

# 1. C型肝炎ウイルスコア蛋白質のプロセッシングと病原性発現機構

森石 恆司, 森 嘉生, 松浦 善治

大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野

C型肝炎ウイルス (HCV) は血液や血液製剤を介して感染し, その多くは10~30年の長期に渡って持続感染し, 脂肪肝や肝硬変を経て肝細胞癌に至る. HCV感染は肝病変だけではなく, クリオグロブリン血症や2型糖尿病などの肝外病変との関連性も知られている. HCVの病原性発現は, ウイルス感染による炎症反応だけでなく, ウイルス因子の直接的な生物活性も関与する. HCV蛋白質の中で, 特にコア蛋白質の発現によって酸化ストレスや細胞増殖が誘導されることが多数報告されている.

## はじめに

1970年代にA型およびB型肝炎ウイルスが同定されてから, 輸血後肝炎は半減したものの, その後も輸血後肝炎は制圧されることはなく, 非A非B型肝炎ウイルスの存在が浮き彫りとなった. 原因ウイルスが同定される前から, 非A非B型肝炎ウイルスのチンパンジーへの感染性が確認され, 生化学的な解析から, エンベロープをもつ小型のフラビウイルスかトガウイルスに近縁なRNAウイルスであると考えられていた. 1989年にカイロン社の研究グループは, 高い感染性を示す非A非B型肝炎ウイルス感染チンパンジー血漿から, 新しいフラビウイルス科のウイルス遺伝子を単離した. この遺伝子産物に対する抗体が, 非A非B型肝炎患者血清中に検出されることから, C型肝炎ウイルス (HCV) であることが確認された. 1992年には第二世代のHCV抗体のスクリーニング系が, さらに, 1999年にはHCVの核酸検出系が導入され, 輸血や血液製剤を介したHCV感染が先進国でほぼ征圧されたことは, 感染症史上特筆に値する.

フラビウイルス科ヘパシウイルス属に分類されるHCVは, メッセンジャーRNAとして機能するプラスセンスの

一本鎖RNAをゲノムとして持つ. このゲノムRNAから翻訳される約3000アミノ酸からなる前駆体は, 宿主およびウイルスのプロテアーゼによって切断され, 10個のウイルス蛋白質が生成される<sup>19)</sup> (図1). ウイルス粒子を構成する構造蛋白質, コア蛋白質と二つのエンベロープ蛋白質 (E1とE2) は, ポリプロテインのアミノ末端側に位置している. コア蛋白質はまず, シグナルペプチダーゼ (SP) によってE1から切り離され, 次に, プレセニリン様の膜内蛋白質分解酵素である, シグナルペプチドペプチダーゼ (SPP) によって, C末端の膜貫通領域が切断されて成熟する<sup>15, 27)</sup> (図2A). 一方, HCV感染による肝癌発症機構は, 依然として謎に包まれたままであるが, コア蛋白質の関与を示唆する報告が多い. 本稿では, HCVコア蛋白質の生成と病原性発現に焦点を絞り, 我々の研究成果を中心に紹介したい.

## SPPによるHCVコア蛋白質の切断の生物学的意義

膜貫通領域を切断する蛋白質分解酵素 (Intramembrane-cleaving proteases: I-CLiP) としては, 現在4種が知られており, すべてが複数の膜貫通領域を持っている<sup>34)</sup> (図3). I-CLiPは水分子が入る事が難しい脂質二重膜内で基質を加水分解するために, 基質の膜貫通領域内の $\alpha$ -ヘリックス構造が緩んだ部位を認識して切断すると想定されている. Sterol regulatory element binding proteins (SREBPs) を基質にする Site-2 protease (S2P), *Drosophila* でEGF様蛋白質 Spitz を基質にする Rhomboid, アミロイド蛋白質前駆体を基質にする $\gamma$ -セクレターゼ複合体の酵素本体であるプレセニリン, そしてSPPの4種がI-CLiPに分類され, それぞれ異なる膜蛋白質を基質としている. I-CLiPとして最初に発見されたS2Pは, HEXXHとLDGの保存された

## 連絡先

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-1  
大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野  
TEL: 06-6879-8343  
FAX: 06-6879-8269  
E-mail: kohji@biken.osaka-u.ac.jp

