HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	SARS-CoV-2感染による血管内皮細胞のITGB3発現誘導と血栓形成への関与［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	伊藤, 航
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15957号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92576
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Wataru_Ito_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（歯学）　氏　名　伊　藤　航

審査担当者　主査　教授　樋　田　京　子
副査　教授　大　廣　洋　一
副査　教授　長　谷　部　晃

学　位　論　文　題　名

SARS-CoV-2 感染による血管内皮細胞の ITGB3 発現誘導と血栓形成への関与

審査は審査担当者全員出席の下，対面による公聴会として行われた．はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われた．その内容を以下に示す．

COVID-19は2019年に武漢市より広まったSARS-CoV-2を原因ウイルスとする感染症で，それによる死亡者は非常に多い．COVID-19の特徴の一つとして，血管炎，血栓の発生率が高いことがあげられる．SARS-CoV-2はスパイク（S）タンパクを宿主細胞膜のACE2に結合させ，膜融合により侵入する．COVID-19における血栓形成機序として，血管内皮細胞へのSARS-CoV-2感染による血管内皮機能障害を起点とすることが示唆されているが，詳細な機序については未だ不明な点が多い．申請者らはこれまで，若齢マウス，加齢マウスにマウス馴化SARS-CoV-2を感染させ，それぞれ非重症化，重症化することを見出している(Aging Cell 2023，申請者共著論文)．また，それぞれのモデルから肺血管内皮細胞を分離しトランスクリプトーム解析により重症化に関わる血管内皮細胞の遺伝子の同定を目指した研究を行っている．本研究では非重症化マウスと比較し，重症化マウス肺血管内皮細胞において発現亢進していた接着分子，インテグリンβ3（ITGB3）に着目し，血栓形成機序への関与について解析した．

まず，血管内皮細胞にSARS-CoV-2を曝露すると，接着する血小板数が増加した．またSタンパク処理によっても同様の結果が得られたことから，SARS-CoV-2のSタンパク刺激により血管内皮細胞は血小板との接着性が亢進し，血栓形成促進性に変化することが示唆された．この機序として，重症化マウス肺血管内皮細胞において発現亢進していたITGB3に着目した．ITGB3陽性血管は非重症化マウスに比べ重症化マウス肺組織において多くみられ，さらにCOVID-19剖検肺組織においても観察された．これらのことからSARS-CoV-2感染により血管内皮細胞のITGB3発現が亢進することが示唆された．in vitro血管内皮細胞へのSARAS-CoV-2曝露，あるいはS タンパク処理によりITGB3遺伝子発現の亢進がみられた．siRNAによるITGB3発現をノックダウンすると血管内皮細胞への血小板接着数が減少した．したがって，SARS-CoV-2により誘導される血管内皮細胞のITGB3は血小板接着に関わることが示唆され

た.

最後にSARS-CoV-2による血管内皮細胞のITGB3発現亢進機序について検討した．血管内皮細胞にはACE2が発現していないため， Sタンパク受容体として知られる他の分子の関与を解析した．siRNAを用いた実験によりNRP1, BSG, AXL, KRM1のノックダウンによりウイルス曝露後の血管内皮細胞のウイルス遺伝子レベルの低下がみられたことから，これら４分子が血管内皮細胞のウイルス接着に関与していることが示唆された．同様にsiRNAを用いた実験で，KRM1をノックダウンしたところ，血管内皮細胞においてSARS-CoV-2曝露によるITGB3の発現亢進が抑制された．このことより血管内皮細胞のKRM1にウイルスが結合することがITGB3発現亢進，さらに血小板接着促進に関与していることが示唆された.

本研究により，SARS-CoV-2が結合した血管内皮細胞に発現誘導されるITGB3による血小板接着促進が重症COVIDに合併する血栓症の機序のひとつであることが示唆された.

審査は審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた．以下にその項目を示す.

1) ウイルス感染における血栓形成の意義について
2) マウスへのウイルス接種方法について
3) ウイルスの検出方法について
4) ウイルス株による違いについて
5) 血管内皮細胞のウイルス応答について
6) 血管内皮細胞のSARS-CoV-2受容体について
7) SARS-CoV-2 Sタンパクについて
8) 血管内皮細胞のITGB3発現亢進の機序について
9) 実験計画に掲げている血管特異的ITGB3阻害剤について
10) 血管内皮細胞のKRM1とITGB3の関係について
11) 加齢マウスの週齢について
12) マウスモデルにおけるRIG-Iの発現変動について

本研究は，COVID-19の血栓形成における血管内皮細胞発現ITGB3の関与について重要かつ新規性のある基礎科学的情報を提供しており，学術的にも高く評価された．加えて，上記の質疑応答から，申請者は本研究内容を中心とした専門分野はもとより，関連分野について十分な理解と知識を有していることが確認された.

以上のことから，審査担当者全員は学位申請者が博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認めた.