

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20390135  
 研究課題名（和文） C型肝炎ウイルス産生における油滴の役割

研究課題名（英文） Roles of lipid in HCV production

## 研究代表者

下遠野 邦忠 (SHIMOTOHNO KUNITADA)  
 千葉工業大学 附属総合研究所 教授  
 研究者番号：10000259

## 研究成果の概要（和文）：

HCV 複製に関与する宿主因子の解析を通じて、細胞質に存在する油滴量が HCV 感染により増加することを見出したが、特にウイルス産生における脂肪の意義を解析した。その結果、感染性ウイルス産生には脂肪の細胞内蓄積の他に脂肪成分が細胞の外に放出される機構が重要であることを見いだした。つまり、肝臓細胞から脂肪成分が放出される際には、トリグリセリドとアポリポ蛋白質の複合体である very low density lipoprotein (VLDL) として放出される事が知られている。VLDL の産生を阻害する薬剤でウイルス感染細胞を処理すると細胞外への VLDL の放出は阻害される。そのときに感染性ウイルス粒子の細胞外への放出を調べると、VLDL 産生阻害の程度に応じて産生も低下した。これらのことから、ウイルス粒子産生には、細胞内の脂肪滴そのものに加えて細胞から脂肪を放出する経路が重要である可能性が示された。

## 研究成果の概要（英文）

Previously, I discovered accumulation of lipid droplets in cells infected with hepatitis C virus (HCV). However, the roles of accumulation of lipid droplets in HCV proliferation remain elusive. We hypothesized that dys-regulation of lipid metabolism is important to allow efficient proliferation of HCV. Moreover, I sought another alteration of lipid metabolism which might be also important to HCV proliferation. Since it has been shown that HCV in blood from HCV infected individuals associates with lipoproteins such as very low density lipoprotein (VLDL)/low density lipoprotein (LDL), I analyzed effect of lipoprotein synthesis for HCV production. When lipoprotein synthesis was blocked by the inhibitor for microsomal triglyceride transfer protein (MTP), production of VLDL was suppressed. Simultaneously, secretion of HCV into culture medium was reduced, which coincided to reduction of secretion of apolipoprotein B. This result indicates that production of HCV depends on biosynthesis of lipoproteins. Moreover, the fact of that the density of HCV is smaller than ordinal spherical RNA viruses suggests association of lipid components with virus particles. Collectively, I propose that HCV hijacks lipid metabolism as well as lipid transfer mechanism for efficient proliferation, which may be a possible risk to advance liver failure.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2009年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
総計	9,500,000	2,850,000	12,350,000

研究分野：病理 ウイルス  
科研費の分科・細目：ウイルス学  
キーワード：C型肝炎ウイルス、複製、脂肪滴

#### 1. 研究開始当初の背景

C型肝炎ウイルス (HCV) は肝炎発症、および肝がん発症の危険因子である。このような疾患発症の背景には、免疫機構による感染細胞の監視機構が働き、その結果炎症と肝細胞の再生が絶え間なく起こることが、肝疾患の増悪化を招くと考えられる。さらに、免疫による炎症に加えてウイルス自身が感染細胞の増殖を変化させる結果、細胞の変化を促進させるとも考えられる。しかし、ウイルス複製増殖による細胞の増殖変化がどのような機序によるのかは不明な点が多い。

#### 2. 研究の目的

HCV 感染増殖が細胞に与える効果を調べつつ、ウイルス複製機構を明らかにして、それを疾患の予防に役立てる。とくに、ウイルス感染複製細胞においては脂肪滴が増えて、その脂肪滴を利用しウイルスが複製することを本研究者は世界に先駆けて見出ししているために、ウイルス複製と脂肪代謝の関連を明らかにして、その知見を病気発症予防に役立てることを目的とした。

#### 3. 研究の方法

感染性 HCV ゲノムが複製する細胞を用いて、ウイルス複製により変化を受ける細胞要因を明らかにする。とくに、これまでに明らかにしてきた HCV 感染による脂肪代謝の変化が、ウイルス複製とどのような関連があるのかを、阻害剤などを用いて別の角度から解析する。また、ウイルス感染細胞の各種遺伝子をノックダウンしそれらの細胞からのウイルス産生を指標にして、ウイルス産生に重要な宿主因子を明らかにする。この方法を特に脂肪代謝に関与する遺伝子について解析する。

#### 4. 研究成果

感染性 HCV の産生が脂肪輸送に関与する宿主因子により制御されているか否かを調べるために、まず、HCV 感染増殖細胞、HuH7 細胞からの脂肪成分の細胞外への放出を調べた。肝臓細胞からの脂肪成分の放出は主として very low density lipoprotein (VLDL) が関与するといわれているので、HuH7 細胞からの VLDL の放出を調べた。細胞を無血清培地で培養した上清を native gel 電気泳動し、VLDL 抗体で反応させると、複数のバンドが検出された。それらのうちアポリポ蛋白質 B とも反応するバンドを VLDL 様因子として解析

を進めた。

VLDL の産生には宿主の microsomal triglyceride transfer protein (MTP) が重要な働きをする事が知られている。すなわち、triglyceride が少ない環境では、翻訳されるアポリポ蛋白質 B100 があっても、MTP の働きにより分解され、VLDL の細胞外放出は起こらない。このように、MTP は細胞内の脂肪成分の量に応じて VLDL の細胞外への放出を制御する重要な因子である。HCV 感染が MTP の機能を制御しているかを調べたところ、感染前の細胞に比べ感染細胞では MTP 活性が 8 割程度に低下した。既に MTP 活性は、HCV のコアあるいは NS5A が抑制するというこれまでの報告と一致するが、ウイルス感染放出系でも、同じ事が示されたといえる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)  
(全て査読有り)

- (1) Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, Shimotohno K Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a(\*).. J Hepatol. 50(3):453-460, 2009.
- (2) Aly HH, Shimotohno K, Hijikata M. 3D cultured immortalized human hepatocytes useful to develop drugs for blood-borne HCV. Biochem Biophys Res Commun. 379(2):330-334, 2009.
- (3) Isono O, Ohshima T, Saeki Y, Matsumoto J, Hijikata M, Tanaka K, Shimotohno K. Human T-cell leukemia virus type 1 HBZ protein bypasses the targeting function of ubiquitination. J Biol Chem. 283(49):34273-34282, 2008.
- (4) Zhang J, Yamada O, Kawagishi K, Araki H, Yamaoka S, Hattori T, Shimotohno K.

Human T-cell leukemia virus type 1 Tax modulates interferon- $\alpha$  signal transduction through competitive usage of the coactivator CBP/p300. *Virology*. 379(2):306-313, 2008.

- (5) Ikejiri M, Ohshima T, Fukushima A, Shimotohno K, Maruyama T. Synthesis and evaluation of 5'-modified 2'-deoxyadenosine analogues as anti-hepatitis C virus agents. *Bioorg Med Chem Lett*. 18(16):4638-4641, 2008.

[学会発表] (計1件)

1. Sugiyama K. and Shimotohno K. et al., Genetic analysis of HCV with defective genome and its infectivity in vitro. The 16<sup>th</sup> Int. Symp. On HCV and related viruses. Oct.3-7,2009, Nice, France

[図書] (計1件)

- 下遠野 邦忠 「HCV複製のメカニズム」  
*Medical Practice* (文光社) 27: 107-109,  
2010

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

下遠野 邦忠 (SHIMOTOHNO KUNITADA)  
千葉工業大学 附属総合研究所 教授  
研究者番号: 10000259