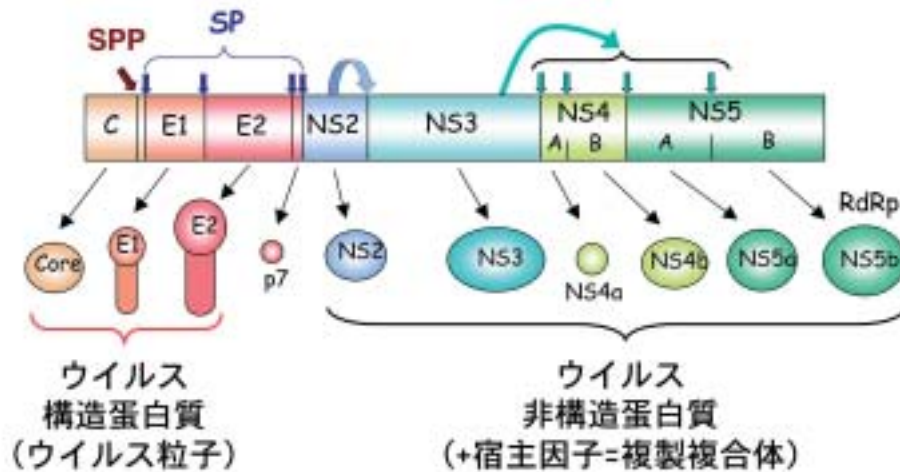


図1 HCV ウイルス蛋白質

コア蛋白質，エンベロープ蛋白質 E1 および E2 がウイルス構造蛋白質に分類され，NS2 以降の蛋白質がウイルス非構造蛋白質として知られる．構造蛋白質はシグナルペプチダーゼ (SP) およびシグナルペプチドペプチダーゼ (SPP) によって切断を受けて，ウイルス粒子構築に使われる．一方，非構造蛋白質はウイルスプロテアーゼによって切断を受けて，ウイルス複製複合体としてウイルス複製に機能する．P7 蛋白質はどちらに分類されるかは明確になっていない．

モチーフがプロテアーゼ活性を担う．また，7つの膜貫通領域をもつ Rhomboid は，それぞれ別々の膜貫通領域に存在する，N，H，および S が活性に重要であるらしい．7回膜貫通型の SPP と 8回膜貫通型のプレセニンには相同性があり，相対する膜貫通領域に存在するアスパラギン酸を含む配列 (YD および LGLGD) に活性中心をもつ．プレセニンと SPP の活性中心を有する膜貫通領域の方向が逆なため，それぞれ，I 型と II 型の膜蛋白質を基質とする．プレセニンは Nicastrin, Aph-1, そして Pen-2 との複合体により， $\gamma$ -セクレターゼとしての活性を發揮するが，SPP は安定したホモ二量体を形成し，原則的に他のコンポーネントを必要としない．また， $\gamma$ -セクレターゼはアミロイド蛋白質前駆体の膜貫通領域を二カ所切断するが，SPP は一カ所のみを切断する．両酵素とも，基質の膜貫通領域以外の部分が最初に別の酵素で切断されることが必要で，膜貫通領域の自由度が増すことで切断を受けやすくなるらしい．プレセニンの場合，まず， $\beta$ -セクレターゼによってアミロイド蛋白質のルーメン側が切断され，次にプレセニンによって膜貫通領域が切断される．SPP の場合は，まず SPP で切断されることが SPP の基質となる条件となっている<sup>11)</sup>．従って，HCV コア蛋白質は，SP によってポリプロテインから切り離される事が，SPP による切断の必須条件である<sup>11)</sup>．全長約 3000 アミノ酸からなるポリプロテインの N 末端に位置するコア蛋白質は，まず，191 アミノ酸残基からなる前駆体として SP により切断され，さらに上流の C 末端膜貫通領域が SPP によって切断されて成熟する．昆虫細胞<sup>25)</sup> やヒト細胞<sup>26)</sup> で発現させた成熟コア蛋白質の C 末端残基は Phe177 であった (図 2B)．McLachlan らは，膜貫通領

域の  $\alpha$ -ヘリックス構造を壊す Ala180, Ser183, および Cys184 の残基が SPP による切断に必須であると報告していたが<sup>15)</sup>，これらの残基に変異を入れてもコア蛋白質は SPP により切断された<sup>26)</sup> (図 2B)．一方，SPP の切断部位の上流の疎水性領域や Ile176 と Phe177 の変異によって，SPP による切断は消失した<sup>26, 27)</sup>．これらの変異を導入して SPP で切断されないコア蛋白質をもつ HCV は，ウイルス粒子の産生が抑制されたことから，SPP によるコア蛋白質の切断は，HCV の産生に重要な役割を演じていることが示された<sup>26)</sup>．

## 2. 界面活性剤抵抗性膜画分へ局在する HCV コア蛋白質

コレステロールやスフィンゴ脂質などで構成されている脂質ラフトを，ウイルスによっては感染過程で利用する<sup>28)</sup>．いくつかのエンベロープを持たないウイルスはカベオソームと呼ばれるカベオラ・ラフト由来のエンドソームを介して，小胞体や核へ直接輸送される<sup>24, 28, 29)</sup>．しかしながら，HCV の様なエンベロープをもつフラビウイルスは，クラスリン依存性の経路を介して侵入すると考えられており<sup>12)</sup>，実際，いくつかの研究グループにより，HCV が一般的なエンドサイトーシス，つまりクラスリンを介した経路で侵入することが報告されている<sup>3, 5, 16)</sup>．HCV 粒子を構成する膜脂質として，コレステロールやスフィンゴ脂質が必要であることから<sup>2)</sup>，これらの脂質を多く含む膜画分から出芽する事が唆されている．また，HCV の複製は界面活性剤抵抗性の膜画分 (Detergent-resistant membrane fraction: DRM) で行われており，Membranous web と呼ばれる構造物が電子顕微鏡で観察される<sup>6, 7, 30)</sup>．例えば，HCVRNA

