

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	Tanuza Nazmul
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Capture and neutralization of SARS-CoV-2 and influenza virus by algae-derived lectins with high-mannose and core fucose specificities (高マンノースおよびコアフコース特異性を有する藻類由来レクチンによる SARS-CoV-2 およびインフルエンザウイルスの捕捉と中和反応)			
論文審査担当者			
主査	教授	保田 朋波流	印
審査委員	教授	東 幸仁	
審査委員	講師	杉山 文	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) は、直径約 100 nm のエンベロープウイルスである。その S タンパク質は、3 量体を形成し、ウイルス表面からスパイク状に突出している。S タンパク質には多数の糖鎖付加部位があり、少なくとも複合型および高マンノース (HM) 型の N-グリカンが付加していることが確認されている。これらの糖鎖は S タンパク質構造の維持に重要な役割を果たすだけでなく、抗体や他の物質に対する防御の盾としても機能している。</p> <p>Nazmul らのグループは、海洋藻類から分離されたレクチンの抗ウイルス能を研究してきた。これらのレクチンのうち、BCA, ESA-2, KAA-1, KAA-2 は、インフルエンザウイルスの増殖を阻害すること、および BCA と OAA は HIV-1 の宿主細胞への侵入を阻止することが示されている。本研究では、藻類由来のレクチンの SARS-CoV-2 に対する効果を調べた。</p> <p>Nazmul らは、SARS-CoV-2/JP/Hiroshima-46059T/2020 株 (B.1.1) を用い、感染実験は広島大学の P3 実験室で行われた。また、インフルエンザウイルス A/Udorn/72(H3N2) も用いた。今回の研究で使用した 9 種類の藻類レクチンのうち、7 種類 (OAA, KAA-1, ESA-2, BCA, BPL17, MPL-1, CV-N) は HM 型 N-グリカンに特異性を示し、MVL は複合型 N-グリカンに加えて HM 型 N-グリカンにも弱く結合する。また、HypninA-2 は複合型 N-グリカンのコアフコースに結合する。</p> <p>このうち 3 種類のレクチン (OAA, KAA-1, HypninA-2) を Ni-NTA スピニングカラムに固定化し、SARS-CoV-2 がカラムに結合するかを調べた。結果として、SARS-CoV-2 が OAA, KAA-1, HypninA-2 のすべてに結合することが明らかになった。</p> <p>上記 3 種類のレクチンに加えてさらに 6 種類、合計 9 種類のレクチン (濃度 10 μM) で SARS-CoV-2 の中和試験を行った。KAA-1 と ESA-2 では感染性が大幅に低下し、中和活性を示した。しかし、カラム実験で SARS-CoV-2 に結合することが確認された OAA では、中和することはできなかった。一方、HypninA-2 も SARS-CoV-2 に対する中和活性を示した。</p> <p>インフルエンザウイルスに対しても同じレクチンを使用して中和試験を行った。インフルエンザウイルスの感染性は KAA-1 および ESA-2 によってほぼ完全に中和され、OAA では中和されなかった。また、SARS-CoV-2 に対して中和活性を示した HypninA-2 は、インフルエンザウイルスに対してほとんど中和活性を示さなかった。</p> <p>SARS-CoV-2 を OAA, KAA-1, HypninA-2 の 3 種類のレクチンで処理し、電子顕微鏡下で観察したところ、ウイルス粒子によって凝集していることがわかった。各粒子の面積を測定して含まれるウイルス粒子の数を推定し、凝集の程度が HypninA-2 > KAA-1 > OAA の順に異なることを明らかにした。</p> <p>本研究では、HM 型グリカン特異的レクチンである KAA-1 と ESA-2、およびコアフ</p>			

コース特異的レクチンである HypninA-2 が SARS-CoV-2 に対する中和活性を持つことが明らかとなった。一方で、SARS-CoV-2 と結合するにもかかわらず、OAA は中和活性を示さなかった。

中和のメカニズムとしては、S タンパク質のレクチンによる立体障害とウイルスの凝集が考えられる。立体障害では、KAA-1 と ESA-2 が S タンパク質の高マンノース型糖鎖に結合し、受容体結合ドメイン (RBD) を覆って感染性を減少させたと考えられる。よりサイズの小さい OAA の場合には、結合しても立体障害が起らなかったために中和がみられなかった可能性がある。また、ウイルスの凝集の程度は、KAA-1, HypninA-2 処理で強く見られ、OAA 処理では弱かった。KAA-1 と ESA-2 は 1 分子あたり 4 箇所の結合部位を持ち、一方 OAA には 2 箇所しかない。このことは、レクチンが持つ糖鎖結合部位の数に関連している可能性がある。これらのことから SARS-CoV-2 のレクチンによる中和は、レクチンの分子量、糖鎖結合部位の数、レクチンが結合する S タンパク質上の糖鎖の位置など、複数の要素が影響していると考えられた。

藻類由来レクチンは、ウイルスの濃縮、検査、不活化(消毒)に有用であると考えられる。特に、新たなパンデミックにおいて新興病原体と戦うためのレクチンの活用の可能性は大きい。

以上の結果から、本論文は藻類由来レクチンの SARS-CoV-2 に対する効果とその機構を明らかにし、レクチンの病原体に対する活用の道を開くものである。よって審査委員会委員全員は、本論文が Tanuza Nazmul に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。