The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Functional roles of GRP78 in Hepatitis B virus infectivity and antigen secretion
Author(s)	Suwanmanee, Yadarat
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82056
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	Yadarat Suwanmanee
論文題名 Title	Functional roles of GRP78 in Hepatitis B virus infectivity and antigen secretion (B型肝炎ウイルスの感染性と抗原分泌におけるGRP78の機能的役割)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

The human hepatitis B virus (HBV) is an enveloped virus with a 3.2 kb genome consisting of partially double-stranded DNA virus. HBV infection is leading cause of chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Chronic infection with HBV is a serious public health issue despite the availability of an effective vaccine and antiviral treatments. In order to increase the efficacy and potency of novel anti-HBV drugs, an understanding of the virus-host interaction during HBV infection is required.

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

Here, we identified unknown host factors involved in the HBV life cycle. An HBV preS2 (2-55aa) peptide pulldown assay followed by MALDI-TOF/MS analysis was conducted, and GRP78 (a member of the HSP70 family, also called BiP and HSPA5) was nominated as the preS2-binding protein. Both pulldown assay and immunofluorescence revealed that GRP78 interacted with MS and LS via the preS2 domain, not via preS1. Moreover, our mapping analyses of the interaction domain between GRP78 and preS2 demonstrated that the ATPase domain of GRP78 was the preS2-binding site. To understand how GRP78 plays a role in HBV infection, we established stably GRP78-expressing NTCP/G2 cells, an HBV infection system in vitro, GRP78 overexpression promoted HBV infectivity and replication. The same phenomena were observed in GRP78-overexpressing HB611 cells, a cell line which stably produces HBV without an infection process, without affecting HBV-related mRNA transcription. In contrast, knockdown of GRP78 changed the HBV antigen secretion but not the viral DNA amplification.

〔総　括(Conclusion)〕

Our results suggest that GRP78 should play a supportive role in the process of HBV attachment and entry and in the secretion of HBV-related antigens.

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）Yadarat Suwanmanee

		（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	上田啓次
	副　査	大阪大学教授	松浦善治
	副　査	大阪大学教授	塩田達雄

論文審査の結果の要旨

本論文では、B型肝炎ウイルス（hepatitis B virus; HBV）の膜タンパクの感染性粒子形成に重要な large S（LS）及びmiddle S蛋白（MS）のN末に位置するpreS2領域が、GRP78（glucose-regulated protein 78, BiP; binding immunoglobulin protein, HSPA5; heat shock protein family A [HSP70] member 5）と相互作用することを見出した。本宿主因子は、既報によるとLSやpreS1を相互作用するとされていたが、preS2を含むLS及びMSと相互作用することを証明した。GRP78における相互作用領域はそのATPase domainであった。

HBVの感染サイクルにおけるGRP78の機能的役割を探るために、GRP78を強発現させると、NTCPを発現したHepG2によるHBV感染系で、HBV関連遺伝子産物の発現や複製効率は増加した。cccDNAの量の増加を伴っていたことから、HBVの感染性が増加しているものと考えられた。GRP78の発現をノックダウンした場合は、感染性や複製効率には大きな影響はなかったが、eAgの分泌は低下し、sAgの分泌は増加する現象がみられた。GRP78は元来ER内に存在し、タンパク質の折畳みに関与している因子であるため、eAgの折畳みに重要であることが示唆された。

一方、最近の報告では、GRP78の内外の至る所に存在し、機能していることが示されている。強発現による感染性の増加は、細胞表面における発現増加が、preS2を介したLSやMSとの相互作用の増加が感染効率を上げているものと示唆された。

今後は、preS2領域とGRP78との相互作用が、この現象にどのように関連するかという問題などが解決されなければならないが、研究は詳細かつ精巧に行われ、示された結果は信頼度の高いものであり、博士（医学）の授与に値する。