

## 審査の結果の要旨

氏名 ホサム イード モハメド イード ゲウェイード

プラス鎖 RNA ウイルスは宿主細胞の生体膜を変化させ、膜小胞 membranous web (MW) 構造を作り、その内部で複製複合体を形成し、複製するものと考えられている。MW 内部にはウイルス複製に必要な宿主タンパクや脂質が濃縮されているだけでなく、RNase や Protease から隔離されており、宿主免疫系からも保護されている。これまでに、宿主細胞のコレステロールやスフィンゴミエリンが C 型肝炎ウイルス (HCV) の複製に重要ということを見出しているが、その詳細は不明であった。本研究では、スフィンゴミエリンに注目し、ウイルス複製、特に MW 形成における役割について解析し、以下の結果を得ている。

1. 劇症肝炎症例の急性期血清から分離した HCV 感染性クローンおよび HCV ゲノムの中でウイルス粒子を形成する構造タンパク質領域を薬剤耐性遺伝子に置き換えた RNA レプリコンを Huh7 細胞に導入し薬剤存在下で培養することで、自律複製する HCV 遺伝子配列を獲得した HCV ゲノムを保持する細胞株 (SGR 細胞) を実験に用いた。SGR 細胞を HMG-CoA reductase 阻害剤 (lovastatin) やスフィンゴ脂質合成阻害剤 (myriocin, fumonisins B1, D609) で処理したところ、いずれもウイルス複製を容量依存性に抑制した。
2. Membrane flotation 法で SGR 細胞のライセートから HCV 複製複合体を含む膜分画を抽出し、RI ラベルした核酸の取り込みで HCV 複製活性を測定可能な試験管内複製系を methyl-beta-cyclodextrin (B-CD) や sphingomyelinase (SMase) 処理したところ、いずれも複製活性が低下した。
3. 我々は、HCV 複製複合体が界面活性剤抵抗性膜分画に存在しているこ

とを見出しているので、SGR 細胞のライセートを 4℃で界面活性剤処理後、Membrane flotation 法にて膜分画を抽出し、電顕観察したところ、MW 構造物が観察されたが、これは B-CD や SMase 処理後にて破壊された。

以上、本論文は結果から、HCV 複製にコレステロールやスフィンゴリエリンが重要なことが示され、特に HCV 複製複合体を内包する MW 構造に必要と考えられた。本研究では、これまで未知に近かったポリオウイルス等のプラス鎖 RNA ウィルスに共通な複製複合体を包む膜小胞の形成メカニズムを明らかにしたと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。