

本研究はC型肝炎ウイルス(HCV)の生活環において中心的な役割を担うHCV NS5A蛋白質と、ウイルス複製から粒子形成の場となっている細胞内膜構造に注目し、NS5A蛋白質と相互作用して膜画分に分布する宿主因子を同定・検討することで、HCV増殖メカニズムの解析を試みたもので、以下の結果を得ている。

1. エピトープタグを付加したNS5A蛋白質を高発現する細胞の膜画分を用いて、プルダウン法によりNS5Aと特異的に共沈する宿主因子を検索し、HCV cell culture system およびHCV replicon system を用いてRNA interference スクリーニングを行ったところ、HCV増殖の前期過程(蛋白翻訳からRNA複製の過程)に関与する宿主因子としてELAVL1が同定された。
2. ELAVL1特異抗体によるimmunodepletionを用いたcell-free translation assay およびJFH-1の全長RNAを使用したcell-based translation assayの結果、ELAVL1がHCV蛋白翻訳に関与することが示された。
3. またmembrane flotation assayによりELAVL1がHCVのreplication complexに含まれることが明らかとなり、ELAVL1特異抗体によりcell-free replicationが阻害されたことから、ELAVL1がHCV RNA複製にも関与することが確認された。
4. Co-immunoprecipitation assay、IP-RT-PCR assay、RNA pulldown assayの結果、ELAVL1はNS5A以外にNS3およびHCV RNAとも相互作用することが示され、NS5Aとの相互作用にはhinge regionが、NS3との相互作用にはRRM2領域が、HCV RNAとの相互作用にはRRM1領域が重要であることが明らかとなった。
5. ELAVL1欠失変異を用いたbicistronic replicon systemでの解析から、HCV蛋白翻訳にはELAVL1とHCV RNAとの相互作用が、HCV RNA複製にはELAVL1とNS5A・NS3・HCV RNAとの相互作用が重要であることが明らかとなった。
6. さらにELAVL1欠失変異体を用いたmembrane flotation assayによる解析の結果、ELAVL1とNS5Aとの相互作用を阻害すると、ELAVL1はreplication complexに誘導されず、NS3およびHCV RNAのreplication complexへの分布

も阻害されたことから、ELAVL1 は HCV RNA 上での安定した replication complex の維持に関与していることが明らかとなった。

以上、本論文は NS5A と結合して膜画分に分布する宿主因子の解析から、新たに、HCV 増殖に関与する宿主因子として ELAVL1 を同定し、その作用機序を明らかにした。本研究は HCV 増殖メカニズムに新たな知見を与えるとともに、細胞毒性の少ない ELAVL1 阻害剤の報告があることから、新規治療薬開発への応用の可能性も有するものであり、学位授与に相当するものと考えられる。