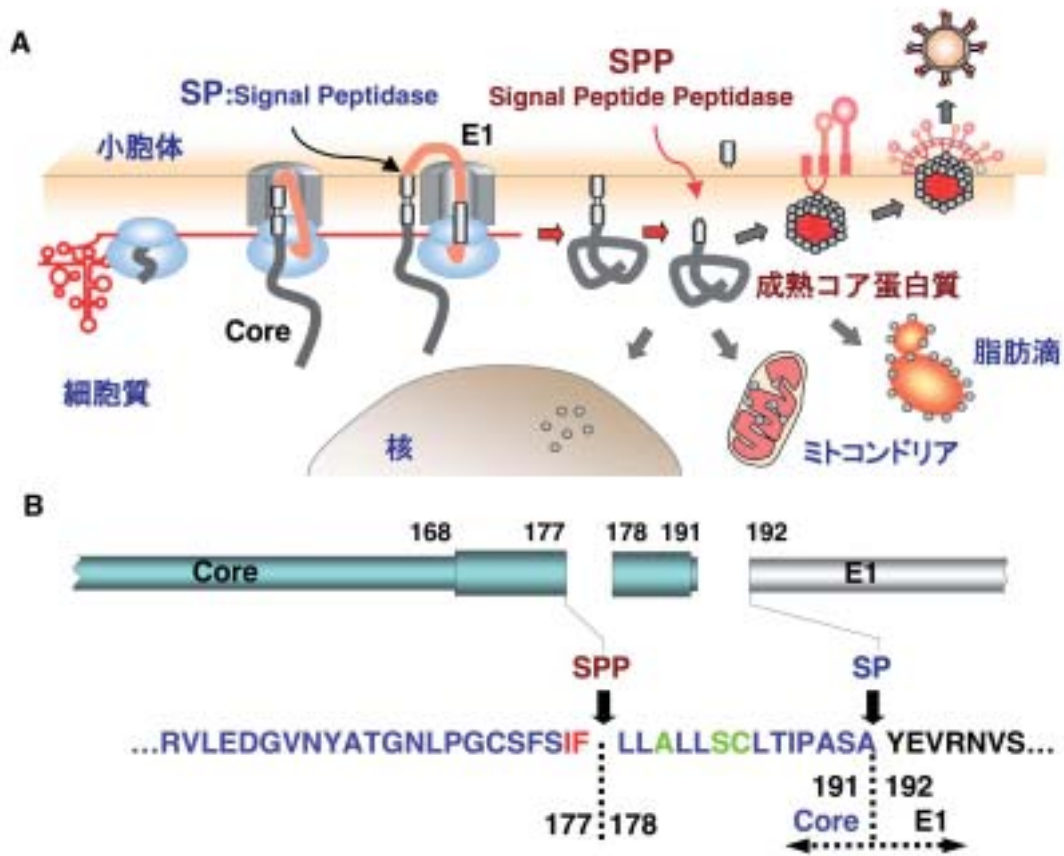


図2 HCV コア蛋白質のプロセッシング

(A)HCV コア蛋白質はポリプロテインとして合成された後、SPによってE1から切り離され、更に膜貫通領域内がSPPによって切断を受けて、成熟蛋白質として機能する。(B) SPで切断される部位は、コア蛋白質の191位と192位の間に、SPPで切断される部位は、177位と178位の間にある。

が自立複製しているレプリコン細胞を、非イオン性界面活性剤で処理しても、ゲノム複製の活性を保持していることから<sup>1)</sup>、HCVの複製複合体はラフト様の膜画分に存在していると考えられている。HCVコア蛋白質は小胞体や脂肪滴などに局在し、一部はミトコンドリアにも検出される<sup>8,32)</sup>。また、以前から、一部のコア蛋白質がDRMに画分されることが報告されていた<sup>14)</sup>。HCVコア蛋白質はゲノム複製には必須ではないが、ラフト様の膜画分に局在する生物学的意義は明らかにされていない。前述の様に、コア蛋白質は最終的にSPPで切断を受けないと感染粒子を産生できず、また、SPPで切断されない変異コア蛋白質はDRM画分へ移行できない。さらに、SPP阻害剤やSPPのドミナントネガティブ変異体の発現によってSPPの活性を抑制すると、コア蛋白質のDRM画分への移行は阻害され、ウイルス産生は低下する。これらの成績から、コア蛋白質がSPPにより切断されてDRM画分へ移行することは、HCVの粒子形成に重要であると考えられる。一方、HCVの粒子形成にはコア蛋白質が脂肪滴へ移行し、Membranous webの複製複合体の近傍に局在することが重要であるとの報告も

