

細胞表面とウイルス感染の甘い関係 ～細胞表面糖鎖によるウイルス感染の補助～

名古屋大学大学院医学系研究科ウイルス学の佐藤好隆 准教授、鈴木健史 客員研究員（元・大学院生）、木村宏 教授らの研究グループは、名古屋市立大学大学院医学研究科ウイルス学の奥野友介 教授、神戸薬科大学学生化学研究室内の北川裕之 教授、藤田医科大学医学部ウイルス・寄生虫学の村田貴之 教授、国立感染症研究所の脇田隆宇 所長、渡士幸一 治療薬開発総括研究官との共同研究で、口唇ヘルペスや脳炎を起こす単純ヘルペスウイルス 1 型の感染に関与する宿主因子の網羅的な探索により、ヘパラン硫酸の生合成に関与する一連の遺伝子を同定し、PAPSS1 遺伝子と単純ヘルペスウイルス 1 型感染の関係を明らかにしました。

細胞表面の糖鎖であるヘパラン硫酸が、ウイルス粒子と標的細胞との吸着を補助し、ウイルス粒子の細胞への侵入に寄与していることがわかり、これは単純ヘルペスウイルス 1 型だけでなく、B 型肝炎ウイルスやヒト風邪コロナウイルスにも共通していました。ウイルス感染の理解が深まり、感染をコントロールする技術開発に繋がるのが期待されます。

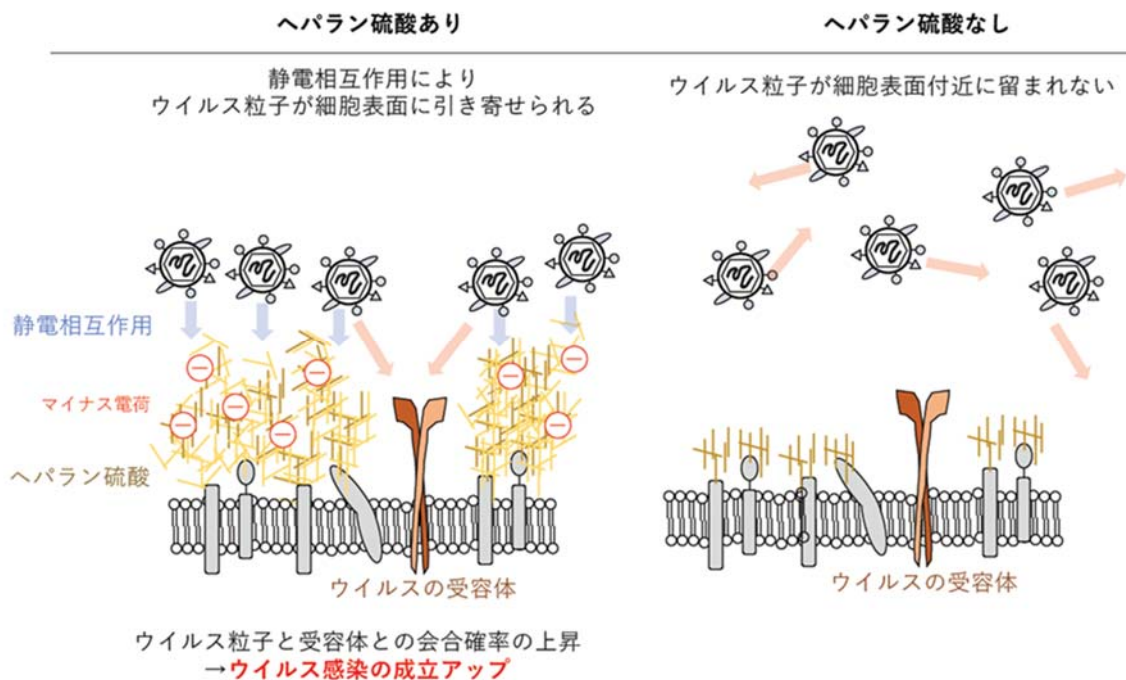
本研究成果は、2022 年 7 月 19 日付（日本時間 7 月 19 日 18 時）国際科学雑誌『Communications Biology』オンライン版に掲載されました。

