疹患者から分離される野生型の麻疹ウイルスの

受容体としては, 免疫細胞に発現する signaling lymphocytic activation molecule family 1 (SLAMF1, CD150)^{11,12)} と, 上皮細胞に発現する接着因子 nectin-4^{13,14)} が同定されている. 一方, ワクチン株の麻疹ウイルスは両受容体に加えて補体制御因子の CD46 も効率よく受容体として使用できるが, これは SLAMF1 や nectin-4 の発現がない培養細胞に馴化する過程で受容体結合タンパク質である H タンパク質が多重変異を獲得したためである¹⁵⁾. CD46 は野生型の麻疹ウイルスが使用できない受容体であるため実際の感染には関与しない.

麻疹ウイルスは空気感染する病原体であり, 非常に感染力が強い. 空気中の麻疹ウイルス粒子はヒトの吸気とともに吸い込まれて肺胞に到達し, SLAMF1 陽性のマクロファージや樹状細胞に最初に感染すると考えられている^{16,17)}. 続いて全身の免疫組織に感染を広げ麻疹特有の症状を起こすほか, 記憶リンパ球の減少により免疫抑制も起こる^{4,18)}. 体内で増殖したウイルスは nectin-4 を介して気道の上皮細胞に感染し, ウイルス粒子が気道内腔側に出芽して咳・く

しゃみにより体外に排出され、次の個体へ感染が広がる¹⁹⁾。ちなみにnectin-4は極性上皮細胞の密着結合より基底側に存在するため、ウイルスは側底側（体内側）からしかアクセスできない²⁰⁾。したがってウイルスが体内に侵入する際にはnectin-4を介した感染の寄与はないと考えられている。

このように、麻疹の基本的な病態は麻疹ウイルスがSLAMF1陽性の免疫細胞やnectin-4陽性の上皮細胞に特異的に感染することにより起こる。一方で両受容体を発現しない細胞や組織には親和性がなく、例えば脳や神経細胞では野生型の麻疹ウイルスは増殖できない。しかしながら、実際の感染ではまれに麻疹ウイルスの中枢神経系への持続感染が成立し、致死性の脳炎であるSSPEを引き起こすことがある^{8,21)}。なぜだろうか？

4. SSPEの病態とSSPE分離株の特徴

SSPEは麻疹から回復後およそ2～10年の潜伏期を経て発症する予後不良の神経変性疾患である²¹⁾。初期には行動変化、認知機能低下、性格変化などがみられ、病気が進行すると意識障害、不随意運動、全身けいれんなど広範な中枢神経症状が出現して昏睡状態となり、最終的に死に至る。根治的な治療法は現在も存在しない。SSPEは麻疹ウイルスの中枢神経系での増殖が原因で起こるため、患者の脳から麻疹ウイルスを分離することが可能である^{22,23)}（対照的に麻疹の急性期に合併する麻疹脳炎では中枢神経系からウイルスが検出されない症例も多く、自己免疫機序により起こるとする説が有力である²⁴⁾）。

SSPE患者から分離される麻疹ウイルスは、野生型の麻疹ウイルスと異なる性質を持つ。ウイルスの分離には患者の脳組織から分離した細胞を感受性細胞と混合培養する方法がとられる^{22,23)}が、これはSSPE分離株では感染性粒子の産生能が著しく低下しているためである。その一番の要因と考えられているのは、麻疹ウイルスの粒子形成に関わるマトリックス（M）タンパク質（図1A）の異常である²⁵⁻²⁷⁾。SSPE分離株ではゲノム解析によりM遺伝子をコードする領域にUからC（アンチゲノムセンス）の変異が多数蓄積していること（biased hypermutation）、またFタンパク質の細胞質ドメイン（Mタンパク質と結合する）に欠失や伸長をもたらす変異が高率に見つかることが報告された²⁸⁻³⁰⁾。更にM遺伝子の上流に位置するP遺伝子の変異により、M遺伝子の転写開始が正常に起こらず、M遺伝子の発現が阻害されていることも明らかとなった（P-M read-through）^{31,32)}。SSPE分離株ではこれらの変異がMタンパク質に量的、機能的な欠陥をもたらし、ウイルス粒子の形成が抑制されている。これは粒子を介さない細胞融合による増殖様式が宿主免疫応答からの回避に有利に働くためだろうと考えられている³³⁾。

また、ワクチン株の麻疹ウイルスのM遺伝子を欠損させるとその細胞融合能が促進される³³⁾ことから、SSPE

分離株にみられるM遺伝子の変異は患者脳内での持続感染成立に直接関与していることが示唆された。しかし、ワクチン株は野生型の麻疹ウイルスとは異なりCD46を受容体として利用する。CD46はヒトでは赤血球を除くすべての細胞にユビキタスに発現する³⁴⁾ため、ワクチン株は変異などなくとも神経細胞を含む様々な細胞に感染し増殖することができる³⁵⁾。したがってワクチン株を用いた系ではSSPE分離株の持つ変異の意義について正しく評価することは難しく、この説には疑問の余地が残されていた。

5. 神経病原性をもたらすF遺伝子の変異

前述の通り野生型の麻疹ウイルスはSLAMF1およびnectin-4を発現しない神経細胞では増殖できない。我々はまず野生型の麻疹ウイルスにおいてMタンパク質の欠損が神経増殖能を付与するか否かについて検討した。野生型の組換え麻疹ウイルスIC-323株をベースにM遺伝子欠損ウイルスやFタンパク質の細胞質領域の欠損ウイルスを作製し、感染細胞をヒト神経芽細胞腫由来培養細胞IMR32にオーバーレイしたところ、両変異ウイルスは神経で細胞融合を起こせず、麻疹ウイルスの神経増殖能の獲得には別の遺伝子変異が関与することが示唆された³⁶⁾。

