

審査の結果の要旨

氏名 村上 恭子

C型肝炎ウイルス（HCV）は持続感染し、宿主であるヒトを慢性肝炎、肝硬変を経て、高率に肝細胞癌に至らしめる病原体である。HCV のウイルス複製過程は培養細胞でのウイルス複製系が樹立されていないため、未だ不明な点が多い。HCV は一本鎖プラス鎖 RNA ウイルスであり、ウイルス蛋白の翻訳開始は HCV の 5'領域に存在する Internal ribosomal entry site (IRES) に依存している。

本研究は、HCV 複製の最初の段階である HCV IRES 依存的翻訳の制御機構を明らかにすることを目的としている。HCV RNA の 3'末端に存在する二つの構造、poly(U/C) tract 及び 3'X に主に着目し、HCV MA (genotype 2b) の全長 RNA より塩基番号 1286 から 8785 領域を欠損させた欠損変異 RNA を用いて HCV IRES 依存的翻訳効率の変化を無細胞蛋白合成系にて検討し、下記の結果を得ている。

1. 3'X 欠損による翻訳効率への影響

HCV RNA 3'末端に存在する 3'X 領域の欠損により、HCV IRES 依存的翻訳効率は減少した。翻訳効率の減少は 3'X 領域の欠損により RNA が不安定になった結果であった。また、RNA 安定性の変化は翻訳反応時、翻訳反応阻害時どちらの場合においても観察された。安定した二次構造を形成することが予測されている 3'X 構造が 3'-5'exonuclease 等による RNA 分解から HCV RNA を保護している可能性が考えられた。

2. Poly(U/C) tract による翻訳効率への影響

HCV RNA 特異的構造である poly(U/C) tract の欠損により、HCV IRES 依存的翻訳効率は増加した。RNA 安定性の変化は観察されなかった。この領域の 3'末端側 7 塩基は 3'X 領域の 5'側に位置する SL3 構造とともに宿主因子である polypyrimidine tract binding protein (PTB) の結合に関与していることが知られている。その為、poly(U/C) tract の欠損による翻訳効率の変化に

PTB の関与が考えられた。しかし、3'末端への PTB 結合に必要な poly(U/C)tract 3'末端側 7 塩基領域をのこした変異 RNA でも翻訳効率は増加したことなどから、HCV 3'末端への PTB の結合が poly(U/C)tract による翻訳抑制で主要な役割を果たしている可能性は低いことが示唆された。

3. PTB による翻訳効率への影響

PTB を加えると HCV RNA 3'末端の PTB 結合部位の存在如何に関わらず、翻訳効率が抑制されることが実験過程において明らかになった。そこでさらに短い欠損変異 RNA を用いて PTB による翻訳効率への影響を検討したところ、翻訳領域内にその作用部位があることが示された。UV クロスリンク法により HCV RNA の翻訳領域である HCV MA の塩基番号 1171 から 1285 領域、及び塩基番号 8786 から 8928 領域に PTB 結合部位が存在することが示唆された。

以上、本論文は HCV RNA 3'末端の HCV IRES 依存的翻訳に及ぼす作用と RNA 安定性への影響、及び PTB の HCV IRES 依存的翻訳に及ぼす作用を明らかにした。本研究は無細胞蛋白合成系をもちいた検討であり、培養細胞系での検討は必要であるが、未だ不明な点が多い HCV 複製制御機構の今後の解析に貢献しうると考えられ、学位の授与に値するものと思われる。