本研究は、文部科学省 科学研究費助成事業（JP16H06231, JP19H04829, JP21K15448, JP20K06551, JP20H03386, JP20H03493）、科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業（JPMJPR19H5）、日本医療研究開発機構 新興・再興感染症研究基盤創生事業（多分野融合研究領域）（JP21wm035042, JP20wm0325012）、日本医療研究開発機構 地球規模保健課題解決推進のための研究事業（JP19jk0210023）などの支援のもとで行われたものです。

【ポイント】

- 網羅的な単一遺伝子ノックアウトスクリーニングから単純ヘルペスウイルス 1 型の感染に関与する宿主因子を同定した。
- 本研究で同定された宿主因子には、細胞表面糖鎖であるヘパラン硫酸（注 1）の生合成に関わる遺伝子が多く含まれていた。
- 単純ヘルペスウイルス 1 型の感染に関与する宿主因子の一つとして PAPSS1（注 2）を本研究で同定した。
- 糖鎖の硫酸化修飾を担う遺伝子 PAPSS1 の活性は、その側系遺伝子（注 3）PAPSS2 でも補完されることが示された。
- PAPSS1 遺伝子の機能を欠損（ノックアウト）すると、細胞表面のヘパラン硫酸量が減り、単純ヘルペスウイルス 1 型だけでなく、B 型肝炎ウイルスやヒト風邪コロナウイルスの細胞への吸着も低下し、ヘパラン硫酸は多くのウイルスで細胞への吸着に利用されていることが明らかになった。

【研究背景と内容】



単純ヘルペスウイルス 1 型は、ヒトに口唇ヘルペスや皮膚疾患から失明の原因になる眼疾患や致死的な脳炎まで多様な病態を引き起こします。人類の 70%以上が単純ヘルペスウイルス（単純ヘルペスウイルス 2 型も含む）の感染者とされるほど“ありふれた”ウイルスです。しかし、この“ありふれた”ウイルスと宿主因子の関係はまだまだ十分にわかっていません。そこで、本研究グループは、網羅的な単一遺伝子ノックアウトスクリーニングから単純ヘルペスウイルス 1 型の感染に関与する宿主因子の同定を試みました。そして、細胞表面糖鎖であるヘパラン硫酸の生合成に関わる一連の遺伝子群を単離することにより、糖鎖の硫酸化修飾を担う遺伝子 PAPSS1 が単純ヘルペスウイルス 1 型の感染に関わる新たな宿主因子であることを見出しました。PAPSS1 遺伝子の機能を欠損（ノックアウト）すると、細胞表面のヘパラン硫酸量が 1/100 以下に減少し（図 1）、単純ヘルペスウイルス 1 型の細胞表面への吸着が 1/1000 以下に低下しました（図 2）。これにより、感染の第一ステップである単純ヘルペスウイルス 1 型の細胞表面への吸着にはヘパラン硫酸が関与していることが確認されました。また、PAPSS1 遺伝子をノックアウトすると、単純ヘルペスウイルス 1 型だけでなく、B 型肝炎ウイルスやヒト風邪コロナウイルスの細胞への吸着量も低下したことから、多くのウイルスが細胞への吸着にヘパラン硫酸を利用していることが分かりました（図 2）。これは、ヘパラン硫酸の持つマイナス電荷によって、ウイルス粒子との間に静電相互作用が生じて、ウイルスが細胞表面に引き寄せられ、留まりやすくなることが要因です。ヘパラン硫酸にウイルス粒子が引っ掛かることで、細胞周囲にウイルス粒子が留まり、数的・時間的に細胞膜上の受容体とコンタクトする確率が上がるため、感染が成立しやすくなると考えられます。

同時に、PAPSS1 の機能解析を行う中で、その側系遺伝子 PAPSS2 でも 3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホ硫酸の合成が可能であり、相互にその機能を補完しあっていることが示唆されました。

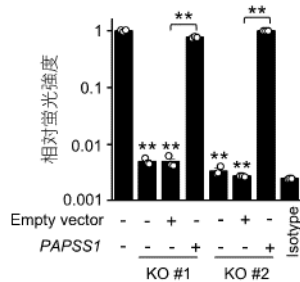


図1: PAPSS1遺伝子のノックアウト (KO) によるヘパラン硫酸減少
 蛍光ラベルした抗ヘパラン硫酸抗体で細胞表面のヘパラン硫酸を染色し、
 フローサイトメーターにて細胞表面の蛍光強度を測定した。PAPSS1遺
 伝子のノックアウトによって、細胞表面の蛍光強度が1/100以下に低下
 しており、ヘパラン硫酸の量が 顕著に減少していることがわかる。

