慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	C型肝炎ウイルス感染に関連する肝疾患の予防に向けて
Sub Title	
Author	下遠野, 邦忠(Shimotono, Kunitada)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.4 (2007. 12) ,p.217- 225
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	綜説
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20071200-0217

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

慶應医学・84(4)：217～225，2007

綜　説

C型肝炎ウイルス感染に関連する肝疾患の予防に向けて

慶應義塾大学医学部　総合医科学研究センター
下遠野 邦忠（しもとおの くにただ）

Key Words：chronic hepatitis, hepatitis C virus, viral genome, hepatocellular carcinoma, cyclosporin, lipid droplet

はじめに

C型肝炎ウイルス（HCV）は慢性肝炎，肝硬変および肝がん発症の原因ウイルスである．感染者は肝疾患以外に自己免疫病発症の割合も高いという報告もある．我が国では感染者が人口の約1.5%，WHOの推計によると全世界の人口の約3%が感染している．慢性C型肝炎患者に対するインターフェロンとリバビリンの併用療法により治療を受けた患者の約半数でウイルスが排除されており，肝疾患からも解放されている．従ってHCV感染は薬で排除が可能になってきている．HCV感染による肝臓がんの犠牲者は，我が国の場合，全がんの約1割に達する．その中でHCV感染が8割に達する．HCVを排除する事ができるようになれば，がんの1割を削減することができるので社会に与える影響は極めて大きい．本総説では主にHCVの生活環を述べ，肝疾患との関連性，および抗HCV剤開発にむけた最近の知見を紹介したい．

非A非B肝炎ウイルス時代から C型肝炎ウイルスの発見まで

1970年代の後半ごろにはHBVやHAV以外の因子による輸血後慢性肝炎の存在が明らかになり，その因子を非A非B型慢性肝炎ウイルス（Non-A, non-B chronic hepatitis virus）と呼び，研究が行われるようになった．輸血後慢性肝炎患者血液を投与されたチンパンジーで慢性肝炎と似た症状を呈すること[1]，ウイルス粒子を透過するフィルターを通した血清でもチンパンジーに感染し似た症状を呈することからウイルス性因子であると推定された．この因子はクロロフォルム処理で失活すること[2]などに加え，その他の実験結果からRNAウイルスの一種でフラビウイルス科に属すると考えられた．本ウイルスの遺伝子断片が1989年に見いだされC型肝炎ウイルス（Hepatitis C Virus: HCV）と呼ばれるようになった[3]．その遺伝子を酵母で発現させた蛋白質を抗原として調べると，輸血後非A非B型慢性肝炎患者血清が高い割合（75%以上）でHCVタンパク質に反応することが明らかになった[4]．また，非A非B型慢性肝炎に由来する肝がん患者でもほぼ同じような高い値を示したことから，非A非B型慢性肝炎を発症するウイルスの多くはHCVであることが判明した．非A非B型慢性肝炎ウイルスという名前は，その名の通りA型肝炎ウイルスでなくB型肝炎ウイルスでもない新たなウイルスとして定義されていたために，当初はその因子が1種類なのか複数種あるのかさえも不明であった．しかし，HCV抗体が輸血後非A非B型慢性肝炎，あるいは非A非B型慢性肝炎由来肝がん患者の多くに検出されることから，輸血後非A非B型慢性肝炎ウイルスはHCVとほぼ同義語である，と考えられる位にまでになっている（肝炎ウイルスは6種類知られている．それらの中で慢性肝炎，肝がんの発症と関連する可能性のあるものとしてB型肝炎ウイルス（Hepatitis B Virus: HBV），D型肝炎ウイルス（Hepatitis delta Virus: HDV）が既に知られている．1990年代になって新たに発見されたG型肝炎ウイルス（Hepatitis G Virus: HGV）も肝炎発症と関連すると考えられたが[5]現在では関連性が低いと考えられる）．

C型慢性肝炎の患者には，インターフェロンを中心にした治療が広く行われるようになった．最近ではインターフェロンとリバビリンの併用療法が主流になっている．興味深いことにHCVが発見される前にすでに非A非

