

5. C型肝炎ウイルス感染におけるリポ蛋白質 およびアポリポ蛋白質の役割

福原 崇介, 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) の慢性感染は脂質代謝異常を惹起するが、HCV が効率よく感染し増殖するために、脂質代謝系を様々な局面で利用していることが明らかになってきている。血清中の HCV 粒子は中性脂肪やコレステロールを多く含み、様々なリポ蛋白質と結合して、Lipoviroparticles と呼ばれている。ウイルス粒子に結合したリポ蛋白質は、それらの受容体である SR-B1 や LDLR を利用して、HCV の細胞への侵入にも関与している。さらに、ヌクレオキャプシド形成の足場として細胞質内の脂肪滴を利用することが報告されており、小胞体内腔に出芽したウイルス粒子は、両親媒性のヘリックス構造を持つアポリポ蛋白質 (Exchangeable Apolipoproteins) を纏って、細胞外へ放出されることが明らかになっている。このように、HCV は感染環の様々なステップで、脂質代謝系、特にリポ蛋白質の輸送系をハイジャックしながら持続感染していると考えられる。本稿では、我々の成績を中心にして、HCV 感染における脂質代謝系の役割を検証し、感染指向性や創薬標的の可能性について考察する。

1. はじめに

C型肝炎ウイルス (HCV) の慢性感染は肝線維化や肝細胞癌のみならず、脂肪肝や脂質代謝異常を引き起こすことが知られている。一方、HCV の感染環を評価しうる実験系の開発により、HCV が様々なステップで脂質代謝系を利用することによって、肝細胞における効率良い増殖を可能にしていることが明らかになってきた¹⁻⁵⁾。HCV の侵入に必須な受容体である SR-B1 や LDLR はそれぞれ HDL および LDL の受容体でもあることが知られている⁶⁻⁹⁾。さらに、ウイルスのコア粒子の産生においては、脂肪滴を足場として利用することが知られている¹⁰⁾。また、小胞体内腔における感染性粒子産生にはアポリポ蛋白質が重要な

役割を演じていることが報告されている¹¹⁻¹³⁾。本稿では HCV が効率的な感染増殖を可能にするために脂質代謝系を利用する機構を概説し、最近得られた筆者らの知見も含めて考察する。

2. HCV 粒子とリポ蛋白質および アポリポ蛋白質の相互作用

臨床検体を用いた検討や、in vitro の感染系による解析によって、HCV 粒子とリポ蛋白質またはアポリポ蛋白質が相互作用していることが報告されてきたが、ウイルス粒子の形態や感染性におけるそれらの役割には未だ不明な点が多い¹⁴⁾。Thomssen らは、C型慢性肝炎患者の血清中でリポ蛋白質が HCV 粒子と直接結合していることを最初に見出した¹⁵⁾。最近では、リポ蛋白質と相互作用している HCV 粒子のことは Lipoviroparticles (LVPs) と称され、LDL や VLDL と近い比重の HCV 粒子は感染性が高いことから、リポ蛋白質との相互作用は HCV の高い感染性に関与することが示唆されている¹⁶⁻¹⁸⁾。さらに、精製したウイルス粒子の脂質組成を解析したところ、他のウイルス粒子と異なり、HCV 粒子は VLDL や LDL と組成が似ていることが明らかになった¹⁹⁾。また、C型慢性肝炎患者における血中の LDL コレステロール値は、HCV 量と相関する事も知られている²⁰⁾。以上のことから、HCV は LVPs を