我々は細胞融合能が著しく抑制された変異組換え麻疹ウイルス（Hタンパク質細胞外ドメインのC末端にペプチドタグが融合したウイルス）の培養細胞での継代実験から、Fタンパク質の細胞外領域に様々な1アミノ酸置換（I87T, M94V, S262R, L354M, N462Kなど）が起こるとその細胞融合能が回復すること、野生型のHタンパク質とそれらの変異Fタンパク質の組み合わせではSLAMF1陰性・nectin-4陰性のVero細胞でも細胞融合を起こせることを見出していた^{36,37)}。すなわち、Fタンパク質は特定の変異ではなくとも様々な部位にアミノ酸置換を獲得することで自身の機能（膜融合能）を上昇させる進化可能性を持つことを意味する。そこで野生型と公共データベース上にあるすべてのSSPE分離株のFタンパク質についてアミノ酸配列を比較したところ、SSPE分離株のFタンパク質にも多数のアミノ酸置換が生じていることが明らかとなった^{36,38)}。すべてのSSPE分離株に共通するアミノ酸置換は見つからなかったため、複数の株に共通する変異であるT461I（5株に存在）とS103I/N462S/N465S（2株に存在）の2種類について解析を進めた。T461I変異についてはSSPE分離株の一つ（大阪2株）の解析により神経病原性に関連することを綾田らがすでに報告していたが³⁹⁾、我々の研究により他のSSPE分離株にもよく見られる変異であることが明らかとなった。

まず細胞融合能の評価のため野生型のHタンパク質とFタンパク質をVero細胞に一過性に発現させた（融合アッセイ）。野生型Fタンパク質を用いた時とは異なり、F（T461I）やF（S103I/N462S/N465S）を発現させたとき

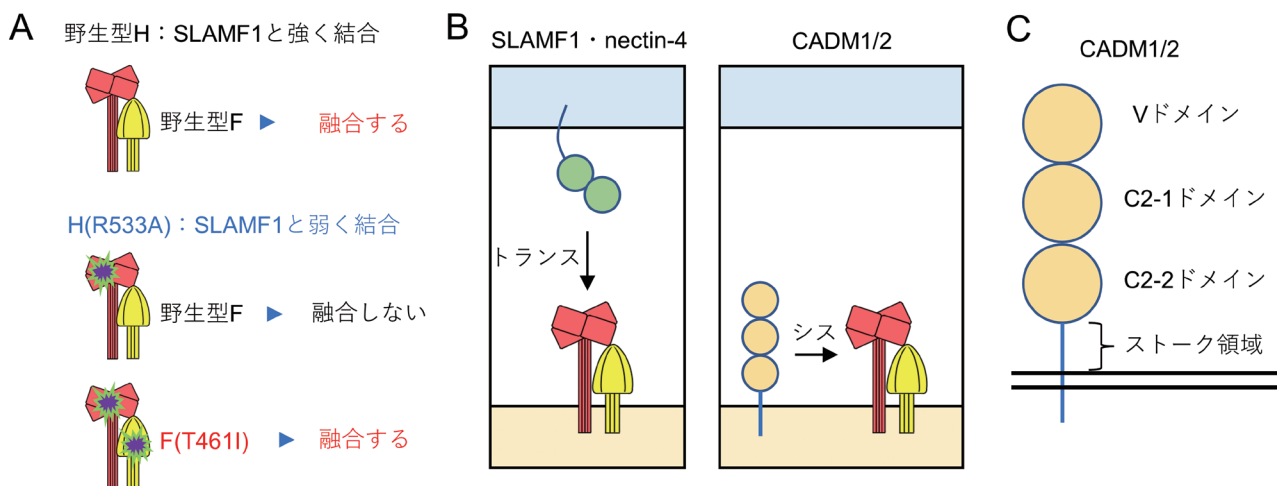


図2 A. SLAMF1と弱く結合する変異Hタンパク質H(R533A)でもF(T461I)との組み合わせではSLAMF1により膜融合が誘導される。B. Hタンパク質とトランスに機能する受容体(SLAMF1・nectin-4)およびシス受容体模倣因子(CADC1/2)の相互作用様式の違い。C. CADC1/2の構造。

には多核巨細胞の形成を認め、両変異体は膜融合能が亢進していることが示された³⁶⁾。次に、これらの変異Fタンパク質を持つ組換え麻疹ウイルスを作製し、ヒトの初代神経細胞やハムスター・マウスの中枢神経系感染モデルを用いてその神経病原性を評価した^{36,40,41)}。その結果、変異Fタンパク質を持つ麻疹ウイルスはヒト初代神経細胞で増殖する能力を持つこと、ハムスター・マウスの脳でも増殖でき、特にハムスターでは致死的な神経症状を引き起こすことが示された。その後、その他の研究グループからもSSPE分離株にみられる別のF遺伝子変異が膜融合能を上昇させて神経増殖を可能にすることが報告され^{42,43)}、麻疹ウイルスの神経病原性の主要な決定因子がF遺伝子の膜融合促進変異であることが確定的となった。ただし、F遺伝子の変異ほど明確ではないがM遺伝子やH遺伝子の変異にも神経病原性への一定の関与を示唆する報告があるため^{39,44)}、麻疹ウイルスには持続感染の過程で関与の度合いの異なる変異が複数の遺伝子にわたって蓄積していると考えるのが妥当であろう。

6. MeVのシス受容体模倣因子CADC1・CADC2

前述の通りヒト神経細胞はSLAMF1およびnectin-4を発現していない。したがって麻疹ウイルスはF遺伝子に変異を獲得すると神経細胞に発現する未知の受容体を利用可能になり、神経増殖能を獲得すると推測される。ただ受容体と直接結合するのはHタンパク質であり、F遺伝子の変異によりHタンパク質が新たな受容体と結合できるようになるとは考えにくい。そこで、我々はHタンパク質と受容体の相互作用がFタンパク質をプレ融合型からポスト融合型に構造変化させるトリガーであることに着目

