

# 論文審査の結果の要旨

氏名 廣畑 吉崇

本研究は、単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) 粒子の核膜通過における一次エンベロープと核外膜の融合過程 (de-envelopment) に関与が報告されている HSV-1 エンベロープ糖蛋白質 B (gB) を用いた網羅的質量解析から同定された CD98 heavy chain (CD98hc) に焦点を当て解析を行い、下記の結果を得ている。

1. タンデム免疫沈降用の MEF (myc-TEV-flag) タグと融合した形の gB (MEF-gB) を発現する変異ウイルスを感染させ、タンデム免疫沈降法により gB 複合体を精製し、高感度質量分析計によって、その構成因子を網羅的に決定した。その結果、17 種類の宿主因子および、1 種類のウイルス因子が gB と相互作用しうることを明らかにした。同定された因子の中で、エンベロープウイルスの膜融合を制御することが報告されている CD98hc に着目した。
2. 共免疫沈降実験から、gB と CD98hc が野生型ウイルス感染細胞において複合体を形成することを明らかにした。また、MEF タグを融合した形の CD98hc (MEF-CD98hc) を発現する変異ウイルス (MEF-CD98hc 発現 HSV-1) 感染細胞を用いた共免疫沈降実験から、CD98hc は核外膜における de-envelopment に関与が報告されている HSV-1 因子 gB、gH、UL31、UL34 および Us3、さらに CD98hc と相互作用し、CD98hc の膜融合制御機能への寄与が示唆されている  $\beta 1$  integrin と複合体を形成することを明らかにした。さらに、過剰発現細胞における共免疫沈降実験から、gB と gH はそれぞれが単独に CD98hc と複合体を形成すること、また、その複合体形成は他のウイルス因子に依存しないことを示唆した。
3. CD98hc は非感染細胞において主に細胞膜に局在するのに対して、感染細胞において核膜および核膜周辺に集積し、gB、gH、UL31、UL34 および  $\beta 1$  integrin と共局在することを明らかにした。
4. CD98hc 発現抑制によって、HSV の核膜通過に必須である UL31 および UL34 の適切な局在が阻害されたことから、CD98hc は UL31 および UL34 の適切な局在に寄与することを示唆した。
5. 電子顕微鏡解析から、CD98hc 発現抑制細胞において、顕著に一次エンベロープを獲

得したウイルス粒子が核内外膜間に蓄積し、核内に陥入構造体が形成されることを明らかにした。この結果から、CD98hc はウイルス粒子の核膜通過、とくに de-envelopment に寄与することを示唆した。

6.  $\beta 1$  integrin 発現抑制によって、CD98hc 発現抑制の結果と同様、(i) UL31 および UL34 の適切な局在の阻害、(ii) 一次エンベロープを獲得したウイルス粒子の核内外膜間への蓄積、(iii) 核内への陥入構造体が形成されることを明らかにした。

7. CD98hc および  $\beta 1$  integrin 発現抑制細胞において野生型ウイルス感染時の培養上清中のウイルス力価が顕著に低下したことから、CD98hc および  $\beta 1$  integrin は野生型ウイルスの増殖に寄与することを明らかにした。

以上、本論文は HSV-1 の感染細胞において、CD98hc/ $\beta 1$  integrin を介した膜融合制御システムを核膜へ集積させ、一次エンベロープと核外膜の融合を促進することで、効率的にヌクレオカプシドを細胞質に放出するという HSV-1 de-envelopment に関する新たなモデルを提唱した。膜融合過程は、多くの場合その詳細なメカニズムは明らかにされてないことから、本研究で得られた知見は、CD98hc と  $\beta 1$  integrin は、宿主細胞の膜融合を引き起こす因子の探索に有用性を有すると考えられる。また、これまでのヘルペスウイルス感染治療薬は、ウイルス因子を薬効標的とするため、ウイルス側の変異によって薬剤が効かなくなる耐性ウイルスが出現する可能性があった。一方で、宿主因子を薬効標的にした場合、ウイルス因子の変異が起こっても阻害効果が期待できる。本研究で焦点を当てた、膜小胞を介した核膜通過は、現時点で *Drosophila* の神経細胞およびヘルペスウイルス感染細胞でのみ観察される機構であり、極めて特殊な機構であることが予想される。これらの知見から、CD98hc および  $\beta 1$  integrin を薬効標的とすることは、効果的かつ副作用を抑えた抗ヘルペスウイルス薬の開発に応用できる可能性があると考えられ、博士（生命科学）の学位の授与に値するものと認める。