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: fukut@biken.osaka-u.ac.jp

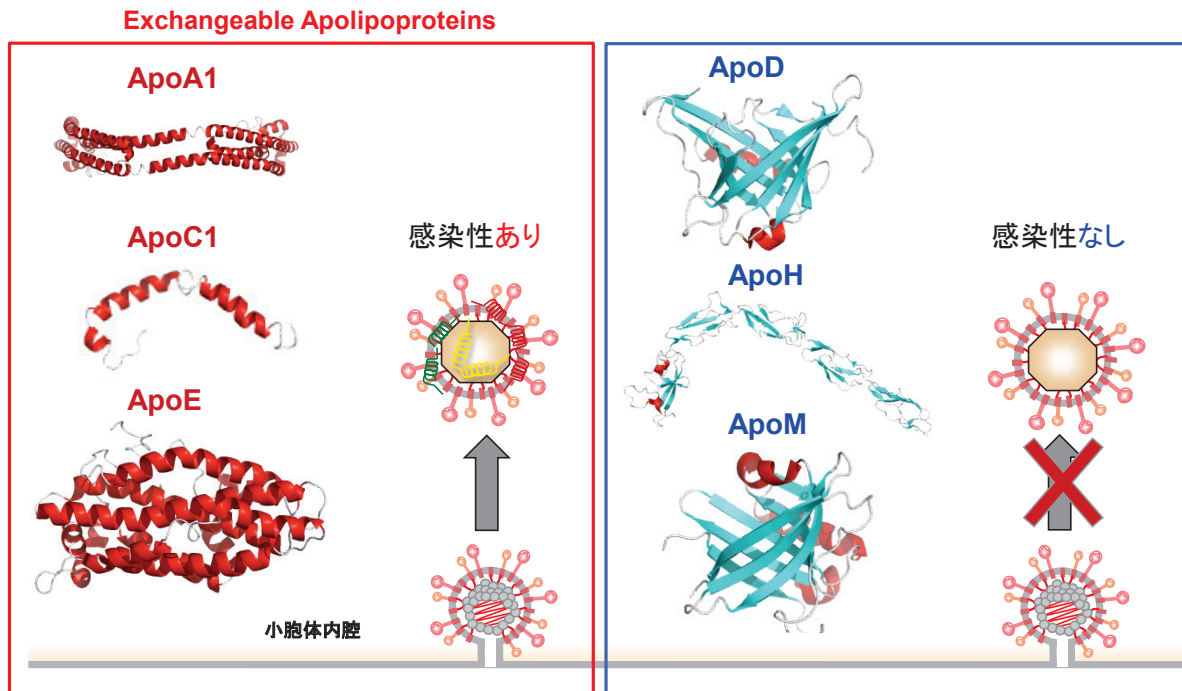


図1 アポリポ蛋白質の両親媒性ヘリックスが HCV の粒子産生に重要である

産生するために体内のコレステロール輸送経路を利用していると考えられる。逆に、HCV 粒子からコレステロールを除去したり、中性脂肪を分解することで、HCV 粒子の密度が変化し、感染性が顕著に低下することも示されている²¹⁻²⁴。また、別の報告ではリポ蛋白質が HCV 粒子に結合することによって、中和抗体のエンベロップ蛋白質へのアクセスを阻害していることも報告されている²⁵。以上の成績から、HCV は脂質を利用することで高い感染性を得るのみならず、宿主の免疫応答からも逃避している可能性が考えられる。

しかし、LVPs とアポリポ蛋白質の結合に関しては、*in vitro* での解析と患者検体の解析の間でも異なる成績が報告されてきた。慢性 C 型肝炎患者やチンパンジー由来血清中の HCV や初代肝細胞から産生された HCV には ApoA, ApoB, ApoC, そして、ApoE 等の様々のアポリポ蛋白質が結合していることが報告されてきた²⁶。一方、*in vitro* の肝癌細胞株由来の HCV には ApoB や ApoE のみが結合していることが報告されてきた¹³。最近、我々は、実際の肝細胞と比較し、肝癌細胞株では ApoA や ApoC の発現が顕著に低下していることを見出し、肝細胞株においても、ApoA, ApoB, ApoC および ApoE が相補的に HCV の粒子形成に寄与していることを明らかにした²⁷。興味深いことに、HCV 粒子に ApoC や HDL を処理することによって、その感染性や ApoC1 抗体による中和活性が変化することが報告され、細胞外でアポリポ蛋白質がその結合能により入れ替わることが示唆される²⁸。実際にリポ蛋

