



Title	Evolutionary dynamics of heparan sulfate utilization by SARS-CoV-2
Author(s)	樋口, 周平
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105263
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	樋口 周平
論文題名 Title	Evolutionary dynamics of heparan sulfate utilization by SARS-CoV-2 (ヘパラン硫酸利用のSARS-CoV-2の進化的動態)
論文内容の要旨 〔目 的(Objective)〕 SARS-CoV-2オミクロン株は2021年末に出現し、以降主要な流行株となっている。オミクロン株は多数の変異を獲得することで、伝播性を高めるとともに、感染可能な細胞の種類を変化させた可能性がある。SARS-CoV-2は、ACE2に結合後、TMPRSS2による切断を経て細胞膜融合するか、またはエンドサイトーシス経路を介して細胞内に侵入する。従来株はTMPRSS2依存的な経路を主に利用していたが、オミクロン株はエンドサイトーシス経路を利用する傾向にあり、TMPRSS2発現細胞での感染効率が低下していることが報告されている。本研究では、宿主受容体と相互作用するSpikeタンパク質に多数の変異が導入されている点に着目し、オミクロン株と細胞表面分子との相互作用を解析することで、オミクロン株の高い伝播性や感染可能な細胞の変化をもたらす分子メカニズムを解明することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 オミクロン株および起源株のRBDについて、ACE2の発現レベルの異なる細胞への結合性を比較した。その結果、オミクロン株RBDはACE2低発現もしくは、ACE2非発現細胞に対しても高い結合能を示した。さらに、シュードウイルスおよび生ウイルスを用いた感染実験においても、オミクロン株はACE2低発現細胞への感染効率が高いことが確認された。CRISPR-KOライブラリーを用いたスクリーニングにより、オミクロン株RBDが細胞表面のグリコサミノグリカンへの高い結合性を持つことが明らかになった。さらに、ヘパリン阻害実験やヘパリナーゼ処理実験により、オミクロン株RBDがグリコサミノグリカンの中でも特にヘパラン硫酸への高い結合性を獲得していることが確認された。次に、オミクロン株の変異を起源株のアミノ酸残基に戻して、どの変異がヘパラン硫酸への結合に重要か調べると、正電荷を増加させる変異がヘパラン硫酸への結合に重要な役割を果たしていることが示唆された。RBD表面の静電ポテンシャルマップを確認すると、起源株に比べてオミクロン株では正電荷領域が明らかに増加していた。ヘパラン硫酸が負に荷電した糖鎖であることを考えるとオミクロン株RBD上での正電荷の増加がヘパラン硫酸への結合において重要であると考えられた。また、このオミクロン株のヘパラン硫酸への高い結合性は異なるオミクロン株亜系統株間 (BA.2、BA.4/5、XBB.1、BA.2.86) で維持されていることが示唆された。一方、ヘパリンとRBDのドッキングシミュレーションを行うと、ヘパリン結合部位が特に新しい変異株で異なっていることも示唆された。さらに、B3GAT3遺伝子を欠損させて細胞表面のヘパラン硫酸を除去すると、ACE2低発現細胞におけるオミクロン株の感染効率は顕著に低下し、オミクロン株がヘパラン硫酸依存的にACE2低発現細胞へ感染していることが明らかになった。一方、TMPRSS2発現細胞におけるオミクロン株RBDの結合性は顕著に低下していた。TMPRSS2発現細胞を解析した結果、細胞表面のヘパラン硫酸やシンデカン、グリピカンといったヘパラン硫酸プロテオグリカンの量が減少していたが、HLAクラスIやCD46などの他の細胞表面分子は影響を受けておらず、TMPRSS2が細胞表面のヘパラン硫酸プロテオグリカンの切断を行うことが明らかになった。さらに、ACE2低発現細胞にTMPRSS2を発現させるとオミクロン株の感染効率は顕著に低下することが明らかになった。 〔総 括(Conclusion)〕 本研究により、オミクロン株がヘパラン硫酸への高い結合性を獲得していることが明らかになった。その結果、起源株では感染しにくいACE2低発現細胞に対しても高い感染効率を示すようになっていた。この性質は他のオミクロン系統株でも保存されており、感染可能な細胞の幅を拡大することでオミクロン株の高い感染性に寄与していると考えられた。また、TMPRSS2が細胞表面のヘパラン硫酸プロテオグリカンを切断することが、オミクロン株のTMPRSS2発現細胞への感染効率低下の一因を説明している可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 樋口 周平			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	荒瀬 尚 署 名
	副 査	大阪大学教授	渡邊 登喜子 署 名
	副 査	大阪大学教授	小林 剛 署 名

論文審査の結果の要旨

SARS-CoV-2オミクロン株は、スパイクタンパク質に30カ所以上の変異を有し、高い感染性を示すが、その分子機構は不明であった。本研究により、変異によって正電荷を帯びたアミノ酸残基が増加し、負電荷を持つ細胞表面ヘパラン硫酸への親和性が亢進していることが明らかになった。この親和性の増加によってACE2の発現が低い細胞への感染を可能にしていると考えられる。一方、オミクロン株はTMPRSS2を発現する細胞で感染効率が低下しており、その一因として、TMPRSS2による細胞表面ヘパラン硫酸プロテオグリカンの切断を新たに見出した。以上の結果から、オミクロン株はヘパラン硫酸への結合能を高めたことで、ACE2低発現細胞への感染効率を増加させただけでなく、ウイルスの細胞指向性を変化させたことが示唆された。本研究の成果は、SARS-CoV-2のスパイク変異が、ウイルスの感染性、細胞指向性、さらには病原性に与える影響を理解する上で重要な知見を提供するものであり、博士（医学）の学位授与に値する。