した。構造学的な解析により、Fタンパク質のプレ融合型は変異により不安定化しており、構造変化のためのエネルギー障壁が低下した状態にあると考えられる^{38,45)}。そのため、野生型のFタンパク質では構造変化を起こせないような弱いHタンパク質と受容体の相互作用でも変異Fタンパク質であれば構造変化がトリガーされるのではないだろうか。

この仮説を証明するために、我々はSLAMF1との相互作用に重要なHタンパク質の533番目のアルギニンをアラニンに置換し、その影響を調べた(図2A)⁴⁶⁾。変異Hタンパク質H(R533A)はSLAMF1との結合力が著しく弱い。ヒトSLAM恒常発現Vero細胞(Vero/hSLAM細胞)にH(R533A)と野生型Fタンパク質を共発現させても細胞融合は観察されない。しかしながらF(T461I)との共発現では効率よく多核巨細胞の形成を誘導した。この結果から、F遺伝子の変異により麻疹ウイルスはHタンパク質と弱く相互作用する宿主分子でも受容体として利用できるようになることが明らかとなった。

そこで、神経受容体の同定のため、野生型Hタンパク質と変異Fタンパク質の組み合わせで膜融合を誘導できるような宿主因子の検索を行った。その結果、神経接着因子のCell adhesion molecule (CADM) 1およびCADM2⁴⁷⁾がHタンパク質と変異Fタンパク質による細胞融合を誘導できることを発見した⁴⁸⁾。興味深いことに、CADM1とCADM2は通常受容体とは異なる様式で膜融合を誘導する(図2B)。SLAMやnectin-4は標的細胞膜に存在し、ウイルスエンベロープや感染細胞膜上のHタンパク質とトランスに相互作用してFタンパク質の構造変化を誘導するが、CADM1とCADM2は感染細胞上のHタンパク

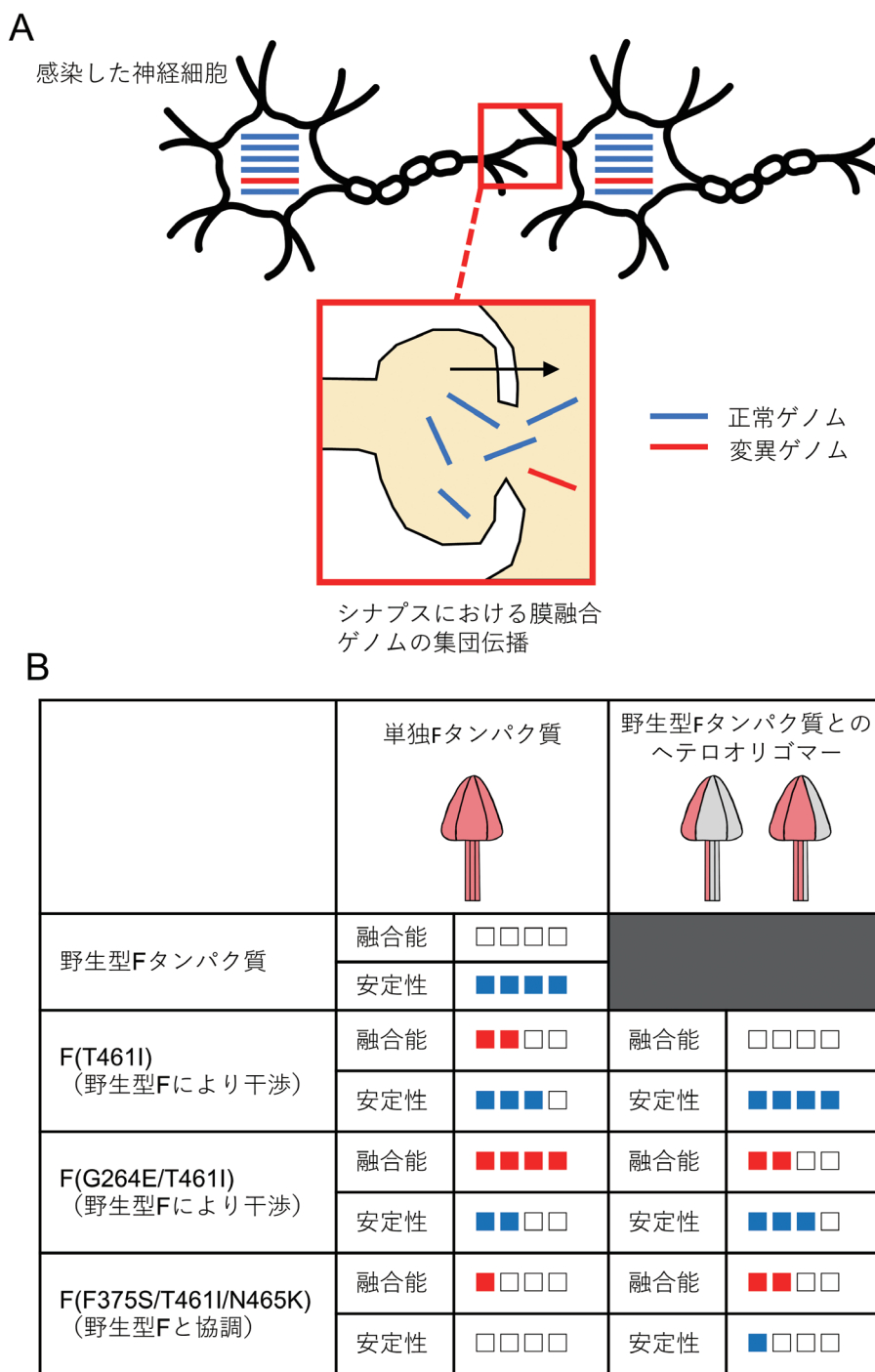


図3 A. 神経シナプスにおける膜融合によるゲノムの集団伝播. B. 野生型Fタンパク質と変異Fタンパク質の相互作用がFタンパク質の安定性および膜融合能に与える影響のモデル. F(T461I)に更に変異が蓄積し、Fタンパク質の安定性が適度に下がると融合能は上昇するが(F(G264E/T461I)単独)、安定性が低くなりすぎると構造が保てなくなり逆に融合能は低下する(F(F374S/T461I/N465K)単独). また、変異Fタンパク質は安定性の高い野生型Fタンパク質とヘテロオリゴマーを形成することで安定性が上昇し、融合能が正負に変化する. ■, ■の数は、それぞれ融合能, 安定性の程度を示す(数が多いほど高い).

