



## Nonstructural proteins 4A and 4B of hepatitis C virus transactivate the interleukin-8 promoter

角矢，博保

---

(Degree)

博士（保健学）

(Date of Degree)

2005-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲3388

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1003388>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 165 】

氏 名・(本 籍) 角矢 博保 ( 福井県 )  
博士の専攻分野の名称 博士 (保健学)  
学 位 記 番 号 博い第21号  
学位授与の 要 件 学位規則第5条第1項該当  
学位授与の 日 付 平成17年3月25日

【 学位論文題目 】

Nonstructural proteins 4A and 4B of hepatitis C virus  
transactivate the interleukin-8 promoter  
(C型肝炎ウイルスのIL-8誘導に関する検討)

審 査 委 員

主 査 教 授 中園 直樹  
教 授 塩澤 俊一  
教 授 宇賀 昭二

## 論文内容の要旨

専攻領域 病因・病態解析学領域

専攻分野 病態解析学分野

氏名 角矢 博保

論文題目 Nonstructural Proteins 4A and 4B of Hepatitis C virus  
Transactivate the Interleukin 8 Promoter  
(C型肝炎ウイルスのIL-8誘導に関する検討)

指導教員 中園 直樹教授

現在世界では、1億7千万人がC型肝炎ウイルス(HCV)に感染し、その有病率は2~3%となっている。HCV感染は、慢性肝炎、肝硬変、肝がんの主な原因となり、HCV感染患者はインターフェロン(IFN)単独あるいはリバビリンとの併用療法が行われている。

HCVゲノムは、オープンリーディングフレーム(ORF)を含む約9600塩基のプラス鎖RNAからなる。そしてそのORFは、コアタンパク質、エンベロープタンパク質(E1、E2)、p7、非構造タンパク質2(NS2)、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5Bからなる約3000アミノ酸のポリプロテインをコードする。

インターロイキン8(IL-8)は、99アミノ酸からなる炎症性サイトカインであり、IL-8遺伝子のプロモーター領域にある転写因子NF- $\kappa$ B等を通じてIL-1やTNF- $\alpha$ により誘導される。そしてIL-8は、ウイルス感染を含む様々な刺激により多くの細胞で誘導され、IFNの抗ウイルス作用を阻害することが知られている。最近、HCV感染によるERストレス介在NF- $\kappa$ B誘導、HCVコアあるいはNS4BによるNF- $\kappa$ B誘導、HCV NS5AによるIL-8誘導等の報告がなされた。

本論文では、IL-8遺伝子発現を転写活性化する各HCVタンパク質を確認するとともに、その転写活性化の分子機序及び多様性について解析すること目的とし、各HCV発現細胞系でのIL-8プロモーター発現制御ルシフェラーゼレポーターアッセイ、内在性IL-8mRNAや分泌IL-8タンパク質の測定を行った。

ヒト肝がん細胞(Huh-7細胞)において、各HCVタンパク質発現プラスミドを用い、ルシフェラーゼレポーターアッセイを行った結果、NS4B、次いでNS4Aが有意にIL-8プロモーターを転写活性化した。また同様に各HCVタンパク質一過性発現細胞のIL-8mRNAや培養上清中のIL-8タンパク質を測定した結果、IL-8発現が増加する事が観測された。IL-8遺伝子の転写活性化はまた、HCVの自律複製系モデルであるHCVサブゲノムRNA複製Huh-7細胞を用いた実験で、対照細胞と比較してルシフェラーゼレポーターアッセイにおいて増加した。それと一致して、内在性IL-8mRNAや培養上清中のIL-8も対照細胞と比較して高値を示した。IL-8プロモーターの欠失変異体解析の結果、NS4AやNS4Bが介在したIL-8遺伝子活性化に、転写因子AP-1の影響の可能性が示唆された。さらに、NS4BによるIL-8遺伝子活性化は、NF- $\kappa$ BとNFIL-6の両方またはいずれかを介するものも重要であると考えられた。NS4BやNS4Aによる転写活性化の程度は、種々のヒト細胞株間で異なり、ヒト子宮頸がん細胞(HeLa細胞)では最も強い活性化を示した。その後にHuh-7細胞が強い活性化を示し、他のヒト肝がん細胞(HepG2細胞)ではほとんど活性化を示さなかった。

まとめると本研究では、NS4BやNS4Aが、いくつかの細胞状況下でIL-8遺伝子発現を増加させることが明らかになった。NS4BやNS4AはIL-8誘導を介して、HCV感染による炎症惹起の要因の1つになっていると考えられる。また、HCVはIL-8誘導を通じて、IFNの抗ウイルス活性を抑制する事を生存戦略の1つとしているかもしれない。

## 論文審査の結果の要旨

氏名	角矢博保		
論文題目	Nonstructural proteins 4A and 4B of hepatitis C virus transactivate the interleukin-8 promoter (C型肝炎ウイルスのIL-8誘導に関する検討)		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	教授	中園直樹印
	副査	教授	塩澤俊一印
	副査	教授	宇賀昭二印
要旨			
<p>本論文では、IFN活性を抑制していると思われるIL-8の誘導が、HCV感染においてどのHCVタンパク質が関与しているのかを調べる事を目的とし、各HCV発現細胞系でのIL-8プロモーター発現制御ルシフェラーゼレポーターアッセイ、内在性IL-8 mRNAや分泌IL-8タンパク質の測定を行ったものである。</p> <p>ヒト肝がん細胞(Huh-7細胞)において、各HCVタンパク質発現プラスミドを用い、ルシフェラーゼレポーターアッセイを行った結果、NS4B、次いでNS4Aが有意にIL-8プロモーターを転写活性化した。また同様に各HCVタンパク質一過性発現細胞のIL-8 mRNAや培養上清中のIL-8タンパク質を測定した結果、IL-8発現が増加する事が観測された。IL-8遺伝子の転写活性化は1999年にドイツのグループが開発したHCVサブゲノムのRNA複製モデル変法を開発した。内在性IL-8 mRNAや培養上清中のIL-8も対照細胞と比較して高値を示した。その結果、NS4AやNS4Bが介在したIL-8遺伝子活性化に、転写因子AP-1の影響の可能性が示唆された。さらに、NS4BによるIL-8遺伝子活性化は、NF-<math>\kappa</math>BとNFKL-6の両方またはいずれかを介するものも重要であると考えられた。NS4BやNS4Aによる転写活性化の程度は、種々のヒト細胞株間で異なり、ヒト子宮頸がん細胞(HeLa細胞)では最も強い活性化を示した。その次にHuh-7細胞が強い活性化を示し、他のヒト肝がん細胞(HepG2細胞)ではほとんど活性化を示さなかった。(続き裏面へ)</p>			

まとめるに本研究では、NS4BやNS4Aが、いくつかの細胞状況下でIL-8遺伝子発現を増加させることができた。NS4BやNS4AはIL-8誘導を介して、HCV感染による炎症惹起の要因の一つになっていると考えられる。また、HCVはIL-8誘導を通じて、IFNの抗ウイルス活性を抑制する事を生存戦略の一つとしているかもしれないとの仮説を提案するもので、Microbiology and Immunology 2005年vol 49のnumber 3に掲載される。よって、学位申請者の角矢博保は博士(保健学)の学位を得る資格があると認める。