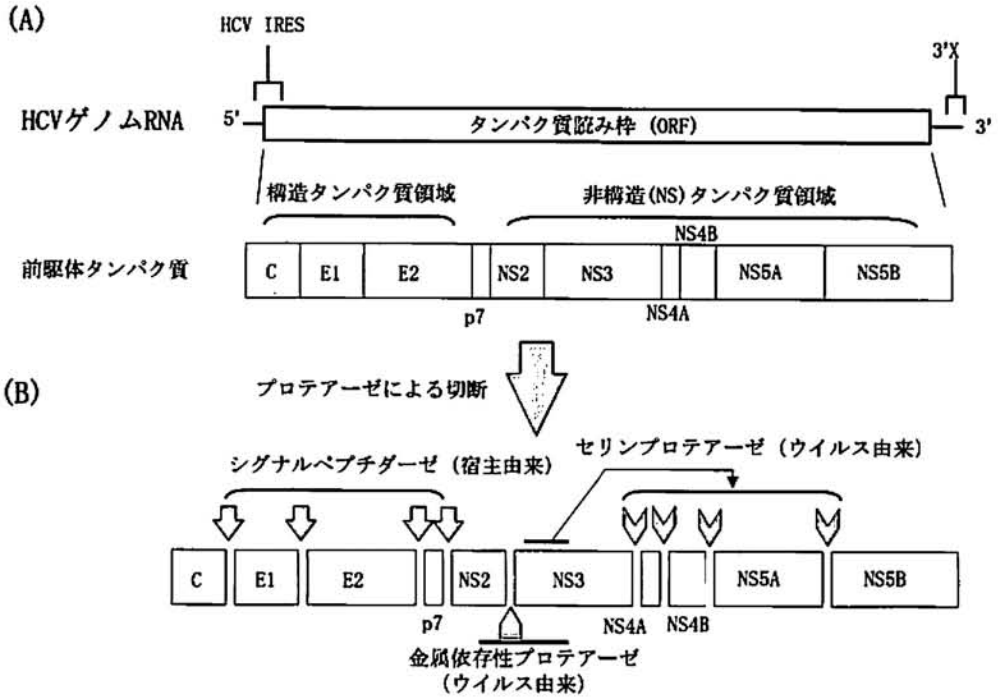


図1　(A) HCVのゲノムとコードされる前駆体タンパク質．HCV1b型のHCV RNAゲノムとそこにコードされる前駆体ポリタンパク質の構造を示した．内部リボソーム挿入部位（IRES）は5′非翻訳領域，3′Xは3′非翻訳領域に存在しゲノムのシス因子として働く．前駆体ポリタンパク質のアミノ（NH2）末端側はウイルス粒子を構成する3種類の構造タンパク質（コア：C，エンベロープ1：E1，エンベロープ2：E2）から成る．カルボキシ（COOH）末端側にはウイルス遺伝子複製に機能する非構造（nonstructural: NS）タンパク質群（NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B）がコードされている．(B) 前駆体ポリプロテインはプロテアーゼにより切断を受けて個々のウイルスタンパク質になる．宿主細胞小胞体のシグナルペプチダーゼによる切断部位，ウイルス由来の金属依存性プロテアーゼとセリンプロテアーゼの領域と切断部位をそれぞれ示した．

B型慢性肝炎患者に対してインターフェロンが効果的であることが明らかにされていた[6]．

HCVの発見後は，インターフェロン投与による治療評価にウイルス（RNA）量を指標にした臨床研究が進み治療法も改善されてきた．しかし，HCVにインターフェロンが有効である事に対する精力的な研究は後に述べるHCVゲノムが自立的に複製可能な細胞（レプリコン細胞）が樹立されてからのことである．

リバビリンの抗ウイルス作用として，(1)免疫系に働きTh1を優位にする，(2)ウイルスポリメラーゼの活性を抑制する，(3)ウイルス核酸に取り込まれて変異率を上げる，(4)細胞内のGTPプールを下げる，等があるとされているが[7]，これらのうち，どの機構がC型慢性肝炎患者のHCV量を下げるのに作用しているかは，はっきりしていない．インターフェロン単独投与において，治療した患者の約30%近くがウイルスを完全に排除できているし，インターフェロンとリバビリンの併用療法においてはさらに高い割合（約50%）の患者でウイルス排除がみられる．今後HCVに対してこれらの薬剤がどのような機構で作用するかがはっきり分かれば，治療成績を格段に上げるための投与方法等が明らかにされると期待される．従って，HCVの増殖複製系の開発，それを用いた薬剤作用の評価は今後のHCVの基礎的な研究のみならず，HCV感染により苦しんでいる患者の救済のために極めて重要である．

HCVゲノムとウイルスタンパク質の発現

HCVのゲノム構造およびゲノムにコードされているタンパク質の産生機構の概略を図1に示した．

(1) HCVゲノムRNAの構造と機能

HCVのゲノムは長さ約9,500ヌクレオチドから成るプラス鎖RNAである．つまりHCVが宿主細胞に感染した後に，このゲノムはすぐに細胞質内でmRNAとして機能し，HCVタンパク質の産生がおこなわれる．ゲノム中には約9,000ヌクレオチドにわたる，最大のタンパク質読み枠（ORF: open reading frame）が存在

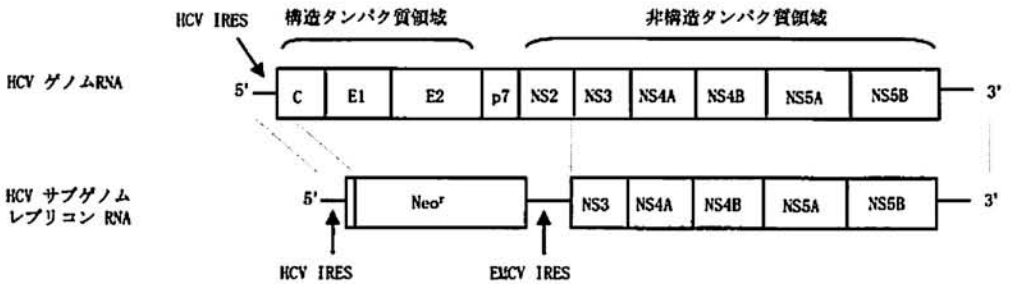


図2　自立複製可能なHCVレプリコンの構造．概略は分中に記載した．

しており，ウイルスタンパク質はすべてこの領域にコードされている[8]．そのORFの5′側に隣接して341ヌクレオチドからなる5′非翻訳領域があり，この部分にはRNAの複製に関わる領域とORFの翻訳開始に関わる領域（内部リボソーム挿入部位（Internal Ribosome Entry Site: IRES））が存在する[9]．ORFの3′側に存在する3′非翻訳領域はウリジン（U）に富む領域（ポリU領域）とその下流に塩基配列が保存された二次構造を持つ領域からなる．この保存されたRNA高次構造がゲノムの複製に必須であることが分っている[10]．