質と同一膜上でシスに相互作用して膜融合を起こす宿主因子（シス受容体模倣因子）であることが明らかとなった。トランスに機能する受容体はHタンパク質との相互作用により二つの膜を接近させ、続いてFタンパク質の構造変化を誘導するという二つの機能を担う（図1B）。しかしながらSSPEにおいて、麻疹ウイルスは二つの細胞膜が構造的に近接する神経シナプスでの膜融合を介してゲノムを伝達するため、Hタンパク質と同一膜上に存在する分子がFタンパク質の構造変化を誘導するだけで膜融合を引き起こせるのだと考えられる。

次に、Hタンパク質とCADM1/2の相互作用について解析を進めた。CADM1およびCADM2には3つのドメイン（V, C2-1, C2-2）が存在し、C2-2ドメインと細胞膜貫通領域の間はストーク領域と呼ばれる（図2C）。CADM1/2にはこのストーク領域の長さが異なるスプライシングバリエントが存在することが知られていた。そこで各スプライシングバリエントが受容体模倣因子として膜融合を誘導できるかを調べたところ、ストークの短いバリエントのみが機能的であることが明らかとなった⁴⁹⁾。この短ストークのバリエントは神経細胞で最も発現しているバリエントであり、麻疹ウイルスの神経病原因子として矛盾はない。この結果は、CADM1/2のストーク領域がHタンパク質との相互作用に重要な役割を果たしている可能性を示唆する。また、Hタンパク質の細胞外領域はSLAMF1・nectin-4に結合するヘッドドメインと、膜近傍のストーク領域に分けられるが（図1A）、CADM1/2による膜融合の誘導はヘッドドメイン欠損H変異体（細胞外領域としてストーク領域のみを持つ）との相互作用によっても起こることが明らかとなった⁴⁹⁾。このように、CADM1/2とHタンパク質のシス相互作用にはお互いのストーク領域が重要な役割を果たしていると考えられるが、詳細なメカニズムについては現在解析を進めているところである。

7. ゲノムの集団伝播とFタンパク質の相互作用

以上の結果により、麻疹ウイルスにとってCADM1/2は感染した神経細胞と隣接する神経細胞を融合させ、粒子を介さずに直接ゲノムを伝播するために必要な宿主因子であると考えられた。この増殖様式では感染細胞に含まれる多くのウイルスゲノムがまとめて次の細胞に伝播していくことになる（図3A）。したがって、ゲノム複製の過程で変異ゲノムが生じたとしてもそのみが次の細胞に伝播するとは考えにくく、野生型のゲノムも同時に伝播するはずである。しかしながら、野生型Fタンパク質と変異Fタンパク質が同一細胞内で発現した際に機能的にどのような相互作用が起こるのかについては検証されていなかった。

そこで私たちは野生型のFタンパク質とSSPE分離株由来の変異を持つFタンパク質を共発現させて細胞融合能を評価した⁵⁰⁾。その結果、代表的な神経病原変異体で

あるF(T461I)は野生型のFタンパク質との共存で著しく膜融合能が低下することが明らかとなった（干渉）。SSPE分離株のF遺伝子にはT461I以外にも複数の変異が見つかる。そこで、SSPE分離株にみられるT461I以外の変異を追加で導入したところ、変異の蓄積によりFタンパク質の膜融合能は著しく上昇する場合（e.g., F(G264E/T461I)）と、逆に低下する場合（e.g., F(F375S/T461I/N465K)）があることが分かった（図3B）。後者をそのまま解釈すると、神経増殖能の低下した変異体が選択されたことを意味し、メカニズムの説明が難しい。しかしながら、野生型のFタンパク質を共発現すると、前者は膜融合能が干渉され、後者は逆に促進された（協調）。両者とも野生型のFタンパク質共存下での細胞融合能はF(T461I)に比べて上昇しており、野生型のFタンパク質の存在下ではどちらのケースも変異の蓄積により徐々に膜融合能が上昇していくことになる。これらの干渉・協調現象はマウスの初代神経細胞に異なるゲノムをもつ組み換え麻疹ウイルスを感染させた際にも再現され、ウイルスレベルでも同様の現象が起こることが確認された。

それではなぜ野生型と変異型のFタンパク質で正負の機能的相互作用が起こるのだろうか？私たちは同様の現象が人工的な系での麻疹ウイルス進化においても見られることを以前の論文で報告していた^{37,51)}。ほとんどの変異Fタンパク質の融合能は、実験温度を37度から32度に下げると抑制されてしまう⁵⁰⁾。一方、野生型Fタンパク質と協調的に働く変異Fタンパク質は温度低下により逆に融合能が上昇した。前述の通り、Fタンパク質の安定性が適度に低下した場合には、構造変化の閾値が下がるために融合能は促進する。したがってそのような融合促進変異Fタンパク質は温度の低下により安定性が上昇し、構造変化が起こりにくくなり融合能が低下する。一方で、協調型変異Fタンパク質の安定性はプレ融合型の構造を保てなくなるほどに低下しており、温度低下による安定性の適度な上昇が逆に融合能を上昇させたと考えられた^{37,50)}。Fタンパク質は機能的な三量体を形成するタンパク質である。したがって、野生型Fタンパク質が共発現すると変異型のFタンパク質とヘテロオリゴマーが形成され、両者の中間の安定性を持つようになると考えられる（図3B）^{37,50)}。野生型Fタンパク質のプレ融合型は安定性が高いため、不安定な協調型の変異Fタンパク質とヘテロオリゴマーを形成すると安定性が上昇し、膜融合能が促進する範囲の適切な安定性になったと考えられる。このように、我々はヘテロオリゴマーの形成による安定性の変化がFタンパク質の機能的な相互作用のメカニズムであると考えている。