白質表面でもその密度によってアポリポ蛋白質が入れ替わることが知られており、HCV 粒子がコレステロール輸送系を利用している結果の一端を見ているものと考えられる。

3. HCV の侵入における脂質代謝系の役割

HCV の受容体または結合因子としてヘパラン硫酸、CD81, SR-B1, および、LDLR が報告されていたが、シュートタイプ HCV の開発により、Claudin1 や Occludin がさらに同定された^{6,7,29-31}。また近年、JFH1 株を用いた *in vitro* 感染増殖系の開発により、新たに Niemann-Pick C1-like1 (NPC1L1) が受容体関連因子として報告された³²。興味深いことに、これらの HCV の侵入に関わる宿主因子の中には脂質に関与する因子である SR-B1, LDLR, そして、NPC1L1 が含まれる。SR-B1 は HDL, LDLR は LDL の受容体として、また、NPC1L1 はコレステロールのトランスポーターであることが知られている。これまでに、HCV 粒子に結合するアポリポ蛋白質がヘパラン硫酸、SR-B1, および、LDLR 依存的な吸着または細胞侵入に関与していることが報告されている³³⁻³⁶。特に、*in vitro* の感染増殖系を用いた検討では、ApoE 抗体の処理によって、これらの受容体依存的な侵入が阻害されることが示されてきた^{34,35}。しかし、近年の報告では、ApoE 抗体の処理は SR-B1 や LDLR 依存的な侵入に関与しないという報告もなされ、ウイルス粒子表面のアポリポ蛋白質と HCV 受容体の関連には未だ不明瞭な点も多く、今後の詳細な解析が

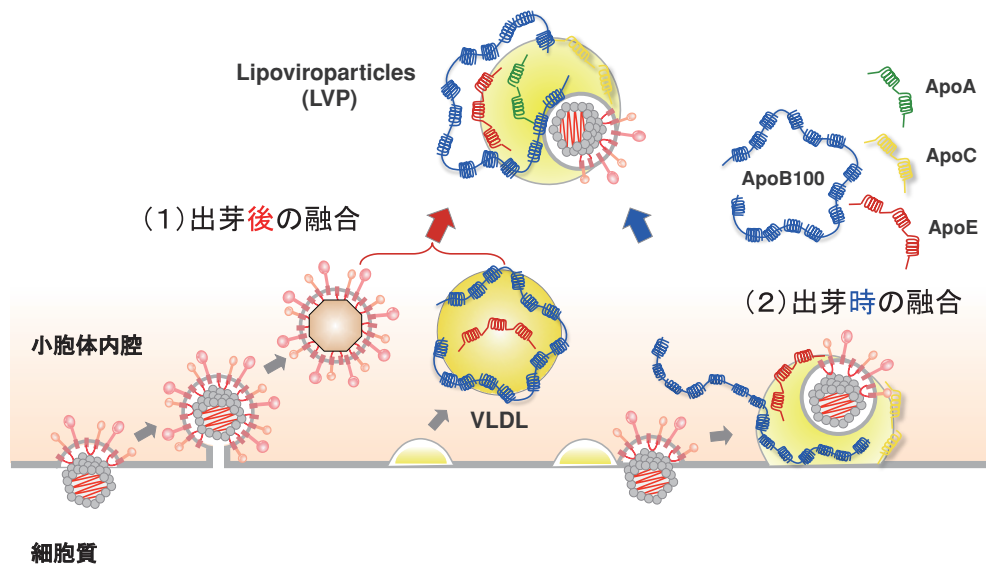


図2 リポ蛋白質産生系を利用した感染性 HCV 粒子の産生

待たれる。

4, HCV の感染性粒子産生には様々なアポリポ蛋白質が相補的に関与する

アポリポ蛋白質と感染性 HCV 粒子産生の関与に関する検討は、Huh7 細胞のみならず非肝臓系細胞株である HEK293T や Caco2 細胞を用いて広く解析されてきた^{12,13,37-40)}。患者血清中の HCV 粒子の密度が VLDL に近いことから、多くのグループが VLDL の主たる構成因子である ApoB や ApoE、さらに、VLDL の産生に必須な因子である MTP を中心に、HCV 粒子形成における役割が解析されてきた^{12,13,38)}。最初の報告では、ApoB のノックダウンや MTP の阻害剤の処理によって、感染性 HCV 粒子の産生が抑制されたことから、VLDL 産生機構が感染性 HCV 粒子形成に重要な役割を演じていることが示唆された¹²⁾。しかしながら、他グループによる解析では、ApoB の関与は少なく、主に ApoE が HCV 粒子産生に関わることが報告され、非肝臓系細胞である HEK293T 細胞においても ApoE を発現させることによって感染性粒子の産生が認められたことから、ApoB よりもむしろ ApoE が HCV 粒子形成機構に関わる主な宿主因子であると考えられるようになった^{13,39)}。我々は、アポリポ蛋白質の関与をより詳細に解析するため、ApoB および ApoE のダブルノックアウト Huh7 細胞を作製し、感染性 HCV 粒子の産生効率を比較検討した²⁷⁾。その結果、ApoB および ApoE が小胞体内腔での感染性粒子産生を相補的に正に制御していることが明らかになった。また、検討に用いた Huh7 細胞では実際の肝細胞と比較し、ApoA および ApoC の発現量が顕著に低かったことから、それらも同様な機能を持つかどうかを明らかにするために、ApoB および ApoE のダブルノックアウト細胞に ApoA および ApoC を発現させ、HCV

