

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07514

研究課題名(和文) C型肝炎ウイルスによる脂肪滴肥大化維持の分子機構とウイルス学的意義の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of HCV-induced formation of large lipid droplets and virus life cycle

研究代表者

勝二 郁夫 (Shoji, Ikuo)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：40356241

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：1. HCV感染によるJNK活性化とAIP4のリン酸化 2. E3リガーゼAIP4によるADRPユビキチン化 3. 脂肪滴周囲蛋白質およびAIP4によるADRPユビキチン化機構析を解析した。HCV JNK活性化によりAIP4のリン酸化、活性化が引き起こされた。ADRPがユビキチン化を受け蛋白質量が減少したが、脂肪滴周囲のADRP量は減少しなかった。HCV感染細胞の免疫蛍光染色から、ADRPは主にLD周辺に局在した。以上より、NS3/4AプロテアーゼがSPG20を特異的に切断し、Itchを介したLD関連ADRPのユビキチン依存性分解を阻害し、大きなLDの形成が促進されることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HCV感染患者の肝に脂肪化が発症することは臨床によく知られ、HCV感染による脂質代謝系の変化が詳細に解析されてきた。しかし、HCV感染初期に肝細胞で脂肪滴(Lipid droplet, LD)が肥大化し、肥大脂肪滴が維持される分子機構は不明であった。しかし、本研究により、HCV感染で早期に肝細胞に脂肪滴形成が誘導される分子機構が明らかとなった。HCV感染による肝脂肪化に対する治療法開発へとつながることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We focused on these 3 topics. 1. HCV infection induced JNK activation and AIP4 phosphorylation 2. ADRP ubiquitination by E3 ligase AIP4. ADRP ubiquitination by peridroplet proteins and AIP4. 3. analysis of the mechanism of ADRP ubiquitination by peridroplet proteins and AIP4. HCV JNK activation caused phosphorylation and activation of AIP4. immunofluorescence staining of HCV-infected cells revealed that ADRP was mainly localized around LDs. Taken together, these results suggest that NS3/4A protease specifically cleaves SPG20 and inhibits Itch-mediated ubiquitin-dependent degradation of LD-associated ADRP, thereby promoting the formation of large LDs.

研究分野：ウイルス学

キーワード：HCV JNK AIP4 ADRP SPG20 脂肪滴 肝脂肪化

1. 研究開始当初の背景

HCV 感染患者の肝に脂肪化が発症することは临床上よく知られ、HCV 感染による脂質代謝系の変化が詳細に解析されてきた。しかし、HCV 感染初期に肝細胞で脂肪滴 (Lipid droplet, LD) が肥大化し、肥大脂肪滴が維持される分子機構は不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、以下の3点の解明を目的とする。1) 脂肪滴肥大化維持に必要なウイルス因子および宿主因子の同定、2) 脂肪滴肥大化維持に必要な分子機構の解明、3) 脂肪滴肥大化抑制法の開発。

3. 研究の方法

研究方法は HCV 感染培養系、HCV RNA レプリコン系、プラスミド発現系を用い、HCV NS3/4A プロテアーゼによる脂肪滴調節因子 SPG20 の切断とアディポフィリン(ADRP)量の変化と脂肪滴肥大化の維持の関連について解析する。さらに DAA 製剤などの薬剤による脂肪滴縮小効果を解析した。

4. 研究成果

1. HCV 感染による JNK 活性化と AIP4 のリン酸化および活性型変換の解析. 2. HCV 感染による E3 リガーゼ AIP4 による ADRP ユビキチン化および発現量の解析. 3. 脂肪滴周囲蛋白質 (SPG20, TIP47, ADRP) およびユビキチンリガーゼ AIP4 による ADRP ユビキチン化機構の解析を行った。その結果、HCV JNK 活性化により AIP4 のリン酸化、活性化が引き起こされること、ADRP がユビキチン化を受け蛋白質量が減少すること、しかし、脂肪滴周囲の ADRP 量は減少しないことを明らかにした。HCV 感染細胞の免疫蛍光染色から、ADRP は主に LD 周辺に局在し、細胞質 ADRP は減少していることが明らかになった。以上のことから、HCV NS3/4A プロテアーゼが SPG20 を特異的に切断し、Itch を介した LD 関連 ADRP のユビキチン依存性分解を阻害し、大きな LD の形成が促進されると考えられた(図 1, 2)。