8. おわりに

我々はこれまでSSPEについて麻疹ウイルス側の要因（F遺伝子の変異）^{36,37,40,41)}、宿主側の要因（CADM1/2の受

容体模倣機能)^{46,48,49)}、集団伝播の要素^{37,50-53)}について総合的に解明を進め、その発症メカニズムの理解を前進させてきた。通常のウイルス感染症と比べて異質な発症様式をとる本疾患に着目したことで、これまで知られていなかったRNAウイルスの進化メカニズムを明らかにすることにも貢献した。もともと神経親和性を持たない麻疹ウイルスは、1. 感染個体内でF遺伝子に変異を獲得し、2. 新たにCADM1/2を受容体模倣因子として利用して神経細胞を融合させ、3. 複雑に相互作用する複数のウイルスゲノムを伝播させながら集団としての融合能が上昇する方向に変異が蓄積し、最終的にヒトに致死的な脳炎を引き起こしてしまう。このような膜融合タンパク質をコードする遺伝子の変異による新規病原性獲得、シス受容体模倣因子の利用、集団伝播によるウイルスタンパク質間の相互作用、といった現象は、麻疹ウイルスのみではなくすべてのエンベロープウイルスで起こってもおかしくはない。このように、SSPEという各論の研究を突き詰めた結果、最終的に総論にも波及する成果を得られたことは、本研究を含むウイルス学基礎研究の意義を議論する上で重要なポイントの一つだと考えられる。

また、私のSSPE以外の研究領域として、「社会ウイルス学 (sociovirology)」と呼ばれる、ウイルス集団内のバリエーション同士の相互作用が集団全体の性質にもたらす影響を研究する学問が挙げられる⁵⁴⁾。SSPEにおける麻疹ウイルスゲノムの集団伝播がFタンパク質の正負の機能的相互作用をもたらししているように、その他のウイルスにもゲノムを集団伝播 (en bloc transmission) させるメカニズムが存在しており、ウイルス集団内の相互作用によるコミュニティ形成の重要性が示唆されている^{51,55,56)}。私が留学時代に取り組んだポリオウイルスの欠陥干渉因子の研究^{57,58)}も含めて、社会ウイルス学に関する知見もいずれ紹介する機会があればと思う。この度は栄誉ある杉浦奨励賞を受賞し、気が引き締まる思いである。今後もウイルス学によりいっそう貢献できる研究者を目指して研鑽を積んでいきたい。

謝辞

本研究の遂行にあたり、九州大学大学院医学研究院ウイルス学教室の柳雄介教授（現・長崎大学・高度感染症研究センター）には終始温かいご指導を賜りました。この場を借りて心より感謝申し上げます。また、SSPEに関する研究は渡辺俊平先生（現・岡山理科大学獣医学部）を筆頭に多くの共同研究者とともに進めてまいりました。改めて感謝いたします。

また、大学院および国立感染症研究所では竹田誠教授（現・東京大学）に、ポスドク時代にはRaul Andino教授（カリフォルニア大学サンフランシスコ校）に御指導いただきましたことを、この場を借りて感謝いたします。

最後になりましたが、名誉ある杉浦奨励賞に御推挙下さ

いました柳雄介教授、竹田誠教授、橋口隆生教授（京都大学・医生物学研究所）に改めて感謝いたします。

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Domingo, E., and Perales, C. (2019). Viral quasispecies. *PLoS Genet* 15, e1008271. 10.1371/JOURNAL.PGEN.1008271.
- 2) Andino, R., and Domingo, E. (2015). Viral quasispecies. *Virology* 479–480, 46–51. 10.1016/j.virol.2015.03.022.
- 3) Hübschen, J.M., Gouandjika-Vasilache, I., and Dina, J. (2022). Measles. *Lancet* 399, 678–690. 10.1016/S0140-6736(21)02004-3.
- 4) Mina, M.J., Kula, T., Leng, Y., Li, M., De Vries, R.D., Knip, M., Siljander, H., Rewers, M., Choy, D.F., Wilson, M.S., et al. (2019). Measles virus infection diminishes preexisting antibodies that offer protection from other pathogens. *Science* 366, 599–606. 10.1126/SCIENCE.AAY6485.
- 5) Mina, M.J., Metcalf, C.J.E., De Swart, R.L., Osterhaus, A.D.M.E., and Grenfell, B.T. (2015). Long-term measles-induced immunomodulation increases overall childhood infectious disease mortality. *Science* 348, 694–699. 10.1126/SCIENCE.AAA3662.
- 6) Gidroen, K., Dodd, C.N., Masclee, G.M.C., De Ridder, M.A.J., Weibel, D., Mina, M.J., Grenfell, B.T., Sturkenboom, M.C.J.M., Van De Vijver, D.A.M.C., and De Swart, R.L. (2018). Impact and longevity of measles-associated immune suppression: a matched cohort study using data from the THIN general practice database in the UK. *BMJ Open* 8. 10.1136/BMJOPEN-2017-021465.
- 7) Wolfson, L.J., Grais, R.F., Luquero, F.J., Birmingham, M.E., and Strebel, P.M. (2009). Estimates of measles case fatality ratios: a comprehensive review of community-based studies. *Int J Epidemiol* 38, 192–205. 10.1093/IJE/DYN224.
- 8) Griffin, D.E. (2013). Measles virus. In *Fields Virology*, David M. Knipe and Peter M. Howley, ed. (Lippincott Williams & Wilkins), pp. 1042–1069.
- 9) Plemper, R.K., Brindley, M.A., and Iorio, R.M. (2011). Structural and Mechanistic Studies of Measles Virus. *Illuminate Paramyxovirus Entry*. *PLoS Pathog* 7, e1002058. 10.1371/journal.ppat.1002058.
- 10) Hashiguchi, T., Ose, T., Kubota, M., Maita, N., Kamishikiryo, J., Maenaka, K., and Yanagi, Y. (2011). Structure of the measles virus hemagglutinin bound to its cellular receptor SLAM. *Nat Struct Mol Biol* 18, 135–141. 10.1038/nsmb.1969.
- 11) Tatsuo, H., Ono, N., Tanaka, K., and Yanagi, Y. (2000). SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature* 406, 893–897. 10.1038/35022579.
- 12) Ono, N., Tatsuo, H., Hidaka, Y., Aoki, T., Minagawa, H., and Yanagi, Y. (2001). Measles Viruses on Throat Swabs from Measles Patients Use Signaling Lympho-

