

[別紙 2]

## 審査の結果の要旨

氏名 吉田英雄

本研究は C 型肝炎ウイルス (HCV) の産生する core 蛋白が、炎症や細胞の分化、増殖、アポトーシスに關与する NF- $\kappa$ B pathway に与える影響と、その機序について解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. Transient に core 蛋白を細胞内に発現させる系と共に、テトラサイクリンにて inducible に core 蛋白を発現する細胞を構築した。
2. HCV core 蛋白が NF- $\kappa$ B pathway を活性化することをレポーターアッセイと、ゲルシフトアッセイの両者で確認した。Core 蛋白を同一のクローンをもつ細胞内で inducible に発現した際の結果から、既報の相反する結果に対する一つの解答を与えた。
3. この活性化は $\kappa$ B bind siteをもつ IL-8 promoter-luc をレポーターとしたレポーターアッセイでもその特異性を含め確認された。
4. この活性化には core 蛋白の C 端の 18 アミノ酸および N 端の 91 アミノ酸が必要なことが、core 蛋白の deletion mutant を用いた実験にて確かめられた。
5. Pathway 上の TRAF, IKK の dominant negative, IKK の特異的阻害剤を用いた実験にて、活性化が TNF- $\alpha$  による NF- $\kappa$ B pathway 活性化に類似しており、IKK では、主に  $\alpha$  より  $\beta$  を介して、また、TRAF2 を主に介して活性化することを確認した。
6. IL-1 $\beta$  からの pathway 活性化の経路の合流点の 1 ステップ前の TAK1 の dominant negative form は、core による NF- $\kappa$ B の活性化を抑制しなかった。

以上、本論文は HCV core 蛋白の NF- $\kappa$ B pathway に与える影響について既報の問題点を解決し、結論を与えた点で、学位の授与に値すると考えられる。

尚、審査会時点から、論文の内容中、以下の点が改訂された。

1. TNF $\alpha$ による活性化状態で core を発現させた際のレポーターアッセイの結果を加えた。
2. EMSA の結果に super shift の確認実験の結果を加えた。
3. Core deletion mutant の局在の確認のための免疫染色実験において、Core92-191 の染色結果を加えた上で各写真にスケールを示した。
4. 各レポーターアッセイの結果を示すグラフに有意差検定の結果を示した。
5. Core deletion mutant, dominant negative IKK & TRAF を用いたレポーターアッセイにおいて、core 蛋白の発現レベルを western blot.の結果として示した。
6. 「PI3K 特異的阻害剤 (Wortmannin) を用いた pathway の解析」及び背景、方法、考察における関連する事項を削除した。