の粒子産生を検討したところ、ApoA や ApoC も同様に HCV の粒子産生を正に制御することが判明した。この結果は、慢性肝炎患者の血清中では ApoB や ApoE のみならず ApoA や ApoC がウイルス粒子に結合していることとつじつまが合う。

次に我々は、どのような機構でアポリポ蛋白質が HCV 粒子に結合しているかの検討を行った²⁷⁾。ApoA, ApoC, および ApoE は、Exchangeable Apolipoproteins と呼ばれ、リポ蛋白質の密度やサイズによってその親和性が変化し、それぞれが入れ替わることが知られている。Exchangeable Apolipoproteins は連続した両親媒性のヘリックス構造を持ち、ヘリックスの疎水性面がリポ蛋白質表面と結合することでリポ蛋白質に親水性と安定性を付与している。ApoC や ApoE の欠損変異体を作製することによって、HCV 粒子の成熟においてもアポリポ蛋白質の両親媒性ヘリックスが重要な役割を演じていることが示された (図 1)。また最近、アポリポ蛋白質のヘリックス内に変異を導入することによって HCV 粒子産生への関与が失われることも報告された⁴²⁾。以上の成績から、アポリポ蛋白質は両親媒性アルファヘリックスを介してウイルス粒子の脂質膜表面に結合することで、HCV 粒子は感染性を獲得すると考えられる。

これまでの結果を考慮すると、感染性 HCV 粒子の産生機構として、図 2 に示す如く 2 種類のモデルが考えられる。一つ目は小胞体内腔にエンベロープを被った粒子が産生された後に VLDL と融合することによって LVPs が形成されるものである。もう一つのモデルとしては、VLDL の産生機構を HCV が利用する形で小胞体内腔に分泌される機構が予想される。これまでの検討では、これらのモデルのどちらが正しいかを明らかにされていないが、HCV が粒子