(2) HCVタンパク質のウイルス増殖に於ける機能

ウイルスタンパク質は全部で約10種類あり，そのうち3種類は粒子構成タンパク質（構造タンパク質），残りが感染細胞内でウイルスの複製に働く非構造タンパク質である．

構造タンパク質のひとつ，コアはRNAゲノムと会合してウイルス粒子に取り込み，ウイルス粒子の中心構造を形成すると考えられる．後で述べるが，コアは油滴と会合することにより，感染性ウイルス粒子の産生にも寄与している．また外膜タンパク質であるE1とE2は多量体を形成し，脂質膜で覆われたウイルス粒子の表面からスパイク状に突き出た形で存在すると考えられる．つまりE1とE2は宿主細胞の細胞膜表面に存在する受容体と結合することでHCVの感染ステップで機能すると考えられる．E2と結合する受容体の候補としてはCD 81，LDL（低比重（低密度）リポタンパク質 Low Density Lipoprotein）受容体，スカベンジャー受容体，L-SIGN/DC-SIGN受容体などの報告がなされているが，感染に関する詳細なメカニズムは明らかになっていない．ウイルスの粒子形成のためにイオンチャネルを形成するp7以外の非構造タンパク質の主たる役割はウイルスゲノムを複製する場（複製複合体[11]）を構築することである．

HCVゲノム自立複製細胞の樹立および感染性HCVゲノムの構築

HCVはヒト，チンパンジーに感染し増殖することが知られているものの，培養細胞を用いた感染系の確立は最近になるまで待たなければならなかった．1999年になりHCVゲノムが自立的に複製する培養細胞が樹立されたことにより，ゲノム複製の分子機構が解析出来るようになった．この系はウイルス粒子を産生できる系ではないので，感染からウイルスの放出までの全てを解析できるものではないが，ウイルスゲノム複製に分子生物学的な手法を導入できるようにした．一方，2006年になり，劇症肝炎患者から感染性を有するHCVゲノムが単離され，感染の初期から粒子の放出までを追跡が可能になった[12]．

(1) HCV遺伝子複製単位（レプリコン）の樹立

1999年にHCVのゲノムの一部分が自立複製し続ける培養細胞が樹立された[13]．C型肝炎患者から得たHCVゲノムをもとにして構築した複製単位（レプリコン）の構造を図2上に示す．このRNAから構造タンパク質をコードする一連の領域を除き，その代わりに抗生物質ネオマイシンを無毒化するために機能するアミノグリコシドリン酸基転移酵素（AGPT）遺伝子（Neo^r）に置き換え，さらにその下流に脳心筋炎ウイルス（encepharomyocarditis virus: EMCV）遺伝子に由来するIRESが挿入したのが図2下である．ウイルスタンパク質はEMCV IRESを用いて産生される．本レプリコンRNAを肝がん由来のHuH-7細胞に導入し，その中で効率良く自己複製すれば，ゲノムRNAから持続的に産生されるAGPTによって，その細胞はネオマイシン抵抗性を獲得できる．このようにして細胞の中で自己複製が可能なHCVゲノム（レプリコン）を維持する細胞が樹立された．この実験系から非構造タンパク質のう

ち，NS3からNS5Bまでのタンパク質があれば，効率の良いHCVゲノム自立複製がおこなわれることが示された．

(2) HCVレプリコン複製細胞実験系の進歩

これまでにいくつかのグループから同様なレプリコン細胞が樹立されている[11-17]．また最近ではAGPTの代わりにホタルルシフェラーゼの遺伝子を挿入し，一過性のRNA複製をルシフェラーゼ活性で検出する系も作成されている．その後，サブゲノムレプリコンに構造タンパク質領域を挿入した完全長からなるレプリコンRNAの自立複製細胞も樹立された[18]．しかしながら，この様な細胞からでも感染性ウイルス粒子の産生は見られなかったが，昨年になり劇症肝炎患者から単離したゲノムが感染性を示すことが明らかになった[12]．

HuH-7細胞以外にHepG2やHuH-6といったヒトの肝細胞由来の培養細胞や肝臓以外の組織に由来する，腎臓由来HEK293細胞，子宮頸部がん由来のHeLa細胞，マウスの肝がん由来細胞株Hepa1-6を用いた場合でも同様のレプリコン複製細胞が樹立できることが示された[19,20]．しかし，HuH-7以外の細胞では細胞内で維持されているレプリコンRNA量はHuH-7細胞に比較して著しく少ないことから，すべての細胞でHuH-7細胞と同様の効率で複製がおこなわれているわけではない．これらの結果は，HCV RNAゲノムの複製自身はヒトの肝細胞に特異的なものではないが，複製の効率は細胞の種類により大きな違いがあることを示している．

