

Title	Binding of Herpes Simplex Virus Glycoprotein B (gB) to Paired Immunoglobulin-Like Type 2 Receptor α Depends on Specific Sialylated O-Linked Glycans on gB
Author(s)	王, 静
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58198
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	王 静
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 24446 号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Binding of Herpes Simplex Virus Glycoprotein B (gB) to Paired Immunoglobulin-Like Type 2 Receptor α Depends on Specific Sialylated O-Linked Glycans on gB (単純ヘルペスウイルス感染におけるエンベロープ糖鎖修飾の新たな機能)
論文審査委員	(主査) 教授 荒瀬 尚 (副査) 教授 上田 啓次 教授 竹田 潔

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

単純ヘルペスウイルス(HSV)はDNAウイルスの一種で、150 Kbpのゲノム全長を持ち、80種類以上の遺伝子をコードしている。HSVは宿主の細胞膜由来のエンベロープ、その内側にテグメント蛋白質、さらに内側にウイルスDNAを含んだカプシドから構成される。HSVの感染は、複数のエンベロープ蛋白分子がエンベロープと宿主細胞膜とを膜融合させることで引き起こされる。我々は、Glycoprotein B (gB)がPILR α という抑制性免疫レセプターと結合し、HSVの感染に関与していることを明らかにした(Satoh T, et al. Cell 2008)。さらに、我々は、PILR α の宿主リガンド分子CD99の認識にはO型糖鎖修飾が必要であることを明らかにした(Wang J, et al. J Immunol 2008)。そこで、本研究では、PILR α を介したHSVの感染機構を明らかにするために、PILR α とgBとの相互作用におけるgB上のO型糖鎖修飾の機能を解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

PILR α とgBとの相互作用におけるO型糖鎖修飾の機能を明らかにするために、gB発現細胞をO型糖鎖合成の阻害剤であるBenzyl- α -GalNAcの存在下で二日間培養し、gB発現細胞にPILR α -Fc融合蛋白が結合するかを調べた。その結果、Benzyl- α -GalNAcで処理したgB発現細胞がPILRに認識されなくなった。また、Benzyl- α -GalNAcで処理することにより、gBの分子量が減少することが明らかになった。さらに、gB発現細胞をシアリダーゼで処理し、gB上の糖鎖のシアリ酸を除去すると、PILR α に認識されなくなった。以上より、PILR α によるgBの認識にはシアリ酸を含んだO型糖鎖が必要であることが明らかになった。

次に、gBの糖鎖修飾部位の同定を行うために、gBのアミノ酸配列を糖鎖修飾部位予測プログラムで調べたところ、七カ所のO型糖鎖が予測された。そこで、予測されたO型糖鎖修飾部位の種々の変異gBを作製し、PILRとの結合を調べた。その結果、O型糖鎖修飾予測部位である53番目と480番目のThreonineをAlanineに置換すると、PILRに完全に認識さ

れないことが明らかになった。次に、gBの53番目と480番目のThreonineが実際に糖鎖で修飾されているかを確かめるために、O型糖鎖を構成する中核糖鎖であるGalNAcをアジ化GalNAcでメタボリックラベルをした後、gBを免疫沈降しgB上のO型糖鎖を解析した。その結果、野生型gBにはアジ化GalNAcが取り込まれ検出されたが、53番目と480番目のニカ所のThreonineに変異を加えたgBにはアジ化GalNAcが取り込まれなかった。以上より、53番目と480番目のニカ所のThreonineがPILR α との会合に必須なO型糖鎖修飾部位であることが明らかになった。さらに、53番目と480番目のThreonineに変異を加えたgBのPILR α を介した膜融合活性を調べたところ、変異gBは全く膜融合活性を示さないことが明らかになった。

〔 総 括 〕

以上より、gB上のシアル酸を含んだO型糖鎖修飾がPILR α との相互作用に必須であることが明らかになった。さらに、gB上のO型糖鎖修飾がHSV感染時の膜融合に関与していることを明らかになった。

論文審査の結果の要旨

単純ヘルペスウイルスは皮膚や粘膜を介してヒトに感染する。単純ヘルペスウイルスの感染は、ウイルス側の複数のエンベロープ蛋白を宿主細胞膜と融合されることで細胞に侵入する。申請者はエンベロープ蛋白分子の一つであるGlycoprotein B (gB) とgBの受容体であるPILRという抑制化免疫レセプターとの相互作用について解析を行った。様々な実験により、gBのO型糖鎖修飾がPILRの認識に必要であることが示された。また、PILRの認識に関与するgBのO型糖鎖修飾部位を同定した。O型糖鎖部位に変異をかけたgBはPILRを介して膜融合が起こらないことが見られた。また、gBのO型糖鎖修飾部位に変異をかけた変異ウイルスでは、PILRを介して感染しないことから、gBのO型糖鎖修飾が単純ヘルペスウイルスの感染に重要であることが示された。

以上の研究内容は、単純ヘルペスウイルスの細胞へ侵入の分子メカニズムの解明に大きく貢献すると考えられ、学位に値するものと認める。