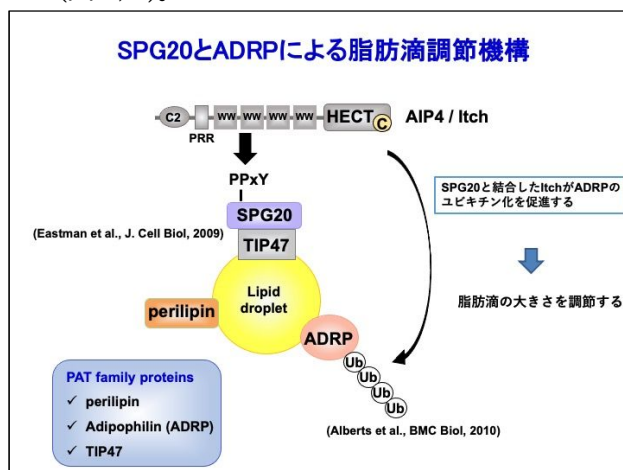


図 1. SPG20 と ADRP による脂肪滴調節機構

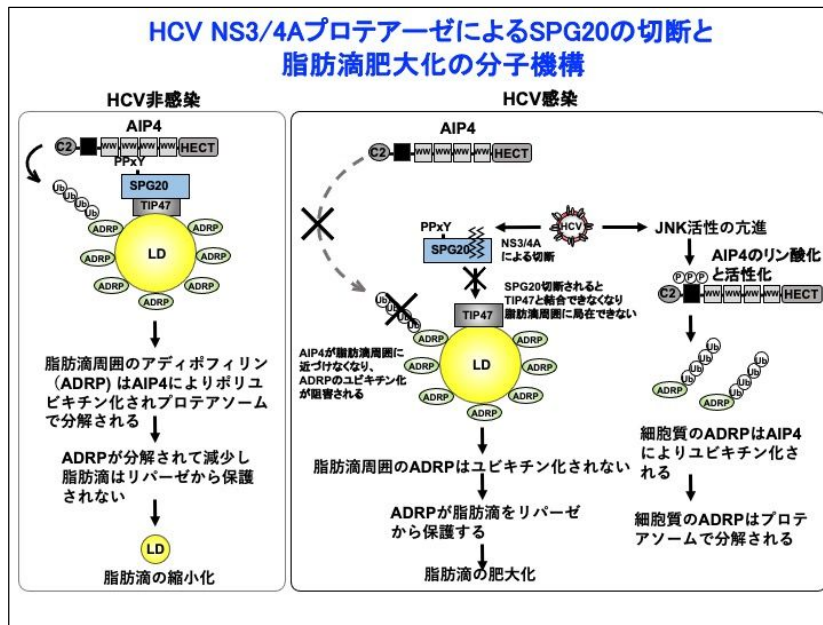


図2. HCV NS3/4A プロテアーゼによる SPG20 の切断と脂肪滴肥大化の分子機構

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Matsui Chieko, Yuliandari Putu, Deng Lin, Abe Takayuki, Shoji Ikuo | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 The Role of Chaperone-Mediated Autophagy in Hepatitis C Virus-Induced Pathogenesis | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology | 6. 最初と最後の頁 1-8 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcimb.2021.796664 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Deng Lin, Liang Yujiao, Ariffianto Adi, Matsui Chieko, Abe Takayuki, Muramatsu Masamichi, Wakita Takaji, Maki Masatoshi, Shibata Hideki, Shoji Ikuo | 4. 巻 96 |
| 2. 論文標題 Hepatitis C Virus-Induced ROS/JNK Signaling Pathway Activates the E3 Ubiquitin Ligase Itch to Promote the Release of HCV Particles via Polyubiquitylation of VPS4A | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Virology | 6. 最初と最後の頁 1-21 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JVI.01811-21 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Rheza Gandhi Bawono, Takayuki Abe, Yasuaki Shibata, Chieko Matsui, Lin Deng, Ikuo Shoji | 4. 巻 67 |
| 2. 論文標題 NS5A-ISGylation via Lysine 26 Has a Critical Role for Efficient Propagation of Hepatitis C Virus Genotype 2a | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Kobe J Med Sci | 6. 最初と最後の頁 E38-E47 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Abe T, Minami N, Bawono RG, Matsui C, Deng L, Fukuhara T, Matsuura Y, Shoji I | 4. 巻 94 |
| 2. 論文標題 ISGylation of hepatitis C virus NS5A protein promotes viral RNA replication via the recruitment of cyclophilin A | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Virology | 6. 最初と最後の頁 1-23 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JVI.00532-20. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Yuliandari Putu, Matsui Chieko, Deng Lin, Abe Takayuki, Mori Hiroyuki, Taguwa Shuhei, Ono Chikako, Fukuhara Takasuke, Matsuura Yoshiharu, Shoji Ikuo | 4. 巻 1 |
