

総説

C型肝炎ウイルスの増殖と病原性発現に関与する宿主因子

松浦 善治 (大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野)

Matsuura, Y. (2014) Host factors involved in propagation and pathogenesis of hepatitis C virus

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 64, 9-13.

キーワード：HCV、複製、宿主因子、病原性

要約

C型肝炎ウイルス (HCV) の感染者は、日本で200万人、全世界で2億人と推定されている。HCVは血液や血液製剤を介して感染し、10~30年の長期に渡って持続感染し、脂肪肝や肝硬変を経て肝細胞癌を発症する。ウイルスRNAが自立増殖するレプリコン細胞や培養細胞で増殖可能な実験室株が開発され、ウイルスの感染増殖機構の解析も進展したが、HCVの病原性発現機構は未だ明らかにされていない。本稿では、HCVの増殖や病原性発現に関連する宿主因子を紹介する。

はじめに

1989年に米国カイロン社の研究グループは、非A非B型肝炎患者の血清から新しいウイルス遺伝子を単離し、この遺伝子が非A非B型肝炎ウイルスに由来することを証明し、C型肝炎ウイルス (HCV) と命名した。その後、精度の高い抗HCV抗体のスクリーニング系が確立され、輸血によるC型肝炎は激減した。HCVに感染すると高率に慢性化し、脂肪肝や肝硬変を経て最終的には肝細胞癌を高率に発症する。現在、有効な治療薬が開発され、8割以上の患者からウイルスを排除できるようになってきた。また、遺伝子型2aのウイルス株 (JFH1株) を培養細胞で増殖させる技術が確立されたが、薬剤に抵抗性を示し、臨床現場で問題となっている遺伝子型のHCVの培養系は未だ確立されていない。また、ヒト以外にHCVに感受性を示すチンパンジーを感染実験に供することは倫理的に難しく、HCV感染による病原性の発現機構は未だ多くの謎に包まれたままである。

ウイルス蛋白質の構造と機能 (図1)

フラビウイルス科ヘパシウイルス属に分類されるHCVは、メッセンジャーRNA (mRNA) として機能

できる (プラス鎖) 一本鎖RNAをゲノムとしている。ウイルスRNAを包含したコア蛋白質から構成される正二十面体のヌクレオキャプシドを、宿主細胞由来の脂質二重膜が取り囲み、その表面にはE1とE2の2つのスパイク蛋白質が存在する。ウイルスゲノムは、一つの巨大な蛋白質のコード領域と、5'と3'の両末端に存在する非翻訳領域 (UTR) で構成されている (図1A)。ゲノムRNAの5' UTRにあるIRES (Internal ribosome entry site) を介して、キャップ非依存的に翻訳された3000アミノ酸の前駆体蛋白質は、宿主およびウイルスのプロテアーゼによって切断され、10個のウイルス蛋白質が生成される (図1B)。この前駆体蛋白質のアミノ末端領域にはウイルス粒子を構成するコア蛋白質とE1およびE2蛋白質が、残りの領域にはウイルス粒子には取り込まれない非構造蛋白質 (Non-structural protein, NS) が存在する。NS2およびNS3は前駆体蛋白質を切断するプロテアーゼとして機能し、NS3はヘリカーゼとしての機能も併せ持つ。NS5Aは免疫回避、ウイルス複製、そして、ウイルス粒子形成に関与しており、それに続くNS5Bはウイルスの複製に必須なRNA依存性RNAポリメラーゼとして機能する²⁾。

HCVの生活環 (図2)

HCV粒子は細胞表面の糖鎖認識分子に捕捉され、エンベロープ蛋白質を介して感染受容体と結合し、エンドサイトーシスによってエンドソーム内に取り込まれる。受容体候補分子として、CD81、SR-BI、Claudin-1 (CLDN-1)、そしてOccludin (OCLN) などが報告されており、HCVはCD81やSR-BIに結合後、CLDN-1とOCLN結合して細胞内へ取り込まれると考えられている。エンドソーム内の酸性環境によって構造変化をきたしたエンベロープ蛋白質の膜融合活性によって、ウイルス膜とエンドソーム膜が融合し、ヌクレオキャプシドが細胞質へ放出される。IRES依存的に翻訳さ