HCVレプリコン複製細胞を用いたHCV複製制御因子の解明

HCVレプリコン自立複製細胞系を用いて抗HCV剤の探索，あるいはウイルス複製を制御する細胞側因子の解析が可能である．また，これまでにHCVタンパク質が持つ酵素活性を指標にして得られているウイルス複製阻害候補因子の検証にも有用である．以下にウイルスゲノム複製を制御することが明らかになった細胞側因子の幾つかを紹介する．

(1) 膜タンパクあるいはコレステロール代謝の制御に関連するHCV複製制御因子

レプリコン複製細胞の膜画分を調製し，ショ糖密度勾配を用いた超遠心法によって分画すると，HCV RNAおよびNSタンパク質の一部が界面活性剤に不溶性を示す画分に存在する．この画分には細胞内ラフトを構成する因子であるCaveolin-2が検出されたため，HCVの複製は細胞内ラフトでおこなわれる可能性が示唆される．また，NS5A，NS5Bと相互作用する細胞性因子として報告のあるhVAP-33（human homologue of 33 kDa vesicle-associated membrane protein）も同様に，界面活性剤に不溶性の画分に検出された[21]．hVAP-33は細胞内小胞輸送に関与することが知られており，hVAP-33のドミナントネガティブ体をレプリコン複製細胞内で強制発現させると，NSタンパク質が界面活性剤に不溶性の画分から可溶性の画分へと移行し，さらに細胞内のHCV RNA量も減少した．このことから，hVAP-33がHCVの複製複合体形成に関与していると考えられるが，その分子機構は明らかにされていない．

また，コレステロール産生反応経路に関与する酵素である3-methyl-3-methyglutaryl CoA reductaseの特異的阻害剤であるロバスタチンが，レプリコン複製細胞においてHCVの複製を阻害する[22]．この反応経路の下流で生じるテンペルアルコールの一種であるゲラニルゲラニオールによるタンパク質のゲラニルゲラニル化修飾がHCVの複製活性に重要であることが示唆された．レプリコン複製細胞を抗NS5A抗体を用いて免疫染色すると，細胞内にドット状の構造体が検出され，HCV RNAの局在と一致することからこのドットは複製複合体であると考えられている．ゲラニルゲラニル化修飾を阻害する薬剤でレプリコン複製細胞を処理すると，NS5Aのドット状の構造体が消失することから，ゲラニルゲラニル化修飾はHCVの複製複合体の形成に関与している可能性が示唆された．HCVタンパク質にはゲラニルゲラニル化修飾のコンセンサス配列が存在しないために，この修飾を受ける分子は宿主タンパク質であると予想される．しかし，その様な細胞性因子は未だに同定されておらず，ゲラニルゲラニス化修飾がどのように複製複合体の形成に関与するかは不明である．

(2) タンパク質の高次構造の変換に関わる因子によるHCVゲノム複製制御

分子薬理作用がすでに知られている化合物や薬剤の中に，HCVゲノム複製活性に影響を及ぼすものを見いだせれば，化合物の既知の薬理作用を手がかりとして，HCVゲノム複製を制御する細胞性因子の同定が可能になる．その様な手法により，現在免疫抑制剤として広く臨床で用いられているシクロスポリン（CsA; cyclosporin A）がHCVのゲノム複製を抑制することが明らかになった[23]．またその抗HCV作用はシクロフィリン（CyP; cyclophilin）の阻害を介して発揮されることが