| 2. 論文標題 Hepatitis C virus NS5A protein promotes the lysosomal degradation of diacylglycerol 0-acyltransferase 1 (DGAT1) via endosomal microautophagy | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Autophagy Reports | 6. 最初と最後の頁 264 ~ 285 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/27694127.2022.2095591 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Matsui C, Yuliandari P, Deng L, Abe T, Shoji I. |
| 2. 発表標題 HCV NS3/4A protease cleaves SPG20 for formation of large lipid droplets |
| 3. 学会等名 27th International symposium on hepatitis C virus and related viruses (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yuliandari P, Matsui C, Deng L, Abe T, Shoji I. |
| 2. 発表標題 Hepatitis C virus infection promotes the lysosomal degradation of Diacylglycerol 0-acytransferase 1 (DGAT1). |
| 3. 学会等名 27th International symposium on hepatitis C virus and related viruses (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Matsui C, Yuliandari P, Deng L, Abe T, Shoji I. |
| 2. 発表標題 HCV NS3/4A protease cleaves SPG20 for formation of large lipid droplets |
| 3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Chieko Matsui, Putu Yuliandari, Lin Deng, Takayuki Abe and Ikuo Shoji |
| 2. 発表標題 Hepatitis C virus NS3/4A protease specifically cleaves SPG20 and promotes the formation of large lipid droplets |
| 3. 学会等名 第43回日本分子生物学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Putu Yuliandari, Chieko Matsui, Lin Deng, Takayuki Abe, Ikuo Shoji |
| 2. 発表標題 Hepatitis C Virus infection Promotes the Lysosomal Degradation of Diacylglycerol O-acyltransferase 1 (DGAT1) |
| 3. 学会等名 第43回日本分子生物学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 松井千絵子, Putu Yuliandari, Maria Alethea Septianastiti, 鄧琳, 阿部隆之, 勝二郁夫 |
| 2. 発表標題 C型肝炎ウイルスが誘導する新規選択的蛋白質分解経路 |
| 3. 学会等名 第69回日本ウイルス学会学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 阿部隆之, 松井千絵子, 鄧琳, 松浦善治, 勝二郁夫 |
| 2. 発表標題 HCV感染はANX5とPKC-etaによるoccludinの機能制御に干渉することでウイルス伝播を促進させる |
| 3. 学会等名 第69回日本ウイルス学会学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Chieko Matsui, Putu Yuliandari, Lin Deng, Takayuki Abe, Ikuo Shoji | 4. 発行年 2022年 |
| 2. 出版社 Frontiers Research Topics | 5. 総ページ数 427 |
| 3. 書名 The Role of Autophagy in Infectious Diseases | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| 神戸大学大学院医学研究科附属感染症センター感染制御学分野 https://www.med.kobe-u.ac.jp/infcon/ |
|---|

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|