ある<sup>18)</sup>。DRM画分に局在するコア蛋白質も複製複合体に近接し、ウイルスRNAとヌクレオキャプシドを形成し、粒子産生に関与しているものと考えられる。

### 3. HCVの病原性発現

HCVに感染しても不顕性の場合が多く、感染者の大部分が持続感染に移行する。肝脂肪化は感染者の多くに認められ、欧米では特に遺伝子型3aのHCV感染者に多く認められる。肝線維化/肝硬変は肝細胞癌と相関しており、50歳以降になると肝線維化が急速に進み、ステージF3からF4(肝硬変)へ進むと、高率に肝細胞癌を発症する。また、C型肝炎患者のアルコール摂取は肝硬変/肝細胞癌の発症と相関している<sup>10)</sup>。持続的な感染による炎症が肝癌発症の原因の一つとされるが、炎症だけでは説明出来ない。例えば、激しい炎症像を示す自己免疫性肝炎に比べても、慢性C型肝炎の発癌率が有意に高い。したがって、慢性的な炎症によって繰り返される細胞死と再生による遺伝子異常の蓄積のみで、肝細胞癌の発症を説明ができない。HCVの構成因子や感染によって誘導される何らかの因子が、HCVによる

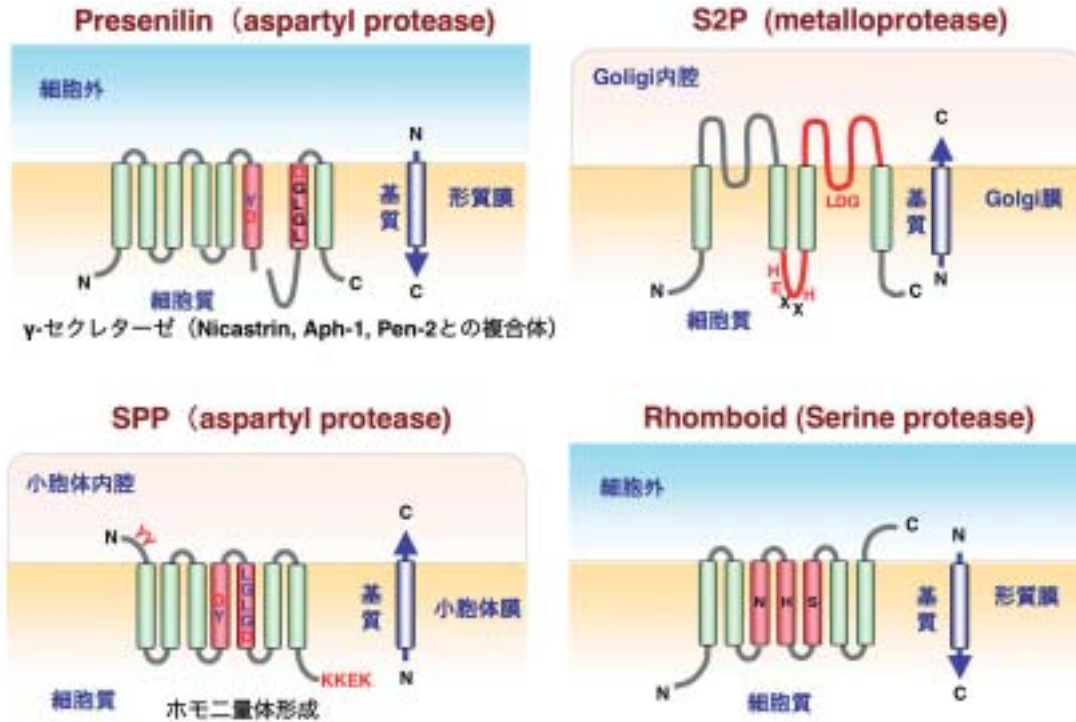


図3 Intramembrane-cleaving proteases (I-CLiP) の種類

膜貫通領域を切断する蛋白質分解酵素 (Intramembrane-cleaving proteases : I-CLiP) としては、現在4種が知られており、aspartyl protease (SPP と Presenilin) , metalloprotease (S2P), serine protease (Rhomboid)に分類される。

肝発癌に関与しているものと推測されている<sup>9)</sup>。HCV 蛋白質を発現するトランスジェニックマウスの成績から、ウイルス蛋白質のうちコア蛋白質の発現がC型肝炎の肝脂肪化と肝細胞癌発症との関連性が強いことが示された(図4)。我々は、コア蛋白質がLXR  $\alpha$  / RXR  $\alpha$  の転写活性を亢進し、脂肪肝や肝細胞癌をPA28  $\gamma$  依存的に発症させることを明らかにした<sup>21)</sup>。アルコールの摂取によって、コア蛋白質による酸化ストレスの誘導<sup>22)</sup> やMAPK経路の活性化<sup>33)</sup> は相乗的に増強される。また、肝脂肪化も酸化ストレスを亢進すると考えられる。増強された酸化ストレスは、遺伝子変異を蓄積させるとともに、細胞増殖に関わるMAPKやAP-1などの活性化も加わり、発癌に至るというシナリオが考えられている<sup>9)</sup>。HCV コア蛋白質による肝脂肪化と肝細胞癌の発症機構については、昨年の本誌の総説を参考されたい<sup>20)</sup>。HCV 感染によって、肝病変以外にも、インスリン抵抗性の2型糖尿病やクリオグロブリン血症などの肝外病変の誘発が知られている。