- cytic Activation Molecule (CDw150) but Not CD46 as a Cellular Receptor. *J Virol* 75, 4399–4401. 10.1128/jvi.75.9.4399-4401.2001.
- 13) Noyce, R.S., Bondre, D.G., Ha, M.N., Lin, L.-T., Sisson, G., Tsao, M.-S., and Richardson, C.D. (2011). Tumor Cell Marker PVRL4 (Nectin 4) Is an Epithelial Cell Receptor for Measles Virus. *PLoS Pathog* 7, e1002240. 10.1371/journal.ppat.1002240.
 - 14) Mühlebach, M.D., Mateo, M., Sinn, P.L., Prüfer, S., Uhlig, K.M., Leonard, V.H.J., Navaratnarajah, C.K., Frenzke, M., Wong, X.X., Sawatsky, B., et al. (2011). Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature* 480, 530–533. 10.1038/nature10639.
 - 15) Tahara, M., Takeda, M., Seki, F., Hashiguchi, T., and Yanagi, Y. (2007). 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. 10.1128/JVI.02449-06.
 - 16) Lemon, K., de Vries, R.D., Mesman, A.W., McQuaid, S., van Amerongen, G., Yuksel, S., Ludlow, M., Renick, L.J., Kuiken, T., Rima, B.K., et al. (2011). Early target cells of measles virus after aerosol infection of non-human primates. *PLoS Pathog* 7. 10.1371/JOURNAL.PPAT.1001263.
 - 17) Takeda, M., Tahara, M., Nagata, N., and Seki, F. (2012). Wild-type measles virus is intrinsically dual-tropic. *Front Microbiol* 2, 279. 10.3389/FMICB.2011.00279/BIBTEX.
 - 18) De Swart, R.L., Ludlow, M., De Witte, L., Yanagi, Y., Van Amerongen, G., McQuaid, S., Yuksel, S., Geijtenbeek, T.B.H., Duprex, W.P., and Osterhaus, A.D.M.E. (2007). Predominant infection of CD150+ lymphocytes and dendritic cells during measles virus infection of macaques. *PLoS Pathog* 3, 1771–1781. 10.1371/JOURNAL.PPAT.0030178.
 - 19) Frenzke, M., Sawatsky, B., Wong, X.X., Delpout, S., Mateo, M., Cattaneo, R., and von Messling, V. (2013). Nectin-4-dependent measles virus spread to the cynomolgus monkey tracheal epithelium: role of infected immune cells infiltrating the lamina propria. *J Virol* 87, 2526–2534. 10.1128/JVI.03037-12.
 - 20) Singh, B.K., Li, N., Mark, A.C., Mateo, M., Cattaneo, R., and Sinn, P.L. (2016). Cell-to-Cell Contact and Nectin-4 Govern Spread of Measles Virus from Primary Human Myeloid Cells to Primary Human Airway Epithelial Cells. *J Virol* 90, 6808–6817. 10.1128/JVI.00266-16.
 - 21) Mekki, M., Eley, B., Hardie, D., and Wilmshurst, J.M. (2019). Subacute sclerosing panencephalitis: clinical phenotype, epidemiology, and preventive interventions. *Dev Med Child Neurol* 61, 1139–1144. 10.1111/dmcn.14166.
 - 22) Horta-Barbosa, L., Fuccillo, D.A., Sever, J.L., and Zeman, W. (1969). Subacute sclerosing panencephalitis: isolation of measles virus from a brain biopsy. *Nature* 221, 974. 10.1038/221974A0.
 - 23) Payne, F.E., Baublis, J. V., and Itabashi, H.H. (1969). Isolation of measles virus from cell cultures of brain from a patient with subacute sclerosing panencephalitis. *N Engl J Med* 281, 585–589. 10.1056/NEJM.196909112811103.
 - 24) Hosoya, M. (2006). Measles encephalitis: direct viral invasion or autoimmune-mediated inflammation? *Intern Med* 45, 841–842. 10.2169/INTERNALMEDICINE.45.0161.
 - 25) Hall, W.W., Lamb, R.A., and Choppin, P.W. (1979). Measles and subacute sclerosing panencephalitis virus proteins: lack of antibodies to the M protein in patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76, 2047–2051. 10.1073/PNAS.76.4.2047.
 - 26) Wechsler, S.L., and Fields, B.N. (1978). Differences between the intracellular polypeptides of measles and subacute sclerosing panencephalitis virus. *Nature* 272, 458–460. 10.1038/272458A0.
 - 27) Schluederberg, A., Chavanich, S., Lipman, M.B., and Carter, C. (1974). Comparative molecular weight estimates of measles and subacute sclerosing panencephalitis virus structural polypeptides by simultaneous electrophoresis in acrylamide gel slabs. *Biochem Biophys Res Commun* 58, 647–651. 10.1016/S0006-291X(74)80467-5.
 - 28) Cattaneo, R., Schmid, A., Eschle, D., Baczko, K., ter Meulen, V., and Billeter, M.A. (1988). Biased hypermutation and other genetic changes in defective measles viruses in human brain infections. *Cell* 55, 255–265. 10.1016/0092-8674(88)90048-7.
 - 29) Ning, X., Ayata, M., Kimura, M., Komase, K., Furukawa, K., Seto, T., Ito, N., Shingai, M., Matsunaga, I., Yamano, T., et al. (2002). Alterations and diversity in the cytoplasmic tail of the fusion protein of subacute sclerosing panencephalitis virus strains isolated in Osaka, Japan. *Virus Res* 86, 123–131.
 - 30) Schmid, A., Spielhofer, P., Cattaneo, R., Baczko, K., ter Meulen, V., and Billeter, M.A. (1992). Subacute sclerosing panencephalitis is typically characterized by alterations in the fusion protein cytoplasmic domain of the persisting measles virus. *Virology* 188, 910–915. 10.1016/0042-6822(92)90552-z.
 - 31) Cattaneo, R., Rebmann, G., Schmid, A., Baczko, K., ter Meulen, V., and Billeter, M.A. (1987). Altered transcription of a defective measles virus genome derived from a diseased human brain. *EMBO J* 6, 681–688.
 - 32) Ayata, M., Komase, K., Shingai, M., Matsunaga, I., Katayama, Y., and Ogura, H. (2002). Mutations affecting transcriptional termination in the p gene end of subacute sclerosing panencephalitis viruses. *J Virol* 76, 13062–13068. 10.1128/JVI.76.24.13062-13068.2002.
 - 33) Cathomen, T., Mrkic, B., Spehner, D., Drillien, R., Naef, R., Pavlovic, J., Aguzzi, A., Billeter, M.A., and Cattaneo, R. (1998). A matrix-less measles virus is infectious and elicits extensive cell fusion: consequences for propagation in the brain. *EMBO J* 17, 3899–3908. 10.1093/EMBOJ/17.14.3899.
 - 34) Sparrow, R.L., and McKenzie, I.F.C. (1983). Hu Ly-m5: a unique antigen physically associated with HLA