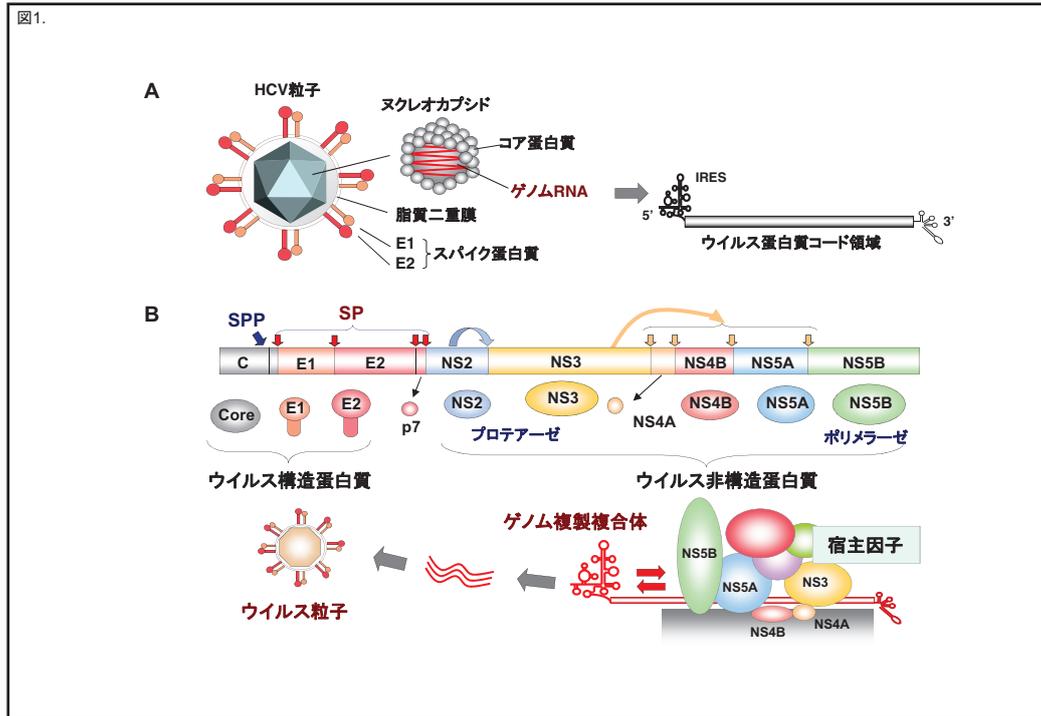


図1. HCVの構造とウイルス蛋白質

(A) HCV粒子と遺伝子構造。HCV粒子は近縁ウイルスの構造解析の成績から推測して、正二十面体のヌクレオキャプシドをE1とE2の2つのスパイク蛋白質と宿主由来の脂質二重膜が被っているものと想像される。HCVが感受性細胞に感染し、細胞質で脱殻したウイルスRNAから一本の前駆蛋白質が翻訳される。

(B) 前駆蛋白質は宿主およびウイルス由来のプロテアーゼによってプロセスされ、各ウイルス蛋白質が生成される。コア蛋白質と二つのスパイク蛋白質はウイルスRNAとともにウイルス粒子を構成し、非構造蛋白質は宿主因子をともなって複製複合体を形成してゲノムの複製を司る。NS3はコファクターであるNS4Aとともにセリンプロテアーゼとしてウイルス前駆蛋白質のプロセッシングを行う。NS5BはRNA依存性RNAポリメラーゼとして機能する。リン酸化蛋白質NS5Aは様々な宿主蛋白質との相互作用が報告されている。