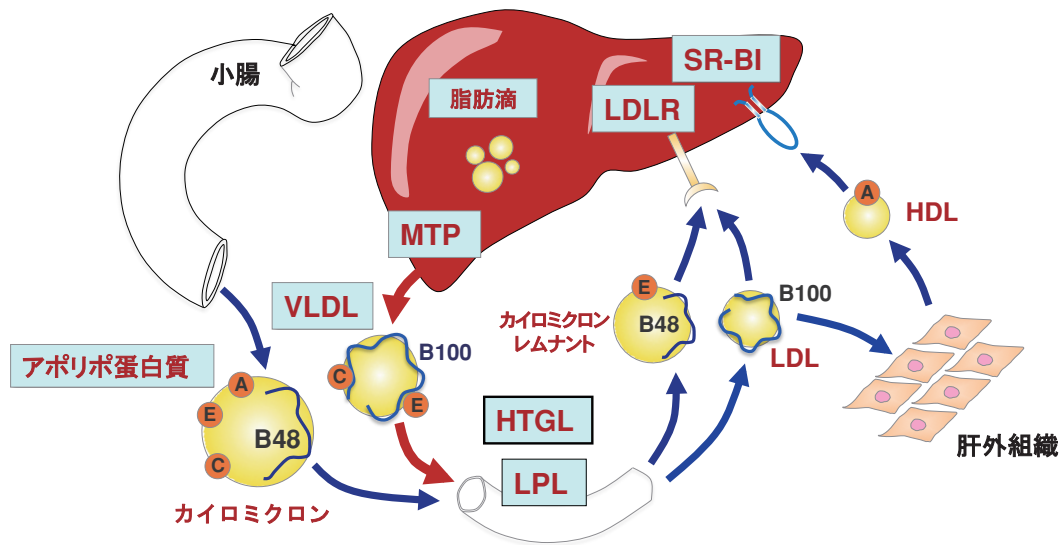


図3 リポ蛋白質の体内動態

の安定性や親水性を獲得するためにリポ蛋白質産生機構をハイジャックしていると考えられる。

5. HCV による脂質代謝系やリポ蛋白質輸送系のハイジャック

上述の如く、HCVは効率的な感染のために脂質代謝系の様々な側面を利用していることがわかる(図3)。①リポ蛋白質の脂質成分の由来である脂肪滴はHCVのコア粒子形成の足場になる¹⁰⁾。②HCV粒子に含まれる中性脂肪やコレステロールが感染性に重要である²¹⁻²³⁾。③ApoBの産生に必須なMTPがHCVの粒子産生にも重要である^{12,38)}。④VLDLの輸送に関与するCOP II輸送系がHCVの輸送にも重要である⁴³⁾。⑤ゴルジ体でのエンベロープの糖鎖付加が感染性に重要である⁴⁴⁾。⑥Exchangeable Apolipoproteinsが相補的にHCV粒子産生を正に制御している²⁷⁾。⑦Lipoprotein Lipase (LPL)によりHCV粒子の形態が変化し、感染性に影響する²⁴⁾。⑧LDLRやSR-BIが受容体候補分子としてHCVの細胞侵入に重要である^{6,7)}。以上のことから、HCVは感染環における様々なステップで脂質代謝系を利用していることが明らかであり、その脂質代謝系への依存性がHCV感染の肝臓指向性を規定する一つの要因と考えられている。

6. 脂質代謝系のHCV感染指向性への関与(図4)

HCV感染の種特異性はヒトとチンパンジーに限定されるが、CD81とOccludinをヒト型にすることによって、in vitroでもin vivoでもHCVがマウスに感染性を示すようになることから、これらの受容体がHCVの種特異性を規定すると考えられている⁴⁵⁾。肝臓指向性を規定するmiR-

122やアポリポ蛋白質はマウス由来でもHCV感染をサポートすることから、種特異性と臓器特異性は全く異なる機構で決定されていることがわかる^{46,47)}。miR-122は肝臓特異的に発現するマイクロRNAであり、HCVゲノムの複製効率を増強することから肝臓指向性を規定する因子の一つである⁴⁸⁾。一方、Exchangeable Apolipoproteinsも肝臓で発現が高く、肝臓での効率的な粒子形成に寄与している⁴⁹⁾。しかしながら、小腸等の肝外組織の中にもいずれかのアポリポ蛋白質の発現が高い組織もあり、HCV感染を許容しうる組織が肝臓以外にもある可能性があるが、その詳細は明らかではない。興味深いことに、Fletcherらは神経細胞でHCVが増殖していることを報告しており、単核球におけるHCV増殖の可能性を示唆する報告もある⁵⁰⁾。慢性C型肝炎患者では悪性リンパ腫や自己免疫性疾患等の肝外病変を合併することも知られており、個体におけるHCV感染の指向性や病原性発現機構をさらに詳細に解析することが重要である⁵¹⁾。

7. 脂質を標的とした抗HCV治療の可能性

遺伝子型1のC型慢性肝炎患者に対しては、長くペグインターフェロンとリバビリンによる治療が行われ、約50%程度のウイルス排除率であったが、近年ウイルス蛋白質を標的とした治療薬(Direct Acting Antivirals, DAAs)が開発され臨床に用いられるようになると、90%を超える患者でウイルス排除が可能になってきた^{52,53)}。しかしながら、ウイルス蛋白質を標的としているため、耐性ウイルスの出現を考慮する必要があるだけでなく、治療薬が非常に高価であることも大きな問題となっている^{54,55)}。一方で、高脂血症等の脂質代謝疾患の患者は多く、すでに脂質を標