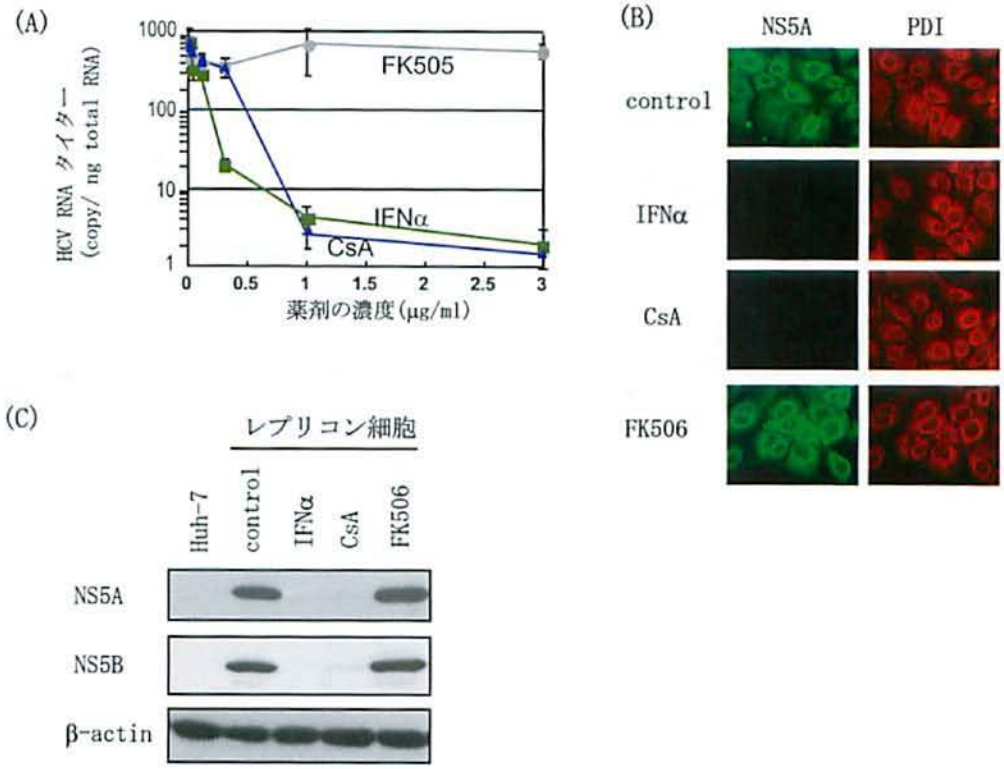


図3　シクロスポリンによる HCV 複製の抑制

(A) IFNα（×100 U/ml），CsA（μg/ml），FK 506（μg/ml）をさまざまな用量で処理したレプリコン細胞中の HCV RNA 量を RT-PCR 法で定量した．(B)および(C) 未処理（control），IFNα（100 U/ml），CsA（1 μg/ml），FK506（1 μg/ml）を処理したレプリコン細胞中の HCV NS5A，NS5B タンパク質量を免疫蛍光法(B)およびイムノブロット法(C)で検出した．PDI (B)および β-actin (C)はコントロールとして用いた細胞性タンパク質．

示された．これらのことより CyP は HCV ゲノム複製を促進的に制御していることが示唆された．

(i) シクロスポリンによる HCV ゲノム複製の抑制

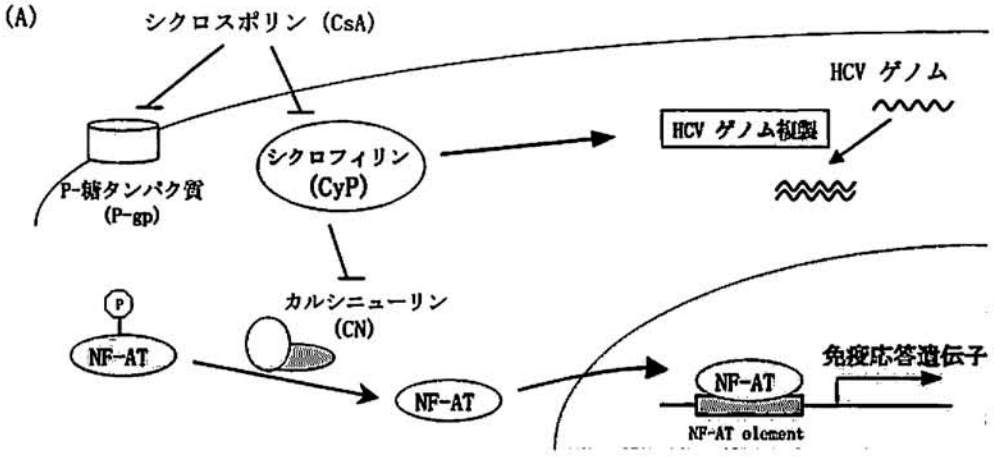
CsA の効果は用量依存的であり，時間依存的である．FK506（タクロリムス）はやはり免疫抑制剤として臨床で用いられている薬剤であるが CsA のような抗 HCV 効果は観察されない（図3）．同様に免疫抑制剤ラパマイシン処理によっても大きな変化は見られなかった．つまり免疫抑制剤の中でも CsA が特異的に抗 HCV 効果をもつと考えられる．

CsA による抗 HCV 効果は HCV 感染患者の血漿を用いた *in vitro* ウイルス感染実験でもみられる．HCV 感染許容細胞のひとつであるヒト肝臓細胞株 PH5CH8 細胞を CsA 処理するとウイルスゲノムの増幅は見られなかった．以上の結果により，培養細胞において CsA は HCV のゲノム複製を抑制する能力をもつと考えられた．

(ii) シクロスポリンの抗 HCV 作用の分子機構

これまでの研究により CsA の主要な分子が知られている（図4 A）[24, 25]．まず細胞性 peptidyl prolyl cis/trans isomerase（PPIase）であるシクロフィリン（CyP）に直接結合し，その PPIase 活性を消失させる．さらに形成された CsA/CyP 複合体はホスファターゼスーパーファミリーに属するカルシニューリン（CN）に結合し，このホスファターゼ活性を阻害する．CsA による CN の阻害は結果的に転写因子 NF-AT の不活化，それによる免疫応答の抑制を導く．また CsA は細胞膜輸送タンパク質である P 糖タンパク質（P-gp）の機能をも阻害する．

さまざまな CsA 誘導体（上記作用の一部あるいは全部を欠失している）を用い，各 CsA 誘導体処理後のレプリコン細胞中の HCV RNA 量および HCV タンパク質量を調べることにより，抗 HCV 効果の有無を評価し，誘導体の3標的と比較すると，CsA の抗 HCV 効果は CyP 阻害を介して発揮されることが判明した（図4 B）．CsA とは別の分子骨格をもった CyP 阻害剤であるサン



(B)

抗HCV活性	+	+	+	−	+	−	+	−
CyP阻害活性	+	+	+	−	+	−	+	−
CN阻害活性	+	+	−	−	−	−	−	−
P-gp阻害活性	+	−	−	−	+	+	+	+
	1	2	3	4	5	6	7	8