れた前駆体蛋白質のN末端側に存在する構造蛋白質は、宿主由来プロテアーゼによって切断される。コア蛋白質はシグナルペプチダーゼ (SP) によってE1から切り離された後、C末端の膜貫通領域内でさらに、シグナルペプチドペプチダーゼ (SPP) によって切断されて成熟し、多くは界面活性剤耐性膜画分 (DRM) に局在する。SPPで切断されない変異コア蛋白質はDRMに局在できず、ウイルス粒子も産生されない。また、成熟コア蛋白質の一部は脂肪滴、ミトコンドリア、そして、核にも移行する。非構造蛋白質は小胞体膜に特異な膜様構造体を形成し、陥没した膜内腔でゲノムRNAが複製されると考えられている。複製したウイルスRNAはNS5Aを介してコア蛋白質と会合し、ヌクレオキャプシドが形成されると思われる。また、コア蛋白質が脂肪滴やDRMに局在することがウイルス粒子の産生に関与すると考えられている。E1とE2蛋白質はヘテロダイマーを形成し、さらに、E1の細胞

質領域にヌクレオキャプシドが結合して集合したウイルス粒子は小胞体内腔に芽出し、ゴルジ体を経て細胞外へ放出されると考えられる⁴⁾。

HCVの病原性発現機構 (図3)

我が国における癌死の中で、肝癌は男性で第3位、女性で第5位に位置し、その約8割がHCVの感染に起因する。HCVに感染すると高率に慢性化し、脂肪肝を経て肝硬変・肝細胞癌へと移行する。HCVの持続感染による慢性肝炎が、肝癌発症の原因の一つと考えられているが、激しい慢性肝炎像を呈する自己免疫性肝炎による肝発癌は希である。したがって、慢性的な炎症によって繰り返される細胞死と再生による遺伝子異常の蓄積だけではなく、HCVの構成因子が肝発癌に直接関与しているものと推測されている。東大の小池らが作出した、HCV蛋白質を発現するトランスジェニックマウスの成績から、コア蛋白質の発現がHCV感