- molecules. *Hum Immunol* 7, 1–15. 10.1016/0198-8859(83)90002-2.
- 35) Sakaguchi, M., Yoshikawa, Y., and Yamanouchi, K. (1984). Growth of measles and subacute sclerosing panencephalitis viruses in human neural cell lines. *Microbiol Immunol* 28, 461–469. 10.1111/J.1348-0421.1984.TB00697.X.
 - 36) Watanabe, S., Shirogane, Y., Suzuki, S.O., Ikegame, S., Koga, R., and Yanagi, Y. (2013). Mutant Fusion Proteins with Enhanced Fusion Activity Promote Measles Virus Spread in Human Neuronal Cells and Brains of Suckling Hamsters. *J Virol* 87, 2648–2659. 10.1128/jvi.02632-12.
 - 37) Shirogane, Y., Watanabe, S., and Yanagi, Y. (2012). Cooperation between different RNA virus genomes produces a new phenotype. *Nat Commun* 3, 1235. 10.1038/ncomms2252.
 - 38) Watanabe, S., Shirogane, Y., Sato, Y., Hashiguchi, T., and Yanagi, Y. (2019). New Insights into Measles Virus Brain Infections. *Trends Microbiol* 27, 164–175. 10.1016/J.TIM.2018.08.010.
 - 39) Ayata, M., Takeuchi, K., Takeda, M., Ohgimoto, S., Kato, S., Sharma, L.B., Tanaka, M., Kuwamura, M., Ishida, H., and Ogura, H. (2010). The F Gene of the Osaka-2 Strain of Measles Virus Derived from a Case of Subacute Sclerosing Panencephalitis Is a Major Determinant of Neurovirulence. *J Virol* 84, 11189–11199. 10.1128/JVI.01075-10.
 - 40) Watanabe, S., Ohno, S., Shirogane, Y., Suzuki, S.O., Koga, R., and Yanagi, Y. (2015). Measles Virus Mutants Possessing the Fusion Protein with Enhanced Fusion Activity Spread Effectively in Neuronal Cells, but Not in Other Cells, without Causing Strong Cytopathology. *J Virol* 89, 2710–2717. 10.1128/jvi.03346-14.
 - 41) Sato, Y., Watanabe, S., Fukuda, Y., Hashiguchi, T., Yanagi, Y., and Ohno, S. (2018). Cell-to-Cell Measles Virus Spread between Human Neurons Is Dependent on Hemagglutinin and Hyperfusogenic Fusion Protein. *J Virol* 92, e02166-17. 10.1128/jvi.02166-17.
 - 42) Angius, F., Smuts, H., Rybkina, K., Stelitano, D., Eley, B., Wilmschurst, J., Ferren, M., Lalande, A., Mathieu, C., Moscona, A., et al. (2018). Analysis of a Subacute Sclerosing Panencephalitis Genotype B3 Virus from the 2009-2010 South African Measles Epidemic Shows That Hyperfusogenic F Proteins Contribute to Measles Virus Infection in the Brain. *J Virol* 93, 10.1128/JVI.01700-18.
 - 43) Ayata, M., Tanaka, M., Kameoka, K., Kuwamura, M., Takeuchi, K., Takeda, M., Kanou, K., and Ogura, H. (2016). Amino acid substitutions in the heptad repeat A and C regions of the F protein responsible for neurovirulence of measles virus Osaka-1 strain from a patient with subacute sclerosing panencephalitis. *Virology* 487, 141–149. 10.1016/J.VIROL.2015.10.004.
 - 44) Satoh, Y., Higuchi, K., Nishikawa, D., Wakimoto, H., Konami, M., Sakamoto, K., Kitagawa, Y., Gotoh, B., Jiang, D.P., Hotta, H., et al. (2021). M protein of subacute sclerosing panencephalitis virus, synergistically with the F protein, plays a crucial role in viral neuro-pathogenicity. *J Gen Virol* 102. 10.1099/JGV.0.001682.
 - 45) Hashiguchi, T., Fukuda, Y., Matsuoka, R., Kuroda, D., Kubota, M., Shirogane, Y., Watanabe, S., Tsumoto, K., Kohda, D., Plemper, R.K., et al. (2018). Structures of the prefusion form of measles virus fusion protein in complex with inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, 2496–2501. 10.1073/PNAS.1718957115.
 - 46) Shirogane, Y., Hashiguchi, T., and Yanagi, Y. (2020). Weak cis and trans Interactions of the Hemagglutinin with Receptors Trigger Fusion Proteins of Neuropathogenic Measles Virus Isolates. *J Virol* 94, e01727-19. 10.1128/jvi.01727-19.
 - 47) Mori, M., Rikitake, Y., Mandai, K., and Takai, Y. (2014). Roles of nectins and nectin-like molecules in the nervous system. *Adv Neurobiol* 8, 91–116. 10.1007/978-1-4614-8090-7_5.
 - 48) Shirogane, Y., Takemoto, R., Suzuki, T., Kameda, T., Nakashima, K., Hashiguchi, T., and Yanagi, Y. (2021). CADM1 and CADM2 Trigger Neuropathogenic Measles Virus-Mediated Membrane Fusion by Acting in cis. *J Virol* 95. 10.1128/jvi.00528-21.
 - 49) Takemoto, R., Suzuki, T., Hashiguchi, T., Yanagi, Y., and Shirogane, Y. (2022). Short-Stalk Isoforms of CADM1 and CADM2 Trigger Neuropathogenic Measles Virus-Mediated Membrane Fusion by Interacting with the Viral Hemagglutinin. *J Virol* 96. 10.1128/jvi.01949-21.
 - 50) Shirogane, Y., Harada, H., Hirai, Y., Takemoto, R., Suzuki, T., Hashiguchi, T., and Yanagi, Y. (2023). Collective fusion activity determines neurotropism of an en bloc transmitted enveloped virus. *Sci Adv* 9. 10.1126/SCIADV.ADF3731.
 - 51) Shirogane, Y., Watanabe, S., and Yanagi, Y. (2019). Cooperation between different variants: A unique potential for virus evolution. *Virus Res* 264, 68–73. 10.1016/j.virusres.2019.02.015.
 - 52) Shirogane, Y., Watanabe, S., and Yanagi, Y. (2013). Cooperation: another mechanism of viral evolution. *Trends Microbiol* 21, 320–324. 10.1016/j.tim.2013.05.004.
 - 53) Shirogane, Y., Watanabe, S., and Yanagi, Y. (2016). Cooperative Interaction Within RNA Virus Mutant Spectra. In *Current topics in microbiology and immunology*, pp. 219–229. 10.1007/82_2015_461.
 - 54) Díaz-Muñoz, S.L., Sanjuán, R., and West, S. (2017). Sociovirology: Conflict, Cooperation, and Communication among Viruses. *Cell Host Microbe* 22, 437–441. 10.1016/j.chom.2017.09.012.
 - 55) Altan-Bonnet, N., Perales, C., and Domingo, E. (2019). Extracellular vesicles: Vehicles of en bloc viral transmission. *Virus Res* 265, 143–149. 10.1016/j.virusres.2019.03.023.
 - 56) González Aparicio, L.J., López, C.B., and Felt, S.A. (2022). A Virus Is a Community: Diversity within Negative-Sense RNA Virus Populations. *Microbiol Mol Biol Rev* 86. 10.1128/MMBR.00086-21.
 - 57) Shirogane, Y., Rousseau, E., Voznica, J., Xiao, Y., Su, W., Catching, A., Whitfield, Z.J., Rouzine, I.M., Bianco, S., and Andino, R. (2021). Experimental and mathe-