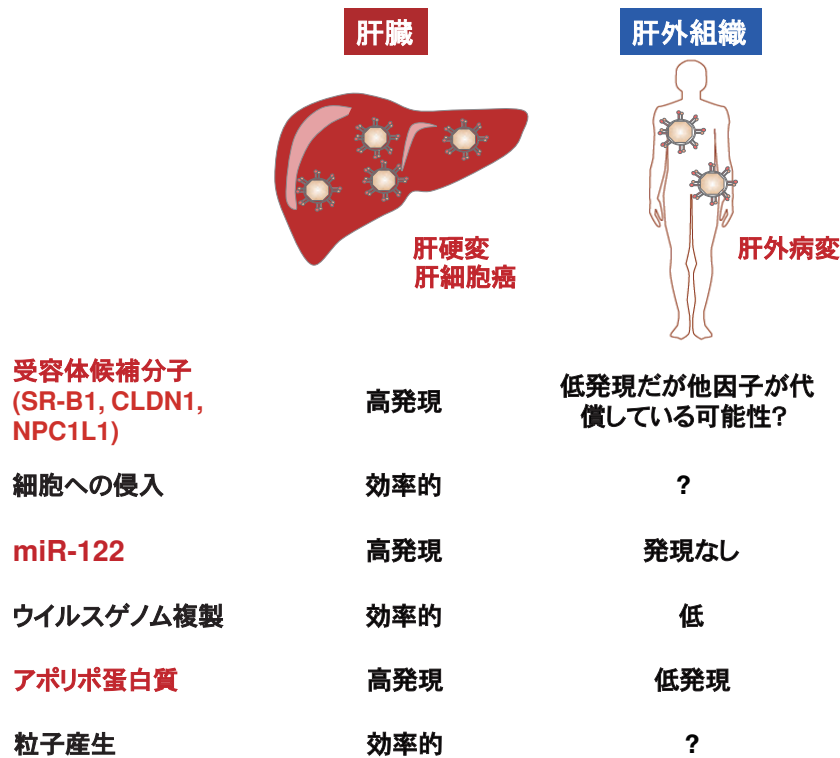


図4 HCVの感染指向性に関わる宿主因子

的とした多くの薬剤が用いられていることから、それらの薬剤の中から抗HCV活性のあるものを探索するのも戦略の一つと考えられている⁵⁶⁾。これまでに、HMG-CoA reductaseの阻害剤であるスタチンはin vitroの評価でHCVゲノムの複製を抑制することが示され、臨床試験においても他剤との併用により抗HCV活性があることが明らかになってきた⁵⁷⁻⁵⁹⁾。また、HCVが脂質代謝系をハイジャックしていることを考慮すると、脂質代謝を抑制するような薬剤はHCVの増殖も抑制する可能性がある。HDLの受容体でありHCVの侵入にも関与する因子であるSR-B1に対する抗体はHCVのエントリー阻害剤として期待されている。

8. おわりに

HCVはリポ蛋白質の体内動態を利用することが明らかになってきた。小胞体内腔でのリポ蛋白質産生機構が感染性ウイルスの成熟化に必須であるし、血中においてもLVPsを形成することで安定性を獲得するのみならず、免疫からの回避にも関与することが示唆されており、細胞侵入にもウイルス粒子中の脂質が関与している。しかしながら、そのメカニズムは不明な点も多く残されており、今後のさらなる研究が必要である。Exchangeable Apolipoproteinsの発現は肝臓で高発現であり、肝臓での粒子産生において重

要であることは間違いがないが、アポリポ蛋白質と同様の機能を持つ宿主因子が他にある可能性があり、その分子の同定は他の組織におけるHCV感染感受性を明らかにすることができる。また、他のフラビウイルス科のウイルスがHCVと同様に脂質代謝系に関与しているのかという点も非常に興味深い点である。