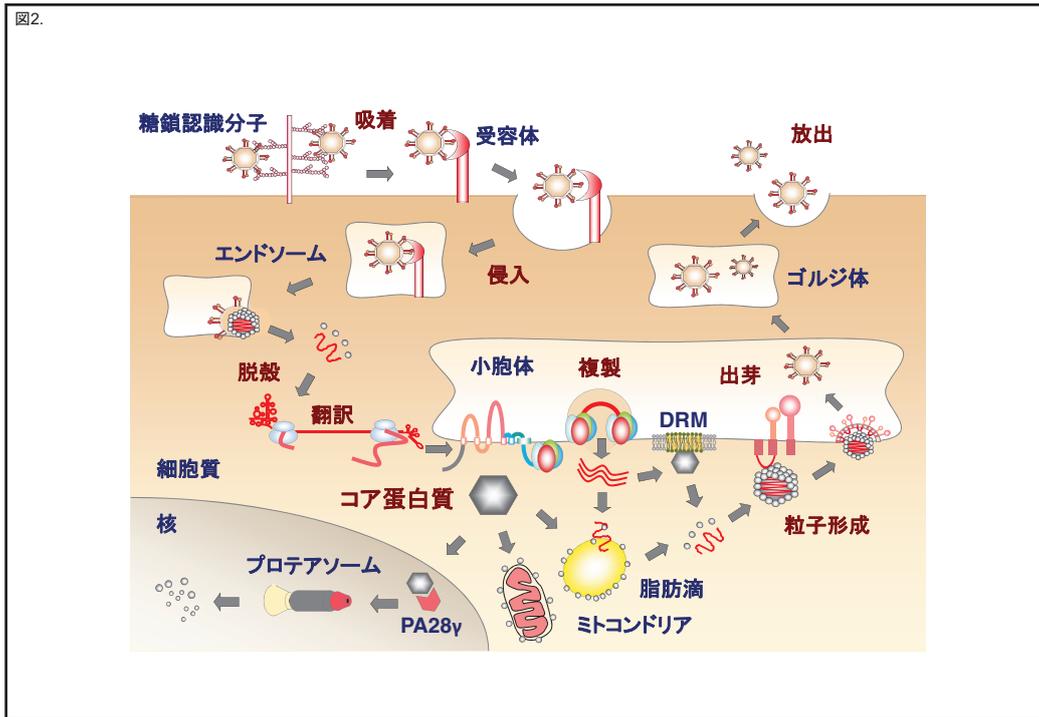


図2. HCVの生活環

HCVは細胞表面のヘパリンやヘパラン硫酸等の糖鎖認識分子によって捕捉・濃縮され、親和性の高い受容体と結合し、エンドサイトーシスによってエンドソームに取り込まれる。エンドソーム内の低pH環境下でエンベロープ蛋白質の構造が変化し、細胞膜とウイルス膜が融合して、ウイルスのヌcleoキャプシドが細胞質へ放出される。ウイルス遺伝子はmRNAとして働いて前駆体蛋白質が翻訳され、各ウイルス蛋白質に切断される。ウイルスの非構造蛋白質は宿主因子と共に複製複合体を構成し、ウイルスゲノムを複製する。成熟コア蛋白質の一部は、脂肪滴や界面活性剤耐性膜(DRM)に局在する。HCVの出芽部位は明らかになっていないが、ウイルス粒子の膜成分にDRMの構成成分であるコレステロールが多く含まれることから、ウイルスはDRMから出芽するものと推測される。また、脂肪滴が粒子形成にも関与していると考えられている。複製したウイルスRNAは成熟コア蛋白質と結合してヌcleoキャプシドを形成し、スパイク蛋白質と会合してウイルス粒子を形成し、小胞体内腔へ出芽するものと考えられる。出芽したウイルスはゴルジ装置を通り、細胞外へ放出される。また、一部の成熟コア蛋白質は核へ移行し、核内プロテアソームの活性化因子であるPA28γと相互作用することにより、肝細胞の脂肪化や腫瘍化の病原性因子として機能する。

染による肝脂肪化と肝細胞癌の発症に関与していると考えられている⁵⁾。脂肪酸や中性脂肪は脂肪滴の構成因子であり、脂肪滴の蓄積が脂肪肝の原因である。コア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスは高率に脂肪肝を発症し、16ヶ月齢以降になると肝細胞癌が認められる。これまでに我々は、コア蛋白質が核内のプロテアソーム活性化因子PA28γに結合して分解されることが、脂肪酸合成酵素などの遺伝子発現を亢進させ、さらに、PA28γ遺伝子の欠損によってコア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスにおける肝細胞癌発症が消失することを報告している³⁾。さらに、PA28γ遺伝子の発現を抑制すると、HCVの粒子産生が低下する。以上の成績から、PA28γはHCVの粒子産生だけでなく、コア蛋白質による病原性発現にも関

与することが明らかとなった。

HCVの組織指向性を規定する宿主因子(図4)

一般的にウイルスの組織指向性は感染受容体の発現によって規定されることが多い。しかしながら、上記のHCV受容体候補分子は多くの臓器で発現しており、様々な非肝臓細胞株にもHCVは侵入できることから、HCVの臓器特異性を規定しているのは受容体だけではないと考えられる。最近、iPS細胞から肝細胞への分化の各段階でHCVの感受性が検討され、細胞内への侵入は未分化な段階から可能であったのに対し、HCVゲノムの複製と粒子産生は肝細胞への分化が起きた段階で起こり始め、miR-122の発現量と相関していることが示された。miR-122は肝臓特異的に発現しており、