4. HCV 感染とインスリン抵抗性

C型肝炎と2型糖尿病の関連性は疫学的な調査から指摘されていた<sup>4, 13)</sup>。しかしながら、適当な解析系がなかったことから、その詳細なメカニズムは明らかにされていなか

った。2型糖尿病は、複雑でシステマチックな代謝病として一般的に理解され、肝臓でのグルコース産生の亢進による高血糖と、インスリン抵抗性からくる高インスリン血症を主徴とする。肝細胞のインスリン反応性の低下により、膵島からのインスリン産生が増加し、結果的に血液中のインスリン濃度が上昇して、高インスリン血症となる。東大の小池らは、コア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスがインスリン抵抗性を示すことを報告した<sup>31)</sup> (図5)。このマウスは前述の様に脂肪肝を発症するが、肝臓への脂肪蓄積は4ヶ月齢から顕著に認められるようになる<sup>21, 23)</sup>。脂肪肝はインスリン感受性に影響することから、脂肪肝の影響を除外するため、2ヶ月齢のコアトランスジェニックマウスを解析すると、有意に高インスリン血症を発症しており、さらに高カロリー飼料の摂取によって糖尿病を発症することが示された<sup>31)</sup>。肝臓におけるインスリン感受性の低下の原因の一つに、TNF  $\alpha$  の産生亢進が知られている。コアトランスジェニックマウスでは、血中のTNF  $\alpha$  の産生が増強されており、抗TNF  $\alpha$  抗体でインスリン抵抗性が解除された<sup>31)</sup>。インスリンが受容体に結合すると、下流のアダプター分子であるInsulin receptor substrate (IRS)-1およびIRS-2がリン酸化され、IP3キナーゼが活性化される(図5A)。コアトランスジェニックマウスでは、インス

