

別紙1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 鈴木 健史

論 文 題 目

Genome-wide CRISPR screen for HSV-1 host factors reveals PAPSS1 contributes to heparan sulfate synthesis

(HSV-1 宿主因子のクリスパースクリーニングにより明らかとなった、
ヘパラン硫酸生合成における PAPSS1 の重要性)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

岡島徹也

名古屋大学教授

委員

秋山真志

名古屋大学教授

委員

近藤 豊

名古屋大学教授

指導教授

木村 宏

論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

本研究では、ヒト由来一倍体細胞である HAP1 細胞を用いて、ヒトの約 19,000 遺伝子および 2,000 microRNA を網羅するノックアウト(KO)ライブラリーを構築した。この KO ライブラリーを用いて、単純ヘルペスウイルス 1 型(HSV-1)が感染するのに必要なヒト因子のスクリーニングを行った。スクリーニングにより、既知の HSV-1 受容体の他、PAPSS1 遺伝子が HSV-1 感染に寄与するヒト因子であることを同定した。PAPSS1 遺伝子を KO した HAP1 細胞は、HSV-1 の細胞への吸着が著しく低下しており、感染に対して強い抵抗性を示した。PAPSS1KO HAP1 細胞のヘパラン硫酸糖鎖を解析すると、細胞表面のヘパラン硫酸糖鎖の発現量が低下し、さらに糖鎖の硫酸化修飾が大きく低下していた。HSV-1 は細胞への効率的な吸着にヘパラン硫酸を使用することが知られており、PAPSS1 がヘパラン硫酸糖鎖の発現、硫酸化を介して HSV-1 の細胞への効率的な感染に寄与していることが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1.ヘパラン硫酸アンタゴニストのスルフェンがヘパラン硫酸と相互作用する詳細な機序は明らかとなっていないが、スルフェンが正の電荷を持つ高度に分極したアミノキノン基が負の電荷を持つヘパラン硫酸基と静電的に相互作用していることが過去の研究データから示唆されている。

2.HSV-1 の cell-to-cell 感染は、再活性化の際に主に使用するとされる感染様式である。これは、初感染時に宿主が獲得した中和抗体の存在下でも感染を伝播させられるからである。上皮細胞が形成するタイトジャンクションに囲まれた空間に子孫ウイルスが出芽しすることで、ウイルス粒子は中和抗体に暴露されることなく近接した細胞にエンドサイトーシスや膜融合によって感染していると考えられる。

3.PAPSS1 は、ヒト細胞で唯一の硫酸基供与体である PAPS の生合成を行う。従って、ヘパラン硫酸糖鎖の全ての硫酸化修飾に関与している可能性が高く、特異的な硫酸化修飾に寄与しているわけではないと考えられる。しかしながら、本研究でも示されたようにヘパラン硫酸発現に対する PAPSS1 の依存度は細胞株によって異なることや、PAPS はタンパク質など糖鎖以外の基質の硫酸化にも使用されるため、タンパク質などその他の基質の硫酸化を介したウイルス受容体の発現調整に関与している可能性は否定できない。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	鈴木 健史
試験担当者	主査 岡島徹也		副査 ₁ 秋山真志	
	副査 ₂ 近藤 豊		指導教授 木村 宏	
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none">1. ヘパラン硫酸アンタゴニストのスルフェンの作用機序について2. HSV-1のcell-to-cell感染機序について3. PAPSS1がウイルスの細胞指向性に寄与している可能性について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、ウイルス学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				