

審査の結果の要旨

氏名 礒山 毅

本論文は、C型肝炎ウイルス（HCV）のコア蛋白質が核内に輸送されるメカニズムを酵母をモデル系に使用して明らかにし、さらにHCVのコア蛋白質により影響を受ける細胞の核—細胞質間輸送系を解析したものである。HCVは肝硬変や肝細胞癌の主要な病因である。HCVのコア蛋白質は、ウイルス粒子構成成分であり、N末端側に核移行シグナル（NLS）様配列を持つ。全長のコア蛋白質（p21）の他、シグナルペプチダーゼによりC末端側を欠失したp19、およびp16の存在が知られている。p21とp19は細胞質と核内の両方に存在し、p16は核内に局在化することが明らかとなっている。HCVコア蛋白質の核内輸送メカニズムを解析することを第一の目的とした。

本論文では、遺伝的解析が容易な酵母を使用することとした。まず、酵母細胞内におけるHCVコア蛋白質の細胞内分布を調べた。その結果、p21, p19, p16は動物細胞内における分布と同様であり、酵母が良いモデル系となることを示した。次に酵母の各種変異株を使用することにより、p16の核内輸送は、低分子量GTPaseであるRan依存的な能動輸送であること、さらにこの核内輸送受容体として働いているのはKap123pであることを明らかにした。

第二の目的として、HCVコア蛋白質が細胞側蛋白質の核—細胞質間輸送系に与える影響を解析するため、核—細胞質間輸送されることで良く知られる出芽酵母のAP-1様転写因子であるYap1pをターゲット分子とした。Yap1p

は N 末端側の NLS により細胞質から核へ、C 末端側の核移行シグナル (NES) により核から細胞質へと移行しており、酸化ストレスにより核外輸送が特異的に阻害されることで核局在化し、標的遺伝子の転写を活性化することが明らかとなっている。そこで、Yap1p の転写活性および細胞内分布を指標として Yap1p の核—細胞質間輸送に対する HCV コア蛋白質の影響を検討した。いずれの指標を用いた実験も、HCV コア蛋白質が Yap1p の核内輸送を阻害しているとの結果を得た。HCV コア蛋白質による核内輸送阻害現象は SV40 T 抗原 NLS による核内輸送への影響は微弱であることから、阻害の特異性が考えられた。

Yap1p の核内輸送も Ran 依存的能動輸送である。酵母の変異株を使用した実験により、Yap1p の核内輸送受容体は Pse1p であることを同定した。Pse1p は Kap123p と相同性が比較的高い。以上の結果は、HCV コア蛋白質と Yap1p とは異なる核内輸送受容体を利用しているが、HCV コア蛋白質は、Yap1p とその受容体 Pse1p の結合を阻害している可能性を示すものである。実際に試験管内での結合実験を行ったところ、Yap1p は Pse1p と結合し、その結合は、HCV コア蛋白質添加により濃度依存的に阻害されることを明らかにした。

以上のことから、HCV コア蛋白質は動物細胞内でも、同様のメカニズムで核内輸送され、転写因子等を含む細胞側分子群の核—細胞質間輸送に影響を与えている可能性が示された。本論文は、ウイルス特異的蛋白質による細胞機能への影響に関し、重要な知見を与えるものであり。博士 (薬学) 号の授与に値すると判定した。