



Title	Hepatitis C virus RNA replication is regulated by FKBP8 and Hsp90
Author(s)	岡本, 徹
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47425
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

氏 名	おかもととおる 岡 本 徹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20682 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 9 月 27 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学 位 論 文 名	Hepatitis C virus RNA replication is regulated by FKBP8 and Hsp90 (C 型肝炎ウイルスの RNA 複製は FKBP8 と Hsp90 によって制御されている)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松浦 善治 (副査) 教 授 岡田 雅人 教 授 塩田 達雄

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

C 型肝炎ウイルス (HCV) は血液や血液製剤を介して感染し、日本だけでも 200 万人もの感染者がいると言われている。HCV に感染すると高率に慢性化、持続感染し、やがて肝細胞癌を発症する。本邦では毎年 3 万人が肝癌で死亡しており、その約 8 割が HCV 感染に起因しており、C 型肝炎は極めて重要な感染症である。しかしながら、HCV の感染・複製機構は未だ明らかにされていない。HCV 蛋白質の中でも、NS5A 蛋白質はウイルス複製や病原性の発現に重要な役割を演じていることが報告されているが、詳細な機能は明らかにされていない。本研究では、NS5A 蛋白質と相互作用する宿主蛋白質を同定し、その機能解析を通して HCV の複製機構を明らかにすることを目的とした。

【方法ならびに成績】

酵母 2 ハイブリット法を用いて、ヒト cDNA ライブラリーから NS5A 蛋白質と結合する宿主蛋白質を探索した。HCV のウイルス RNA が自己複製している HCV レプリコン細胞を HCV 複製のモデル細胞とし、siRNA によるノックダウン法と定量的 RT-PCR によって、同定された宿主因子の HCV 複製への影響を解析した。さらに、タンデムタグ免疫沈降法と質量分析によって、NS5A 結合蛋白質と相互作用する下流因子の同定を試みた。

NS5A 蛋白質と相互作用する新たな細胞内因子として、FK506-binding protein 8 (FKBP8) を同定した。FKBP8 と種々の遺伝子型の NS5A との結合は哺乳動物細胞での免疫沈降法でも確認された。HCV レプリコン細胞において、FKBP8 の mRNA を siRNA でノックダウンしたところ、FKBP8 の発現抑制に比例して、HCV のゲノム RNA の減少が観察された。この複製抑制は siRNA に耐性な FKBP8 を発現させることによって回復した。また、劇症肝炎患者からクローニングされた HCV 培養系においても、FKBP8 をノックダウンすると顕著に感染細胞内のウイルス RNA、並びの培養上清中に放出されるウイルス蛋白質の減少が観察された。さらに、免疫沈降法によって、FKBP8 は Heat shock protein (Hsp) の一種である Hsp90 とも複合体を形成することが示された。しかしながら、Hsp90 は NS5A とは直接に結合せず、FKBP8 を介して NS5A と HSP90 が複合体を形成していた。さらに、Hsp90 には結合できず、NS5A とは結合できるような FKBP8 変異体は、HCV の複製を抑制したことから、Hsp90 も HCV の複製に関与していることが示唆された。

【総括】

本研究により、FKBP8 は NS5A 蛋白質と Hsp90 との複合体形成を仲介することによって、HCV の複製に重要な役割を演じていることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

国内だけでも 200 万人もの感染者がいる C 型肝炎ウイルス (HCV) は、高率に慢性化し、やがて肝細胞癌を発症する。我が国での肝細胞癌の 8 割近くは HCV 感染に起因しており、有効な治療薬開発が急務である。HCV のような RNA ウイルスに対する治療薬では、ウイルスタンパク質を標的としたものでは耐性ウイルスの出現が危惧されるが、ウイルスが感染細胞で増殖するために必須の宿主因子を標的にすれば、耐性ウイルスは出現しにくいことが予想される。申請者は、HCV の複製に FKBP8 というタンパク質が関わっていることを明らかにし、さらに FKBP8 と相互作用している宿主細胞内因子としてタンパク質のフォールディングに機能する Hsp90 が HCV 増殖に関与することを明らかにした。すなわち、申請者の結果から、FKBP8 と HCV の NS5A との相互作用を介して、Hsp90 がウイルス複製複合体に加わりウイルス増殖に機能していることが考えられる。HCV 研究の治療薬開発や研究は欧米が現時点では先行している。申請者が HCV の複製に関与する宿主因子の同定およびそれらの感染細胞内での機能を明らかにしたことから、新たな治療薬開発の道が開かれた。競争の激しい C 型肝炎研究において独自の地位を築いたことから、申請者の研究は学位の授与に値する。