

学位授与番号	甲第 1624 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
氏 名	島 上 哲 朗
学位論文題目	Effect of Interaction between Hepatitis C Virus NS5A and NS5B on Hepatitis C Virus RNA Replication with the Hepatitis C Virus Replicon (C型肝炎ウイルス(HCV)レプリコン系を用いた非構造蛋白(NS)5A と NS5B の相互作用の HCV RNA 複製に与える影響に関する検討)
論文審査委員	主 査 教 授 馬 淵 宏 副 査 教 授 中 沼 安 二 教 授 福 田 龍 二

内容の要旨及び審査の結果の要旨

C 型肝炎ウイルス(以下 HCV)非構造蛋白 NS5B は RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ(以下 RdRp)活性を有し、ウイルス複製の中心酵素であるが、非構造蛋白 NS5A のウイルス複製における役割は不明であった。

HCV-JK1 株において NS5A と NS5B とが相互作用し、NS5A 上の 2 領域がこの相互作用に必須であり、NS5B との結合を示す NS5A は、大腸菌精製 NS5B の RdRp 活性を低モル比では促進し、高モル比では濃度依存性に抑制することが報告されている。この結果より NS5A が NS5B との結合を介し HCV 複製を修飾することが示唆されたが、その生物学的意義に関しては不明であった。

本研究では、HCV-M1LE 株由来の HCV レプリコンを用い、この相互作用の HCV 複製に与える影響を検討し、以下の結果を得た。

1. GST-pull down 法にて、M1LE 株においても NS5A と NS5B が相互作用し、JK1 株で同定された領域と同じ NS5A の 2 領域がこの相互作用に重要であった。
2. NS5A の NS5B 結合領域を内部欠損させた 2 種のレプリコンはヒト肝癌細胞株(Huh-7)での複製を認めなかったが、NS5B 結合に関与しない領域を内部欠損させたレプリコンでは複製を認めた。
3. NS5A の 2 つの NS5B 結合領域全てを 5~8 アミノ酸残基をアラニンに集約置換した NS5A を含む合計 19 種の置換変異体を作製し、Huh-7 細胞に導入した。その結果、5 種の置換変異体でのみ複製を認めた。
4. 培養細胞中で、HCV 複製の増強が既に報告されている NS5A の順応点変異を導入した変異体レプリコンを作製した。また HCV レプリコン複製細胞をインターフェロン処理によりレプリコンを除去した cured cell を作製した。両者の組み合わせにより HCV 複製の効率は最大約 300 倍増加した。
5. この高効率の系においても同様に 5 種の置換変異体でのみ複製を認めた。

これらの結果は、NS5A上のNS5Bとの相互作用領域が、HCVの複製に重要であることを示した。NS5AがNS5Bとの相互作用によりHCV複製を制御することを示唆する今回の結果は、NS5AのNS5Bとの相互作用の局面が新たなHCV複製阻害剤の有力な分子標的であることを示唆する新しい知見であり、学位に値する労作と評価された。