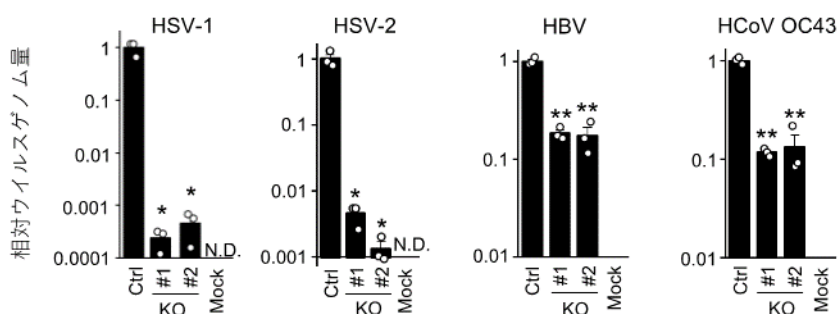


図2: PAPSS1遺伝子のノックアウト (KO) による細胞表面へのウイルス粒子の吸着が低下
 野生型(Ctrl)およびPAPSS-KO細胞(KO)とウイルス粒子を37度で1時間ほど吸着させ、その
 後、リン酸緩衝液にて細胞を洗浄した。細胞表面に吸着したウイルス粒子から、ウイル
 スゲノムを抽出し、定量PCRによって細胞表面に結合したウイルスゲノム量を比較した。
 HSV-1: 単純ヘルペスウイルス1型, HSV-2: 単純ヘルペスウイルス2型, HBV: B型肝炎ウ
 イルス, HCoV OC43: ヒトコロナウイルスOC43株, N.D.:検出限界以下。

【成果の意義】

今回の研究成果により、単純ヘルペスウイルス 1 型をはじめ、多くのウイルスでヘパラン硫酸が感染の初期に重要な役割を担っていることが確認され、細胞表面のヘパラン硫酸とウイルス粒子の蜜月関係が明らかとなりました。

今後は、ウイルス感染の理解をさらに深め、感染をコントロールする技術開発に繋がることを期待されます。

【用語説明】

(注 1) ヘパラン硫酸：グルクロン酸と N-アセチルグルコサミンからなる二糖単位が繰り返された骨格を持つ多糖。硫酸基が含まれており、マイナス電荷を有する。各糖残基が様々なパターンで硫酸化されることで構造に多様性がもたらされ、細胞増殖や炎症制御、傷の治癒などの様々な生理機能に関与している。

(注 2) PAPSS1：哺乳類では唯一の硫酸基の供給源となる 3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホ硫酸を合成する酵素をコードする遺伝子。

(注 3) 側系遺伝子：進化の過程で遺伝子重複によって生じたと考えられる類似遺伝子で、異なる機能を獲得している場合もある。

【論文情報】

雑誌名 : Communications Biology

論文タイトル : **Genome-wide CRISPR screen for HSV-1 host factors reveals PAPSS1 contributes to heparan sulfate synthesis**

著者 : Takeshi Suzuki¹, Yoshitaka Sato^{1,2,*}, Yusuke Okuno³, Fumi Goshima¹, Tadahisa Mikami⁴, Miki Umeda¹, Takayuki Murata^{1,5}, Takahiro Watanabe¹, Koichi Watashi^{6,7,8,9}, Takaji Wakita⁶, Hiroshi Kitagawa⁴ and Hiroshi Kimura^{1,*}

所属 :

¹Department of Virology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya 466-8550, Japan

²PRESTO, Japan Science and Technology Agency (JST), Kawaguchi 332-0012, Japan

³Department of Virology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya 467-8601, Japan

⁴Laboratory of Biochemistry, Kobe Pharmaceutical University, Kobe 658-8558, Japan.

⁵Department of Virology and Parasitology, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake 470-1192, Japan

⁶Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan

⁷Research Center for Drug and Vaccine Development, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan

⁸Department of Applied Biological Sciences, Tokyo University of Science, Noda 278-8510, Japan

⁹Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

DOI:10.1038/s42003-022-03581-9

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Com_220720en.pdf