- matical insights on the interactions between poliovirus and a defective interfering genome. *PLoS Pathog* 17, e1009277. 10.1371/JOURNAL.PPAT.1009277.
- 58) Xiao, Y., Lidsky, P. V., Shiogane, Y., Aviner, R., Wu, C.T., Li, W., Zheng, W., Talbot, D., Catching, A.,

Doitsh, G., et al. (2021). A defective viral genome strategy elicits broad protective immunity against respiratory viruses. *Cell* 184, 6037-6051.e14. 10.1016/J.CELL.2021.11.023.

RNA Virus Pathogenicity, Evolution, and Intrapopulation Interaction

Yuta SHIROGANE

Department of Virology, Faculty of Medicine, Kyushu University

Measles virus (MeV), the causative agent of measles, can persist in the brain and cause a fatal neurodegenerative disease, subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). Because wild-type MeV is not neurotropic, the virus is thought to evolve and acquire neuropathogenicity to cause SSPE. Our recent studies have shown that MeV acquires hyperfusogenic mutations in the fusion (F) gene that confer the ability to use cell adhesion molecule 1 (CADM1) and CADM2 as cis-acting receptor mimicking molecules and allow MeV to spread in neurons. Furthermore, under these conditions, multiple MeV genomes, rather than a single one, are likely to be transmitted transsynaptically between neurons through cell-cell fusion. Therefore, F proteins encoded by different genomes are co-expressed in infected cells, and positive and negative functional interactions between them can occur. These interactions determine the ability of the virus to spread in neurons as a population. In this article, we describe our studies to understand the mechanism by which MeV acquires neuropathogenicity in SSPE.