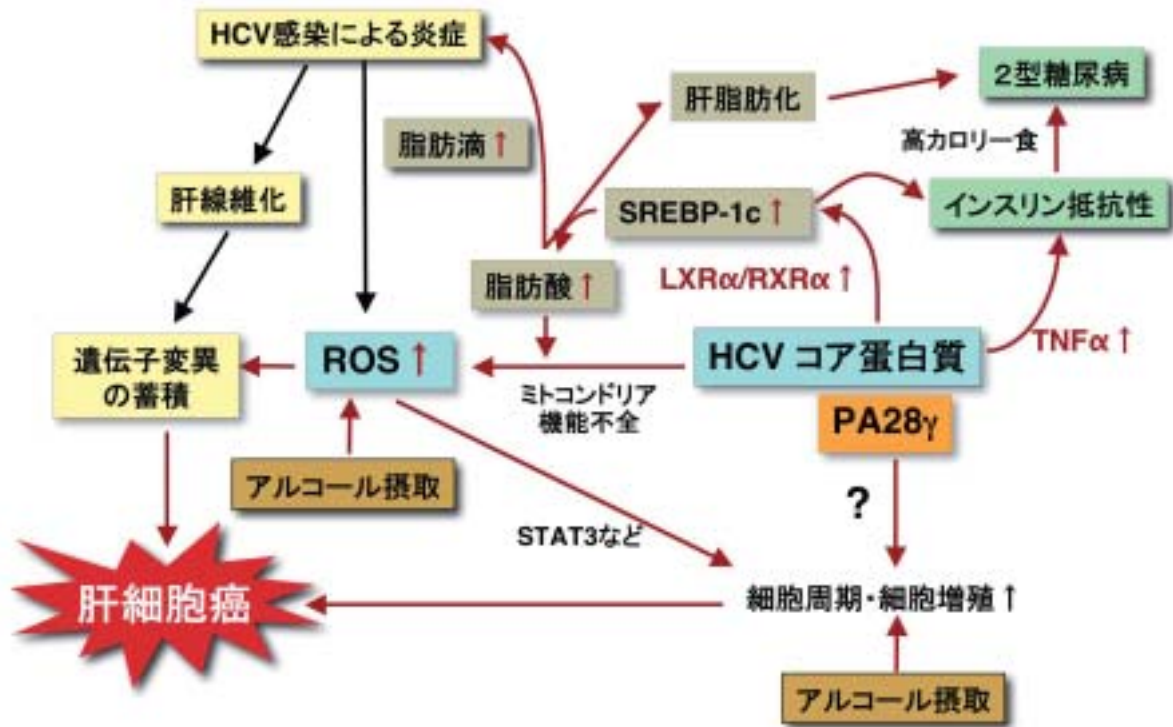


図4 HCV コア蛋白質によるインスリン抵抗性, 脂肪肝, および肝細胞癌の誘導

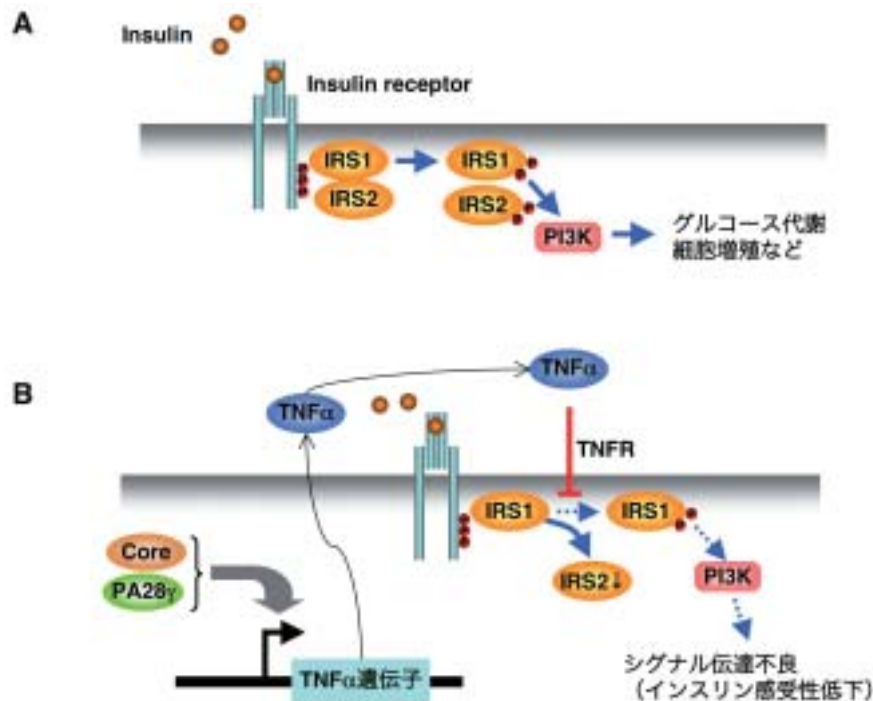


図5 HCV コア蛋白質によるインスリン抵抗性獲得

(A) インスリンが受容体に結合すると、下流のアダプター分子である Insulin receptor substrate (IRS)-1 および IRS-2 がリン酸化され、IP3 キナーゼが活性化される。(B) コア蛋白質の発現によって、TNF $\alpha$  の産生が転写レベルで増強される。産生された TNF $\alpha$  がインスリン刺激による IRS-1 のチロシンリン酸化と IRS-2 の発現を抑制し、結果的に IP3 キナーゼ下流の Akt のリン酸化も低下し、下流へのシグナル伝達が抑制される。

リン刺激による IRS-1 のチロシンリン酸化と IRS-2 の発現が抑制され, IP3 キナーゼ下流の Akt のリン酸化も低下し, 下流へのシグナル伝達が抑制されていた. さらに, TNF  $\alpha$  の産生が転写レベルで増強されていた<sup>17)</sup> (図 5B). これまでに, 我々はコア蛋白質と結合する宿主プロテアソーム活性化蛋白質 PA28  $\gamma$  を報告しており, この PA28  $\gamma$  遺伝子をコアトランスジェニックマウスからノックアウトすると, インスリン抵抗性や脂肪肝だけでなく, 肝細胞癌の発症も完全に消失した<sup>17, 21)</sup>. PA28  $\gamma$  はコア蛋白質による病原性発現に大きく関わっているものと思われるが, その詳しい分子機構は未だ明らかになっていない.

### 5. 終わりに

C 型肝炎の病原性発現に深く関与しているコア蛋白質の機能は不明な点が多いが, HCV 感染による炎症は病理発生に必須と思われる. 臨床例からも, 必ずしも肝線維化が肝細胞癌発症に必須ではないが, 疫学的なデータによると肝線維化の進行度と肝細胞癌発症との間には強い相関がある. コア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスでは肝炎や肝線維化は認められずに, 脂肪肝を経て生後 16 ヶ月齢で肝細胞癌を発症するが, 臨床例と同様に炎症による線維化が進めば, より早く肝細胞癌が出現するのかもしれない. また, コア蛋白質の病原性発現における PA28  $\gamma$  の関与は不明な点が多く, ウイルス複製への役割も含めて, 今後の研究の進展が待たれる. また, コア蛋白質が DRM へ局在する意義も未だ不明であるが, 少なくとも脂質成分とウイルスの増殖の関連は深く, ウイルスのアセンブリーにおける脂質成分の重要性を今後明らかにしていく必要がある. HCV の感染・増殖, および病原性発現の詳細な分子機構が解明されれば, C 型肝炎治療薬の開発ばかりでなく, 細胞生物学へも大きく寄与できるものと思われる.