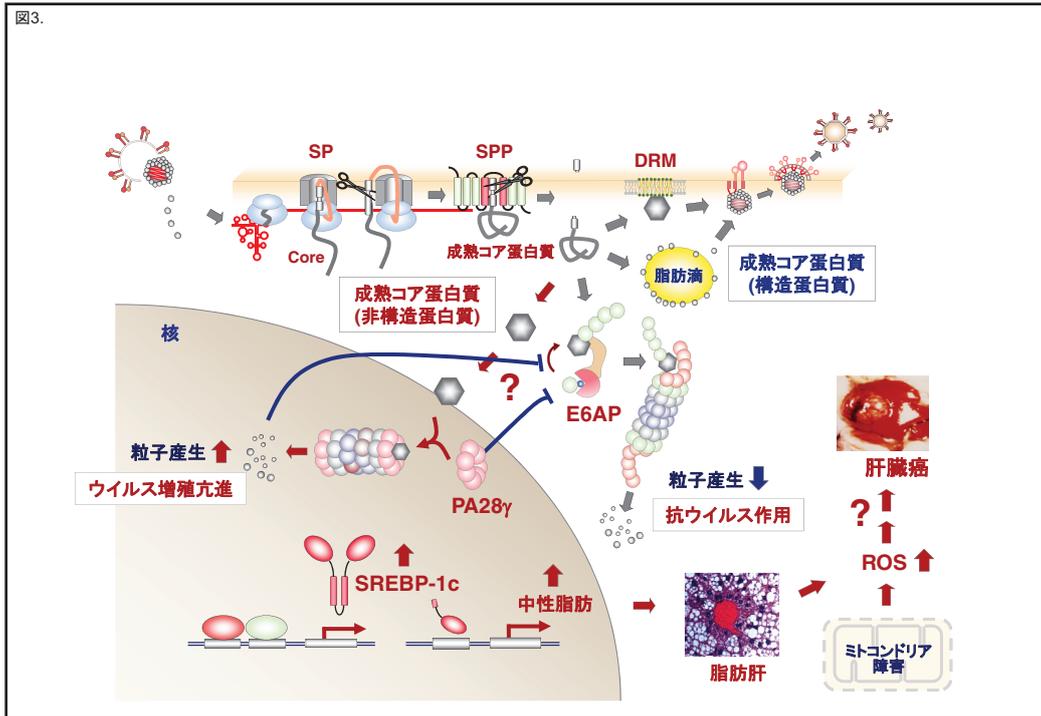


図3. HCV コア蛋白質と PA28 γ の相互作用は粒子産生と病原性発現に関する
HCV コア蛋白質と PA28 γ の核内での相互作用は、脂質合成酵素の転写因子である SREBP-1c、TNF α 、そして酸化ストレス (ROS) の発現を亢進させることによって、コア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスで観察される、インスリン抵抗性、脂肪肝、そして肝細胞癌の発症に極めて重要な役割を演じていると推測される。一方、ウイルス粒子産生に利用されるコア蛋白質の一部は、細胞質でユビキチンライゲースの E6AP によってユビキチンが付加されて分解される。

