

審査の結果の要旨

氏名 村山麻子

C型肝炎ウイルス（HCV）は、C型肝炎の病因であり、フラビウイルス科に属するエンベロープウイルスである。感染者の多くが慢性肝炎となり、その後高い割合で肝硬変や肝細胞癌へ移行することが知られている。HCVは、がん遺伝子を持たないウイルスであるが、HCVの遺伝子産物の一つであるコア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスは、肝細胞癌を発症することから、コア蛋白質がHCV病原性発現の中心的役割を担うと考えられている。

HCVコア蛋白質は、N末端側に3つの核移行シグナル（NLS）様配列を持ち、C末端側には疎水性アミノ酸に富んだ領域を持っている。動物細胞では前駆体蛋白質の合成の際に小胞体（ER）に運ばれ、ER膜上で宿主のシグナルペプチダーゼにより前駆体から切り離される。さらに、ER膜上で宿主のシグナルペプチドペプチダーゼによりC末端側の膜貫通領域の内部で切断され、成熟したコアタンパク質（p21）となる。この成熟コア蛋白質は、主にERに局在している。

HCVコア蛋白質は、出芽酵母でも動物細胞同様の局在を示し、核内輸送受容体の一つであるKap123pと相互作用すること、また出芽酵母の転写因子の一つであるYap1pの核内輸送を阻害することも明らかとなっている。この出芽酵母での結果は、HCVコア蛋白質が動物細胞においても核内輸送受容体と相互作用し、核-細胞質間輸送を攪乱している可能性を示唆している。本研究は、HCVコア蛋白質の動物細胞内における核-細胞質間輸送への影響を明らかにすることを目的として行われた。

まず、HCVコア蛋白質のN末端側に存在する3つのNLS様配列に着目し、N末端側領域のみ持つコア蛋白質変異体に対する核内輸送受容体の認識を、

コア蛋白質変異体の核内輸送現象を指標に検討し、3つのNLS様配列のうち、少なくとも2つが存在すれば核局在するが、1つだけではNLSとして機能しないことを明らかにした。

次に、コア蛋白質の3つのNLSを含むN末端側領域と相互作用する核-細胞質間輸送受容体を5種類のImportin α ファミリー分子と12種類のImportin β ファミリー分子を使用し、GST-pull down assayを用いて探索した。その結果、すべてのImportin α ファミリー分子と多くの(8種類)Importin β ファミリー分子と相互作用することが示唆された。これらのうち、精製したImportin α およびImportin β を使用することにより、核-細胞質間輸送受容体は、HCVコア蛋白質N末端領域と直接結合することを明らかにした。この結果は、Importin α /Importin β ヘテロダイマーにより核内輸送されることが明らかになっているSV40ラージT抗原のNLSに代表される古典的NLSを持つ分子の核内輸送が、HCVコア蛋白質による影響を受ける可能性を示唆した。

そこで、ジキトニンで処理したセミインタクト細胞系を使用した核内輸送系を作製し、HCVコア蛋白質N末端領域とSV40ラージT抗原NLSのImportin α /Importin β ヘテロダイマーへの結合の競合性を調べた。その結果、SV40ラージT抗原NLSの核内輸送がHCVコア蛋白質N末端側領域の添加により阻害されることを示した。さらに、精製したImportin α 5とSV40ラージT抗原NLSとの結合をコア蛋白質のN末端領域が試験管内でも効率良く阻害することを示した。

以上の結果は、HCVコア蛋白質が核-細胞質間輸送受容体と相互作用し、核タンパク質の核内輸送を攪乱しているという考えを強く支持するものであり、HCV感染病態の理解にとって大きく貢献する研究結果である。よって博士(薬学)の学位論文に値すると判定した。