### 文 献

- 1) Aizaki, H., Lee, K. J., Sung, V. M., Ishiko, H., and Lai, M. M.: Characterization of the hepatitis C virus RNA replication complex associated with lipid rafts. *Virology* 324(2), 450-461, 2004.
- 2) Aizaki, H., Morikawa, K., Fukasawa, M., Hara, H., Inoue, Y., Tani, H., Saito, K., Nishijima, M., Hanada, K., Matsuura, Y., Lai, M. M., Miyamura, T., Wakita, T., and Suzuki, T.: Critical role of virion-associated cholesterol and sphingolipid in hepatitis C virus infection. *J. Virol.* 82(12), 5715-24, 2008.
- 3) Blanchard, E., Belouzard, S., Goueslain, L., Wakita, T., Dubuisson, J., Wychowski, C., and Rouille, Y.: Hepatitis C virus entry depends on clathrin-mediated endocytosis. *J. Virol.* 80(14), 6964-6972, 2006.
- 4) Caronia, S., Taylor, K., Pagliaro, L., Carr, C., Palazzo, U., Petrik, J., O'Rahilly, S., Shore, S., Tom, B. D., and Alexander, G. J.: Further evidence for an association between non-insulin-dependent diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 30(4), 1059-1063, 1999.
- 5) Codran, A., Royer, C., Jaeck, D., Bastien-Valle, M., Baumert, T. F., Kieny, M. P., Pereira, C. A., and Martin, J. P.: Entry of hepatitis C virus pseudotypes into primary human hepatocytes by clathrin-dependent endocytosis. *J. Gen. Virol.* 87(Pt 9), 2583-2593, 2006.
- 6) Gao, L., Aizaki, H., He, J. W., and Lai, M. M.: 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(7), 3480-3488, 2004.
- 7) Gosert, R., Egger, D., Lohmann, V., Bartenschlager, R., Blum, H. E., Bienz, K., and Moradpour, D.: Identification of the hepatitis C virus RNA replication complex in Huh-7 cells harboring subgenomic replicons. *J. Virol.* 77(9), 5487-5492, 2003.
- 8) Hope, R. G., McElwee, M. J., and McLauchlan, J.: Efficient cleavage by signal peptide peptidase requires residues within the signal peptide between the core and E1 proteins of hepatitis C virus strain J1. *J. Gen. Virol.* 87(Pt 3), 623-627, 2006.
- 9) Koike, K.: Hepatocarcinogenesis in hepatitis viral infection: lessons from transgenic mouse studies. *J. Gastroenterol.* 37 Suppl 13, 55-64, 2002.
- 10) Koike, K., Tsutsumi, T., Miyoshi, H., Shinzawa, S., Shintani, Y., Fujie, H., Yotsuyanagi, H., and Moriya, K.: Molecular basis for the synergy between alcohol and hepatitis C virus in hepatocarcinogenesis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 23 Suppl 1, S87-91, 2008.
- 11) Lemberg, M. K., and Martoglio, B.: Requirements for signal peptide peptidase-catalyzed intramembrane proteolysis. *Mol. Cell* 10(4), 735-744, 2002.
- 12) Marsh, M., and Helenius, A.: Virus entry: open sesame. *Cell* 124(4), 729-740, 2006.
- 13) Mason, A. L., Lau, J. Y., Hoang, N., Qian, K., Alexander, G. J., Xu, L., Guo, L., Jacob, S., Regenstein, F. G., Zimmerman, R., Everhart, J. E., Wasserfall, C., Maclaren, N. K., and Perrillo, R. P.: Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 29(2), 328-333, 1999.
- 14) Matto, M., Rice, C. M., Aroeti, B., and Glenn, J. S.: Hepatitis C virus core protein associates with detergent-resistant membranes distinct from classical plasma membrane rafts. *J. Virol.* 78(21), 12047-12053, 2004.
- 15) McLauchlan, J., Lemberg, M. K., Hope, G., and Martoglio, B.: Intramembrane proteolysis promotes trafficking of hepatitis C virus core protein to lipid droplets. *EMBO J.* 21(15), 3980-3988, 2002.
- 16) Meertens, L., Bertaux, C., and Dragic, T.: Hepatitis C Virus entry requires a critical post-internalization step and delivery to early endosomes via clathrin coated vesicles. *J. Virol.*, 2006.
- 17) Miyamoto, H., Moriishi, K., Moriya, K., Murata, S., Tanaka, K., Suzuki, T., Miyamura, T., Koike, K., and Matsuura, Y.: Involvement of PA28 $\gamma$ -Dependent Pathway in Insulin Resistance Induced by Hepatitis C Virus Core Protein. *J. Virol.* 81(4), 1727-1735, 2007.
- 18) Miyanari, Y., Atsuzawa, K., Usuda, N., Watashi, K.,

