

Title	Induction of selective autophagy in cells replicating hepatitis C virus genome
Author(s)	森, 寛行
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/72172">https://hdl.handle.net/11094/72172</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 森 寛行

論文審査担当者	(職) 氏 名
主 査	大阪大学教授 松浦善弘
副 査	大阪大学教授 塩川 三郎
副 査	大阪大学教授 原 泰二

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、先行研究で盛んに検討されているにも関わらず、未だ不明瞭であったC型肝炎ウイルスとオートファジーの関係性を、オートファジー関連遺伝子をゲノム編集により欠損させた細胞を用いて明瞭に解明していることが注目に値する。その中で、C型肝炎ウイルス感染後、細胞内に蓄積したユビキチン化タンパク質を除去するために選択的オートファジーが惹起されることを示したのは、新規性が高く、細胞生物学的観点から見ても非常に興味深い。さらに、オートファジーが感染の進行により抑制され、発がんに繋がるp62の蓄積を明らかにしたことは、C型肝炎ウイルスの病原性発現機序の解明に寄与する結果であり、医学的に非常に意義深い。以上より、本論文は博士（医学）の学位論文に値するものと認める。

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	森 寛行
論文題名 Title	Induction of selective autophagy in cells replicating hepatitis C virus genome (C型肝炎ウイルスゲノムが複製する細胞では選択的オートファジーが誘導される)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕 C型肝炎ウイルス(HCV)に感染した細胞では、オートファジーが誘導されることが知られているが、その誘導機構やHCV感染における生理学的意義は不明なままである。本研究は、オートファジー関連遺伝子の欠損細胞を樹立し、HCV感染によるオートファジーの誘導機構と病原性に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 HCVの遺伝子型2aに属するJFH1株やJFH2株に感染した細胞における、オートファゴソームのマーカーである脂質化したLC3の蓄積を、ウェスタンブロット法と免疫蛍光染色法で確認した。また、遺伝子型2aのJFH1株や遺伝子型1aのCon1株由来のHCVゲノムが持続的に自立複製するレプリコン細胞でも、感染細胞と同様に脂質化したLC3の蓄積が観察されたことから、HCVゲノムの複製がオートファジーを誘導し、脂質化したLC3が蓄積することが明らかとなった。次に、オートファジーの誘導経路を解析するため、定型的な飢餓誘導性オートファジーに重要な因子である、ATG5、ATG13、ATG14をCRISPR/Cas9法により欠損させたHuh7.5.1細胞にHCVを感染させた。ATG5欠損細胞では脂質化したLC3の蓄積は認められなかったが、ATG13やATG14を欠損させても変化は確認されなかったことから、HCV感染による脂質化したLC3の蓄積は、ATG13やATG14には依存しないことが明らかとなった。また、これらの欠損細胞にHCVを感染させたところ、細胞内のRNAコピー数や上清中の感染性粒子数に変化はないことから、HCV感染によって誘導される非定型的なオートファジーは、HCVの増殖に影響しないことが明らかになった。オートファジーには、ユビキチン化されたタンパク質を選択的に標的とする選択的オートファジーが存在する。HCV感染細胞では、ユビキチン化タンパク質とLC3の共局在が観察され、ユビキチン化タンパク質とLC3は感染の進行につれて、細胞質内に凝集体を形成して蓄積した。また、ユビキチン化タンパク質の凝集体は、ATG5やATG14欠損細胞では感染初期に増加したものの、ATG13欠損細胞で増加が認められなかったことから、HCVの感染初期には、ATG5とATG14依存的に選択的オートファジーが誘導されることが示唆された。また、LC3とユビキチン化タンパク質の凝集体と、HCVのゲノム複製時に形成されるdouble-stranded RNAが部分的に共局在しており、凝集体の局在部位に高密度な膜様構造物が電子顕微鏡観察で確認されたことから、LC3とユビキチン化タンパク質は複製複合体近傍に共局在することが示唆された。さらに、HCV感染細胞をライソゾームとオートファゴソームの融合阻害剤であるBafilomycin A1で処理したところ、感染初期には脂質化したLC3の増加が確認されたが、感染後期では増加は確認されなかったことから、HCVの感染後期にはオートファジーの誘導が抑制されることが示唆された。また、病原性発現に関与するp62もオートファジー経路の阻害に伴い増加が観察された。</p>	
<p>〔総括(Conclusion)〕 HCVに感染すると、感染初期ではウイルスゲノムの複製複合体近傍に蓄積したユビキチン化タンパク質は選択的オートファジーによって処理されるが、感染後期にはオートファジー経路が阻害され、病原性に関与するp62等の蓄積が、HCV感染による病原性発現に関与する可能性が示唆された。</p>	