図4　CsA の働きおよび，CsA 誘導体による HCV ゲノム複製抑制

(A) CsA の細胞性標的因子としてのシクロフィリン（CyP），カルシニューリン（CN），P 糖タンパク質（P-gp）．CyP は peptidyl-prolyl cis-trans isomerase 活性を有する酵素，CN は NF-AT の脱リン酸化を触媒する脱リン酸化酵素，P-gp は細胞膜トランスポーターである．NF-AT は CN の働きにより転写活性化し，免疫応答に重要なサイトカイン類などを産生する．CsA は CyP に直接結合し，その酵素活性を失わせる．CsA/CyP 複合体は CN と結合し，脱リン酸化酵素活性を阻害する．また CsA は P-gp の機能をも阻害する．HCV ゲノム複製には，CyP が重要な役割を果たしていることが示唆された．(B) CsA（1）および CsA 誘導体 8′-OH-MeBmt[1]-Cs（2），MeAla6-Cs（3），D-lys[8]-Cs（4），MeVal[4]-Cs（5），cyclosporin H（6），NIM811（7），PSC833（8）の抗 HCV 効果および CyP，CN，P-gp への阻害効果の有無を示した．CyP 阻害作用と抗 HCV 効果に相関関係が見られる点に注目．

グリフェリン A，B によっても HCV 複製は抑制された．つまり CyP の阻害は HCV 複製を抑制することが示された．また細胞の内在性 CyP の発現を RNAi 法により抑制するとやはり HCV 複製が抑制された．以上のことより，細胞性 CyP は HCV ゲノム複製を促進的に制御していることが明らかになった．

感染性ウイルス粒子の産生には油滴の存在が重要である

HCV タンパク質の細胞内局在を調べることにより，ウイルス複製のために重要な細胞側要因を調べることが出来る．HCV タンパク質の多くは小胞体に会合している．ウイルスタンパク質の中で，コアは小胞体だけでなく油滴あるいはミトコンドリアにも会合するといわれている[26-28]．最近になり樹立された感染性 HCV レプリコンを用いて細胞内ウイルスタンパク質の局在を観察すると，やはり大方のタンパク質は小胞体に局在するが，幾分かのタンパク質は油滴にも局在することが分かった．その際にこれまで油滴への局在が報告されていなかった非構造ウイルスタンパク質も油滴に局在することがわかった．そこでコアが欠失しているウイルスレプリコンを導入した細胞でのウイルスタンパク質の油滴との会合を調べると，今度はどのウイルスタンパク質も油滴との会合は見られなかった．このことから，コアが他のウイルスタンパク質の油滴との会合に重要な働きをしていると考えられる．しかし，別の実験から，コアと非構造タンパク質との直接的な会合はないことが分かっているので，コアによる非構造タンパク質の油滴への誘導は直接的な働きではない．感染性 HCV ゲノムが複製している細胞の油滴の周りには膜成分が密に分布している．おそらくこのような膜成分を介して，ウイルスタンパク質が油滴を囲む領域に集められるものと考えられるが，詳細は不明である．油滴の周りに誘導されるウイルスタンパク質は機能的な複製複合体を構築しており，ウイルスゲノムの合成活性が小胞体膜の他に油滴周辺でも観察される．