- Hishiki, T., Zayas, M., Bartenschlager, R., Wakita, T., Hijikata, M., and Shimotohno, K.:The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat. Cell Biol.* 9(9), 1089-1097, 2007.
- 19) Moriishi, K., and Matsuura, Y.:Host factors involved in the replication of hepatitis C virus. *Rev. Med. Virol.* 17(5), 343-354, 2007.
  - 20) Moriishi, K., and Matsuura, Y.:Pathogenesis of hepatitis C virus. *Uirusu* 57(2), 141-149, 2007.
  - 21) Moriishi, K., Mochizuki, R., Moriya, K., Miyamoto, H., Mori, Y., Abe, T., Murata, S., Tanaka, K., Miyamura, T., Suzuki, T., Koike, K., and Matsuura, Y.:Critical role of PA28gamma in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(5), 1661-1666, 2007.
  - 22) Moriya, K., Nakagawa, K., Santa, T., Shintani, Y., Fujie, H., Miyoshi, H., Tsutsumi, T., Miyazawa, T., Ishibashi, K., Horie, T., Imai, K., Todoroki, T., Kimura, S., and Koike, K.:Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res.* 61(11), 4365-4370, 2001.
  - 23) Moriya, K., Yotsuyanagi, H., Shintani, Y., Fujie, H., Ishibashi, K., Matsuura, Y., Miyamura, T., and Koike, K.:Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *J. Gen. Virol.* 78 ( Pt 7), 1527-1531, 1997.
  - 24) Nomura, R.:Caveolar endocytosis and virus entry. *Uirusu* 55(1), 19-26, 2005.
  - 25) Ogino, T., Fukuda, H., Imajoh-Ohmi, S., Kohara, M., and Nomoto, A.:Membrane binding properties and terminal residues of the mature hepatitis C virus capsid protein in insect cells. *J. Virol.* 78(21), 11766-11777, 2004.
  - 26) Okamoto, K., Mori, Y., Komoda, Y., Okamoto, T., Okochi, M., Takeda, M., Suzuki, T., Moriishi, K., and Matsuura, Y.:Intramembrane processing by signal peptide peptidase regulates the membrane localization of hepatitis C virus core protein and viral propagation. *J. Virol.* 82(17), 8349-8361, 2008.
  - 27) Okamoto, K., Moriishi, K., Miyamura, T., and Matsuura, Y.:Intramembrane proteolysis and endoplasmic reticulum retention of hepatitis C virus core protein. *J. Virol.* 78(12), 6370-6380, 2004.
  - 28) Pelkmans, L.:Secrets of caveolae- and lipid raft-mediated endocytosis revealed by mammalian viruses. *Biochim. Biophys. Acta.* 1746(3), 295-304, 2005.
  - 29) Pelkmans, L., Puntener, D., and Helenius, A.:Local actin polymerization and dynamin recruitment in SV40-induced internalization of caveolae. *Science* 296(5567), 535-539, 2002.
  - 30) Shi, S. T., Lee, K. J., Aizaki, H., Hwang, S. B., and Lai, M. M.:Hepatitis C virus RNA replication occurs on a detergent-resistant membrane that cofractionates with caveolin-2. *J. Virol.* 77(7), 4160-4168, 2003.
  - 31) Shintani, Y., Fujie, H., Miyoshi, H., Tsutsumi, T., Tsukamoto, K., Kimura, S., Moriya, K., and Koike, K.:Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology* 126(3), 840-848, 2004.
  - 32) Suzuki, R., Sakamoto, S., Tsutsumi, T., Rikimaru, A., Tanaka, K., Shimoike, T., Moriishi, K., Iwasaki, T., Mizumoto, K., Matsuura, Y., Miyamura, T., and Suzuki, T.:Molecular determinants for subcellular localization of hepatitis C virus core protein. *J. Virol.* 79(2), 1271-81, 2005.
  - 33) Tsutsumi, T., Suzuki, T., Moriya, K., Shintani, Y., Fujie, H., Miyoshi, H., Matsuura, Y., Koike, K., and Miyamura, T.:Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice. *Hepatology* 38(4), 820-828, 2003.
  - 34) Wolfe, M. S., and Kopan, R.:Intramembrane proteolysis: theme and variations. *Science* 305(5687), 1119-1123, 2004.

## **Processing and pathogenicity of HCV core protein**

**Kohji MORIISHI, Yoshio MORI, and Yoshiharu MATSUURA**

Department of Molecular Virology, Research Institute for Microbial Diseases  
Osaka University, 3-1, Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

Hepatitis C virus (HCV) is a major causative agent of blood-borne hepatitis. Most of the HCV-positive individuals have been chronically infected with the virus for decades, leading to development of steatosis, cirrhosis and ultimately hepatocellular carcinoma. In addition, cryoglobulinemia and type 2 diabetes mellitus are associated with a chronic infection with HCV. Hepatocellular carcinoma induced by HCV infection is not caused by only the repeated inflammations but also the biological activity of HCV proteins. HCV core protein has been reported as a component of the viral nucleocapsid as well as the pathogenic factor that could induce the production of oxidative stress and progression of cell growth. In this review, we summarize the current status of our knowledge regarding to the processing and pathogenicity of HCV core protein.