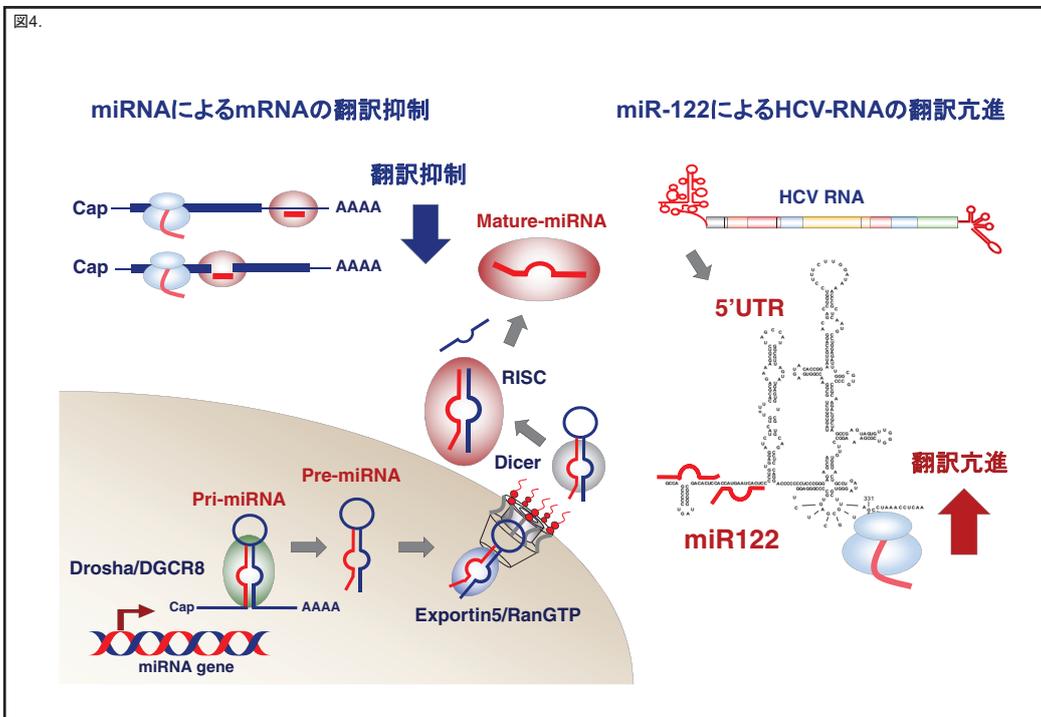


図4. miR-122による HCV-RNA の翻訳亢進
microRNA は核内で転写され、核外へ輸送されて RNA 誘導型サイレンシング複合体 (RISC) に取り込まれる。ほとんどの microRNA は標的の mRNA の 3' UTR に結合し、あるいは、mRNA を切断することで翻訳を抑制する。肝臓特異的な miR-122は、HCV ゲノムの 5' UTR に 2 分子結合してウイルスゲノムの翻訳を亢進する。しかしながら、HCV の感染環における miR-122の生物学的意義を明らかにするにはさらなる詳細な解析が必要である。

HCV の肝臓特異性の主要な決定因子である可能性が高い。また、VLDL (Very Low-Density Lipoprotein) 関連蛋白質である ApoB (Apolipoprotein B)、ApoE、そして MTTP (Microsomal Triglyceride Transfer Protein) は粒子産生に重要であり、これらも肝細胞で高発現していることから、肝臓特異性の決定に関与していると考えられる。miR-122は肝細胞の全 microRNA の7割を占め、血液中の総コレステロール量、肝臓の脂質代謝や鉄代謝能等が miR-122の組織中の発現量と相関することが報告されている。一般的に microRNA は mRNA の翻訳を抑制するが、miR-122は HCVの5' UTRと架橋を作るように2ヶ所で結合して、翻訳を亢進させていることが明らかにされた。しかしながら、HCV の感染環における miR-122の生物学的意義を明らかにするにはさらなる詳細な解析が必要である。miR-122を強制発現させて樹立した肝臓系および非肝臓系の細胞株で HCV の粒子産生を評価したところ、興味深いことに粒子産生は肝臓系の細胞でのみ観察され、受容体を発現している非肝臓系細胞に miR-122を発現させても、培養上清中には全く感染性粒子が検出されなかった¹⁾。

終わりに

ウイルス側と宿主側の要因が複雑に絡み合い、肝臓の発症までに長い年月がかかるC型肝炎の病原性に関しては不明な点が数多く残されている。また、ウイルス複製に関与する宿主因子の分子機能についても、不明な点が数多く残されており、今後の研究の進展を期待したい。

引用論文

- 1) 福原崇介ら (2012) miR-122はC型肝炎ウイルスの細胞指向性に関与する. ウイルス, 62: 1-8.
- 2) Moriishi K, et al. (2007) Host factors involved in the replication of hepatitis C virus. Rev Med Virol, 17: 343-354.
- 3) Moriishi K, et al. (2007) Critical role of PA28 gamma in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis. Proc Natl Acad Sci USA, 104: 1661-1666.
- 4) Moriishi K, et al. (2014) Exploitation of lipid components by viral and host proteins for hepatitis C virus infection. Front Microbiol, 3: 54, doi: 10.3389/fmicb.2012.00054.
- 5) Moriya K, et al. (1998) The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. Nat Med, 4: 1065-1067.