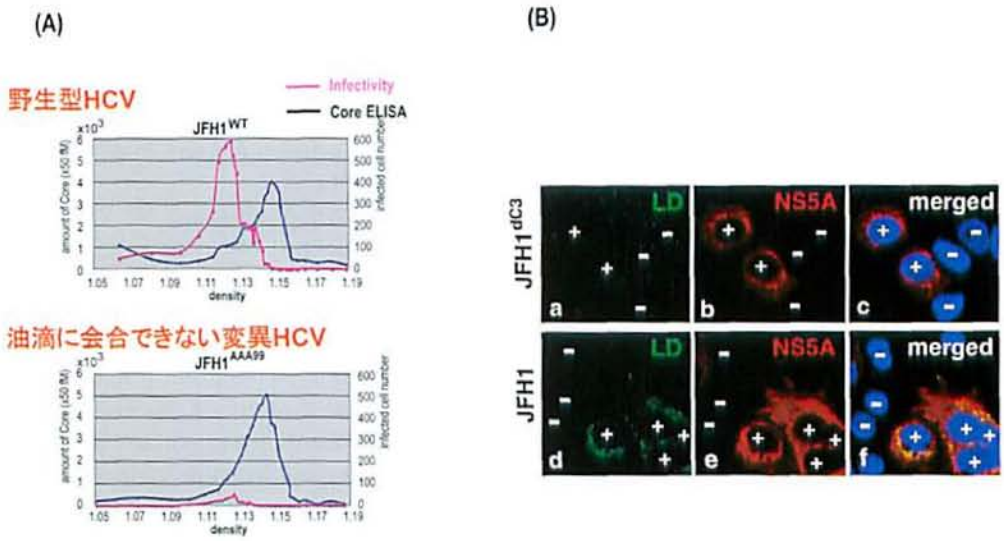


図5　HCV 感染細胞からのウイルス粒子の産生

(A)　しょ糖密度勾配遠心による解析．上の図は野生型の HCV ゲノム（JFH1WT）を導入した細胞上清中のウイルス粒子の解析．黒の線はウイルス量をコアタンパク質の量で示した．浮遊密度 1.15 に大部分のウイルスが検出されるが感染性（赤）はない．赤の線は感染性を示す．感染性を示すウイルス粒子は浮遊密度が僅かに小さい画分（浮遊密度が 1.12）に位置する．下の図はウイルスタンパク質が油滴に会合出来ない変異 HCV ゲノム（JFH1^{AAA99}）を導入した細胞の上清に放出される粒子のしょ糖密度勾配遠心の結果を示す．感染性ウイルス粒子の産生が見られない事に注目．(B)　コアタンパク質による油滴の増加．野生型 HCV ゲノム（JFH1）（下の 3 枚のパネルは同じ視野を示す．左から油滴（LD）(d)，HCV の NS5A タンパク質の存在（e）および d と e を重ね合わせた写真(f)を示した），およびコアをコードする領域が欠失しているゲノム（JFH1^{dC3}）（上の 3 枚のパネル．同じ視野を観察している．並びは下のパネルと同じ）を導入した細胞の染色．右のパネルで DAPI 染色（青色）に＋と示したものがウイルスゲノムが複製している細胞．コアが欠失しているゲノムに比べて野生型のゲノムでは，油滴（左のパネル，LD と示した）のマーカーシグナルが強くなっているのに注目．

油滴に会合出来ない HCV 変異ゲノムからは感染性ウイルス粒子の産生は見られない．しかし，非感染性粒子は産生されている（図 5 A）．

油滴は，合成された中性脂肪が集まってできる，いわゆる細胞内の脂肪の貯蔵庫であるが，近年油滴自身が細胞内の輸送に能動的に関わっているという報告が出され，油滴の新たな機能として注目されている[29]．HCV 感染増殖においては，油滴が感染性ウイルス粒子産生に重要な働きをしていると考えられる．それがどんな働きなのかは今後の課題であるが，例えばウイルス粒子の集合の場，あるいは集合したウイルス粒子が細胞の外に放出されるための運搬の役割などが考えられる．

感染性ウイルス粒子を産生する HCV レプリコンを持つ細胞では，油滴の産生が増加している（図 5 B）．このような油滴の増加はコアを欠失したレプリコン細胞では見られない．しかし，その細胞にコアを産生させると見られる様になることから，コアが油滴の産生に関わっている事がわかる．

コアタンパク質を発現するトランスジェニックマウスでは，脂肪症を発症するという報告がある．このマウスでは，脂肪症の後に肝がんを発症する．このマウスの脂肪症と，コアを発現する培養細胞における油滴の量の増加とは関連性があるのだろうか？　これからの研究に待たなければならないが，筆者はコアによる油滴の量の増加は，HCV が複製して感染性ウイルス粒子を効率よく産生するための重要な機構のひとつであろうと考えている．その結果，細胞内の脂肪量が増える事になるが，個体レベルではそれが脂肪症という疾患になり，そのことが肝発がんの要因のひとつになると考える．

おわりに

HCV 感染によりがんを発症するが，その機構はどのように説明されるのだろうか？　これまでの多くの研究から，感染による肝臓の炎症を伴う障害が病態の進展に重要な働きをしている事は明らかである．それでは肝障害と病態の進展にはどのような分子的な結びつきがあるのだろうか？　コアを産生するトランスジェニックマウスで見られる脂肪症，それに引き続く肝がんの発症には炎症は観察されない．このモデル疾患の場合には，ヒトとはかなり異なる機構で起こるがんの発症を観察しているようにも思える．しかし，培養細胞でも観察されるコ

アによる脂肪代謝の亢進は肝がんも含めた肝疾患の発症に重要な働きをしていると思われる．

ウイルス性疾患の場合には，ウイルスを排除出来れば疾患から解放される．HCV 感染増殖系を用いた抗ウイルス作用を示す薬剤の開発が一層進むと期待される．ウイルスタンパク質が油滴と会合でできないようにする薬剤などの開発は，新たな抗ウイルスの標的となろう．

