HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on genetic polymorphisms of host cell receptors affecting viral entry into cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	服部, 貴成
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第15522号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89951
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takanari_Hattori_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（感染症学）　　氏名：服部　貴成
Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Studies on genetic polymorphisms of host cell receptors affecting viral entry into cells
（ウイルスの細胞侵入に影響を及ぼす宿主細胞受容体の遺伝子多型にに関する研究）

近年、新型コロナウイルスやエボラウイルスなどによる新興感染症の発生が世界的に公衆衛生上の問題となっている。これらのウイルスは重篤な病態を引き起こす病原体として知られる一方で、無症状もしくは軽症で経過する症例も多く存在することが分かってきた。その要因の１つとして、宿主因子の遺伝子多型がウイルスへの感受性や重症度に関与している可能性が考えられている。ウイルスが宿主細胞に感染する際、ウイルス粒子は細胞膜上の受容体に結合し細胞内への侵入を開始する。よって、宿主受容体の遺伝子多型は、ウイルスの細胞侵入効率に影響を与えうると考えられる。本研究では、ウイルスの細胞侵入過程に影響を及ぼす宿主細胞受容体の一塩基変異（SNV）に着目した。

コロナウイルス（CoVs）科に属する重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（SARS-CoV）および SARS-CoV-2 はヒトに重篤な肺炎を引き起こすことが知られている。これら CoVs のスパイク蛋白質（S 蛋白質）は、宿主細胞膜上のアンジオテンシン変換酵素 2（ACE2）を主要な受容体として細胞内に侵入する。これまでに、ACE2 の 29 個の SNV が SARS-CoV-2 の S 蛋白質との結合親和性に影響を与えることが示唆されていた。しかし、これらの SNV が実際に SARS-CoV および SARS-CoV-2 の細胞侵入効率に影響を与えるか否かは明らかになっていなかった。第一章では、ACE2 の SNV が SARS-CoV および SARS-CoV-2 の細胞侵入効率に与える影響を in vitro で解析した。これらの CoVs に対して低い感受性を示す HEK293T 細胞に、ヒト由来の野生型 ACE2 または各 SNV 変異を導入した ACE2 遺伝子を一過性に発現させ、水疱性口内炎ウイルス（VSIV）の G 蛋白質を S 蛋白質に置換したシュードタイプウイルスに対する感受性を比較した。その結果、H505R 変異体は両方の CoVs の感染性を有意に増強する事が示唆された。また、SARS-CoV の感染性は、G352V および Y515C 変異体によって増強、D355N 変異体によって減弱することが示唆された。さらに、SARS-CoV-2 の変異株（Alpha、Beta、Gamma および Delta 株）の S 蛋白質について同様の解析を

行ったところ、E35K 変異体が Beta および Gamma 株の感染性のみ有意に低下させることが分かった。この結果は、SNV が与える影響は SARS-CoV-2 の変異株間で僅かに異なることを示唆している。以上の結果より、ACE2 の SNV が SARS-CoV および SARS-CoV-2 に対する細胞感受性に影響を与える可能性が示された。

Human T-cell immunoglobulin mucin 1 (hTIM-1) は ウイルス吸着因子として様々なエンベロープウイルスの感染を増強することが知られている。 hTIM-1 の IgV domain に存在する 3 つのループ構造 (BC、CC'および FG ループ)が、エボラウイルス (EBOV) のエンベロープ内に存在するホスファチジルセリン (PS) および表面糖蛋白質 (GP) に結合することが分かっている。第二章では、これらのループ構造内に存在する SNV 変異がフィロウイルスおよびアレナウイルスに対する細胞感受性に与える影響を解析した。まず、公共の遺伝子データベースで SNV の配列情報を検索し、3 つのループ構造内にアミノ酸置換を伴う 35 か所の SNV 変異を見出した。これら 35 個の SNV 変異体を作出し、野生型 hTIM-1 または各 SNV 変異を導入した hTIM-1 遺伝子を HEK293T 細胞に一過性に発現させた。これらの hTIM-1 発現細胞に、3 種類のフィロウイルス (EBOV、マールブルグウイルス [MARV]、ヨビュウイルス [LLOV]) および 2 種類のアレナウイルス (フニンウイルス [JUNV]、ラッサウイルス [LASV]) の GP を持つシュードタイプ VSIV を感染させ感受性を比較した。その結果、7 個の SNV (L34P、C46W、W47R、C57S、H109P、N114S および D115G) は LASV を除く 5 種類のウイルスに共通して hTIM-1 発現による感染増強を有意に減弱させることが分かった。また、I124T 変異体は EBOV、MARV、LLOV および JUNV の GP、R110C および G111R 変異体は EBOV、LLOV および JUNV の GP、V62I 変異体は JUNV の GP をもつシュードタイプウイルスの感染性を減弱させた。以上の結果より、SNV 変異体がウイルスの細胞侵入へ与える影響は、GP によって違いがあることが分かった。さらに、EBOV の感染性を有意に減弱すると考えられた各 SNV 変異を含む可溶性 hTIM-1 蛋白質を作出し、シュードタイプウイルスを用いて中和活性を解析した結果、野生型 hTIM-1 と比較して中和活性が有意に低下することが分かった。ウイルスの感染性を減弱させた 11 個の SNV のうち、5 個の SNV のアミノ酸変異箇所は PS 結合領域に位置し、6 個の SNV の変異箇所はこの部位から離れた領域に位置していた。これらの結果から、hTIM-1 分子の 11 カ所の SNV 変異は、ウイルスエンベロープ上の PS および GP との相互作用を低下させ、フィロウイルスおよびアレナウイルスに対する細胞感受性に影響を与える可能性が示唆された。

本論文により、宿主細胞受容体の遺伝子多型がウイルスの細胞侵入効率に影響を与えうることが示唆された。これらの新しい知見は、個体間レベルでのウイルスに対する感受性あるいは病態の違いに関与する宿主因子の解明に役立つと期待される。また、本研究の成果は新型コロナウイルスおよび出血熱ウイルスの細胞侵入機構および受容体分子との相互作用メカニズムの詳細な解明にも貢献することが期待される。今後、全ゲノム解析によるヒトの遺伝的多様性に関するデータの蓄積とともに、ウイルスへの感受性や重症化に関わる遺伝子多型の同定、地域または人種間の遺伝子多型の違いとウイルス感染症の流行状況との関連等についてさらなる研究が必要である。