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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（感染症学）　　氏名：服部　貴成

審査委員	主査　教授	澤　洋文
	副査　教授	苅和　宏明
	副査　教授	迫田　義博
	副査　教授	髙田　礼人

学位論文題名

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関する研究）

コロナウイルスや出血熱ウイルスは時に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重症度やウイルスに対する感受性に関与している可能性が考えられる。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）を解析した。

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。これらのウイルスのスパイク（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結合し細胞内に侵入する。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が、それらの SNV が実際に SARS-CoV および SARS-CoV-2 の細胞侵入効率に与える影響は明らかになっていなかった。第一章では、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 を一過性に発現させ、水疱性口内炎インディアナウイルス（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の感染性を比較した。その結果、これらのコロナウイルスの感染性を増強または減弱させる SNV 変異体の存在が明らかになった。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、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が分かった。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 ドメインに存在する 3 つのループ構造が、エボラウイルス（EBOV）のエンベロープ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の感染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から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 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およびヨビュウイルス）および 2 種類のアレナウイルス（フニンウイルスおよびラッサウイルス）の GP を持つシュードタイプ VSIV を感染させ感染性を比較した。その結果、7 個の SNV はラッサウイルスを除く 5 種類のウイルスに共通して感染性を有意に低下させることが分かった。さらに、各 SNV 変異を含む可溶性 hTIM-1 蛋白質を用いて、SNV 変異体の中和活性が有意に低下することを確認した。ウイルスの感染性を減弱させた SNV のアミノ酸変異箇所は、PS 結合領域だけでなくその他の領域にも存在していた。これらの結果から、hTIM-1 分子の SNV 変異は、ウイルスエンベロープ上の PS あるいは 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と考えられる。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の発展が期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 服部貴成氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。