文　献

1) Hollinger FB, Gitnick GL, Aach RD, Szmuness W, Mosley JW, Stevens CE, Peters RL, Weiner JM, Werch JB, Lander JJ. Non-A, non-B hepatitis transmission in chimpanzees: a project of the transfusion-transmitted viruses study group. *Intervirology*, 10：60-68, 1978
2) Feinstone SM, Mihalik KB, Kamimura T, Alter HJ, London WT, Purcell RH. Inactivation of hepatitis B virus and non-A, non-B hepatitis by chloroform. *Infect Immun*, 41：816-821, 1983
3) Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244：359-362, 1989
4) Chiba J, Ohba H, Matsuura Y, Watanabe Y, Katayama T, Kikuchi S, Saito I, Miyamura T. Serodiagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection with an HCV core protein molecularly expressed by a recombinant baculovirus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88：4641-4645, 1991
5) Linnen J, Wages J Jr, Zhang-Keck ZY, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H, Koonin E, Gallagher M, Alter M, Hadziyannis S, Karayiannis P, Fung K, Nakatsuji Y, Shih JW, Young L, Piatak M Jr, Hoover C, Fernandez J, Chen S, Zou JC, Morris T, Hyams KC, Ismay S, Lifson JD, Kim JP, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus：a transfusion-transmissible agent. *Science*, 271：505-508, 1996
6) Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, Waggoner JG, Park Y, Jones EA. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. *A preliminary report. N Engl J Med*, 315：1575-1578, 1986
7) Johnson YN Lau, Robert C Tam, T Jake Liang, Zhi Hong. Mechanism of action of ribavirin in the combination treatment of chronic HCV infection. *Hepatology*, 35：1002-1009, 2002
8) H1) Kato N, Hijikata M, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Ohkoshi S, Sugimura T, Shimotohno K. Molecular cloning of the human hepatitis C virus genome from Japanese patients with non-A, non-B hepatitis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA, 87：9524-9528, 1990
9) Tsukiyama-Kohara K, Iizuka N, Kohara M, Nomoto A. Internal ribosome entry site within hepatitis C virus RNA. *J Virol*, 66：1476-1483, 1992
10) Tanaka T, Kato N, Cho MJ, Shimotohno K. A novel sequence found at the 3′ terminus of hepatitis C virus genome. *Biochem Biophys Res Commun*, 215：744-749, 1995
11) Miyanari Y, Hijikata M, Yamaji M, Hosaka M, Takahashi H, Shimotohno K. Hepatitis C virus non-structural proteins in the probable membranous compartment function in viral genome replication. *J Biol Chem*, 278：50301-8. 2003
12) Wakita T, Pietschmann T, Kato T, Date T, Miyamoto M, Zhao Z, Murthy K, Habermann A, Krausslich HG, Mizokami M, Bartenschlager R, Liang TJ. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med*, 11：791-796, 2005
13) Lohmann V, Korner F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science*, 285：110-113, 1999
14) Kishine H, Sugiyama K, Hijikata M, Kato N, Takahashi H, Noshi T, Nio Y, Hosaka M, Miyanari Y, Shimotohno K. Subgenomic replicon derived from a cell line infected with the hepatitis C virus. *Biochem Biophys Res Commun*, 293：993-999, 2002
15) Ikeda M, Yi M-K, Li K, Lemon SM. Selectable subgenomic and genome-length dicistronic RNAs derived from an infectious molecular clone of the HCV-N strain of hepatitis C virus replicate efficiently in cultured Huh 7 cells. *J Virol*, 76：2997-3006, 2002
16) Blight KJ, McKeating JA, Marcotrigiano J, Rice CM. Efficient replication of hepatitis C virus genotype 1a RNAs in cell culture. *J Virol*, 77：3181-3190, 2003
17) Kato T, Date T, Miyamoto M, Furusaka A, Tokushige K, Mizokami M, Wakita T. Efficient replication of the genotype 2a hepatitis C virus subgenomic replicon. *Gastroenterology*, 125：1808-1817, 2003
18) Pietschmann T, Lohmann V, Kaul A, Krieger N, Rinck G, Rutter G, Strand D, Bartenschlager R. Persistent and transient replication of full-length hepatitis C virus genomes in cello culture. *J Virol*, 76：4008-4021, 2002
19) Date T, Kato T, Miyamoto M, Zhao Z, Yasui K, Mizokami M, Wakita T. Genotype 2a hepatitis C virus subgenomic replicon can replicate in HepG2 and IMY-N9 cells. *J Biol Chem*, 279：22371-22376, 2004
20) Zhu Q, Guo JT, Seeger C. Replication of hepatitis C virus subgenomes in nonhepatic epithelial and mouse hepatoma cells. *J Virol*, 77：9204-9210, 2003
21) Gao L, Aizaki H, He JW, Lai MM. Interactions between viral nonstructural proteins and host protein hVAP-33 mediate the formation of hepatitis C virus RNA replication complex on lipid raft. *J Virol*, 78：3480-8. 2004
22) Ye J, Wang C, Sumpter R Jr, Brown MS, Goldstein JL,

Gale M Jr. Disruption of hepatitis C virus RNA replication through inhibition of host protein geranylgeranylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 : 15865-70. 2003.

23) Watashi K, et al. Cyclosporin A suppresses replication of hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes. *Hepatology*, 38 : 1282-1288, 2003

24) Takahashi N. Pharmacodynamics of ciclosporin A. *Clin Exp Nephrol*, 3 : S16-S26, 1999

25) Loor F, et al. Cyclosporins : structure-activity relationships for the inhibition of the human MDR1 P-glycoprotein ABC transporter. *J. Med. Chem*, 45 : 4598-4612, 2002

26) Hope RG, McLauchlan J. Sequence motifs required for lipid droplet association and protein stability are unique to the hepatitis C virus core protein. *J Gen Virol*, 81 : 1913-1925, 2000

27) Hope RG, Murphy DJ, McLauchlan J. The domains required to direct core proteins of hepatitis C virus and GB virus-B to lipid droplets share common features with plant oleosin proteins. *J Biol Chem*, 2002, 277 : 4261-4270, 2002

28) Schwer B, Ren S, Pietschmann T, Kartenbeck J, Kaehlcke K, Bartenschlager R, Yen TS, Ott M. Targeting of hepatitis C virus core protein to mitochondria through a novel C-terminal localization motif. *J Virol*, 78 : 7958-7968, 2004

29) Martin S, Parton RG. Lipid droplets : a unified view of a dynamic organelle. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 7 : 373-378, 2006