参考文献

- 1) Lohmann V, Korner F, Koch JO, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R.: Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 285, 110-113, 1999.
- 2) Bartosch B, Dubuisson J, Cosset FL.: Infectious hepatitis C virus pseudo-particles containing functional E1-E2 envelope protein complexes. *J. Exp. Med.* 197, 633-642, 2003.
- 3) Tani H, Komoda Y, Matsuo E, Suzuki K, Hamamoto I, Yamashita T, Motiishi K, Fujiyama K, Kanto T, Hayashi N, Owsianka A, Patel AH, Whitt MA, Matsuura Y.: Replication-competent recombinant vesicular stomatitis virus encoding hepatitis C virus envelope proteins. *J. Virol.* 81, 8601-8612, 2007.
- 4) 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.
- 5) Lindenbach BD, Evans MJ, Syder AJ, Wolk B, Tellinghuisen TL, Liu CC, Maruyama T, Hynes RO, Burton DR, McKeating JA, Rice CM.: Complete replication of hepatitis C virus in cell culture. *Science* 309, 623-626, 2005.
 - 6) Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, Roccasecca RM, Acali S, Filocamo G, Traboni C, Nicosia A, Cortese R, Vitelli A.: The human scavenger receptor class B type 1 is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J.* 21, 5017-5025, 2002.
 - 7) Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX.: Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96, 12766-12771, 1999.
 - 8) Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M.: Identification of scavenger receptor SR-B1 as a high density lipoprotein receptor. *Science* 271, 518-520, 1996.
 - 9) Yamamoto T, Davis CG, Brown MS, Schneider WJ, Casey ML, Goldstein JL, Russell DW.: The human LDL receptor: A cysteine-rich protein with multiple sequences in its mRNA. *Cell* 39, 27-38, 1984.
 - 10) Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, Watashi K, Hishiki T, Zayas M, Bartenschlager R, Wakita T, Hijikata M, Shimotohno K.: The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat. Cell Biol.* 9, 961-969, 2007.
 - 11) Fukuhara T, Matsuura Y.: Role of miR-122 and lipid metabolism in HCV infection. *J. Gastroenterol.* 48, 169-176, 2013.
 - 12) Huang H, Sun F, Owen DM, Li W, Chen Y, Gale Jr M, Ye J.: Hepatitis C virus production by human hepatocytes dependent on assembly and secretion of very low-density lipoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 5848-5853, 2007.
 - 13) Chang KS, Jiang J, Cai Z, Luo G.: Human apolipoprotein E is required for infectivity and production of hepatitis C virus in cell culture. *J. Virol.* 81, 13783-13793, 2007.
 - 14) Felmler DJ, Hafirassou ML, Lefevre M, Baumert TF, Schuster C.: Hepatitis C Virus, Cholesterol and lipoproteins - Impact for the viral life cycle and pathogenesis of liver diseases. *Viruses* 5, 1292-1324, 2013.
 - 15) Thomssen R, Bonk S, Propfe C, Heermann KH, Kochel HG, Uy A.: Association of hepatitis C virus in human sera with beta-lipoprotein. *Med. Microbiol. Immunol.* 181, 293-300, 1992.
 - 16) Andre P, Komurian-Pradel F, Deforges S, Perret M, Berland JL, Sodoyer M, Pol S, Brechot C, Paranhos-Baccala G, Lotteau V.: Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. *J. Virol.* 76, 6919-6928, 2002.
 - 17) Gastaminza P, Kapadia SB, Chisari FV.: Differential biophysical properties of infectious intracellular and secreted hepatitis C virus particles. *J. Virol.* 80, 11074-11081, 2006.
 - 18) Gastaminza P, Dryden KA, Boyd B, Wood MR, Law M, Yeager M, Chisari FV.: Ultrastructural and biophysical characterization of hepatitis C virus particles produced in cell culture. *J. Virol.* 84, 10999-11009, 2010.
 - 19) Merz A, Long G, Hiet MS, Brugger B, Chlanda P, Andre P, Wieland F, Krijnse-Locker J, Bartenschlager R.: Biochemical and morphological properties of hepatitis C virus particles and determination of their liposome. *J. Biol. Chem.* 286, 3018-3032, 2011.
 - 20) Felmler DJ, Sheridan DA, Bridge SH, Nielsen SU, Milne RW, Packard CJ, Caslake MJ, Mclauchlan J, Toms GL, Neely RD, Bassendine MF.: Intravascular transfer contributes to postprandial increase in numbers of very-low-density hepatitis C virus particles. *Gastroenterology* 139, 1774-1783, 2010.
 - 21) Shimizu Y, Hishiki T, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Kato A, Ohsaki Y, Fujimoto T, Takaku H, Shimotohno K.: Lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase reduce the infectivity of hepatitis C virus (HCV) through their catalytic activities on HCV-associated lipoproteins. *Virology* 407, 152-159, 2010.
 - 22) Aizaki H, Morikawa K, Fukasawa M, Hara H, Inoue Y, Tani H, Saito K, Nishijima M, Hanada K, Matsuura Y, Lai MMC, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T.: Critical role of virion-associated cholesterol and sphingolipid in hepatitis C virus infection. *J. Virol.* 82, 5715-5724, 2008.
 - 23) Yamamoto M, Aizaki H, Fukasawa M, Teraoka T, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T.: Structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. *J. Gen. Virol.* 92, 2082-2087, 2011.
 - 24) Andreo U, Maillard P, Kalinina O, Walic M, Meurs E, Martinot M, Marcellin P, Budkowska A.: Lipoprotein lipase mediates hepatitis C virus (HCV) cell entry and inhibits HCV infection. *Cell. Microbiol.* 9, 2445-2456, 2007.
 - 25) Catanese MT, Uryu K, Kopp M, Edwards TJ, Andrus L, Rice WJ, Silverstry M, Kuhn RJ, Rice CM.: Ultrastructural analysis of hepatitis C virus particles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 9505-9510, 2013.
 - 26) Meunier JC, Russell RS, Engle RE, Faulk KN, Purcell RH, Emerson SU.: Apolipoprotein C1 association with hepatitis C virus. *J. Virol.* 82, 9647-9656, 2008.
 - 27) Fukuhara T, Wada M, Nakamura S, Ono C, Shiokawa M, Yamamoto S, Motomura T, Okamoto T, Okuzaki D, Yamamoto M, Saito I, Wakita T, Koike K, Matsuura Y.: Amphipathic α -helices in apolipoproteins are crucial for the formation of infectious hepatitis C virus particles. *PLoS Pathog.* 10, e1004534, 2014.
 - 28) Dreux M, Boson B, Ricard-Blum S, Molle J, Lavillette D, Bartosch B, Pecheur EI, Cosset FL.: The exchangeable apolipoprotein ApoC-1 promotes membrane fusion of hepatitis C virus. *J. Biol. Chem.* 282, 32357-32369, 2007.
 - 29) Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, Weiner AJ, Houghton M, Rosa D, Grandi G, Abrignani S.: Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 282, 938-941, 1998.
 - 30) Evans MJ, Hahn T, Tschernie DM, Syder AJ, Panis M, Wolk B, Hatziioannou T, McKeating JA, Bieniasz PD,

- Rice CM.: Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. *Nature* 446, 801-805, 2007.
- 31) Ploss A, Evans MJ, Gaysinskaya VA, Panis M, You H, de Jong YP, Rice CM.: Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature* 457, 882-886, 2009.
 - 32) Sainz Jr B, Barretto N, Martin DN, Hiraga N, Imamura M, Hussain S, Marsh KA, Yu X, Chayama K, Alrefei WA, Uprichard SL.: Identification of the Niemann-Pick C1-like 1 cholesterol absorption receptor as a new hepatitis C virus entry factor. *Nat. Med.* 18, 281-285, 2012.
 - 33) Owen DM, Huang Hm Ye J, Gale Jr M.: Apolipoprotein E on hepatitis C virion facilitates infection through interaction with low-density lipoprotein receptor. *Virology* 394, 99-108, 2009.
 - 34) Jiang J, Cun W, Wu X, Shi Q, Tang H, Luo G.: Hepatitis C virus attachment mediated by apolipoprotein E binding to cell surface heparan sulfate. *J. Virol.* 86, 7256-7267, 2012.
 - 35) Lefevre M, Felmlee DJ, Parnot M, Baumert TF, Schuster C.: Syndecan 4 is involved in mediating HCV entry through interaction with lipoviral particle-associated apolipoprotein E. *PLoS One* 9, e95550, 2014.
 - 36) Bankwitz D, Vieyres G, Hueging K, Bitzegeio J, Doepke M, Chhatwal P, Haid S, Catanese MT, Zeisel MB, Nicosia A, Baumert TF, Kaderali L, Pietschmann T.: Role of hypervariable region 1 for the interplay of hepatitis C virus with entry factors and lipoproteins. *J. Virol.* 88, 12644-12655, 2014.
 - 37) Hueging K, Doepke M, Vieyres G, Bankwitz D, Frenzzen A, Doerrbecker J, Gumz F, Haid S, Wolk B, Kaderali L, Pietschmann T.: Apolipoprotein E codetermines tissue tropism of hepatitis C virus and is crucial for viral cell-to-cell transmission by contributing to a postenvelopment step of assembly. *J. Virol.* 88, 1433-1446, 2014.
 - 38) Gastaminza P, Cheng G, Wieland S, Zhong J, Liao W, Chisari FV.: Cellular determinants of hepatitis C virus assembly, maturation, degradation, and secretion. *J. Virol.* 82, 2120-2129, 2008.
 - 39) Jiang J, Luo G.: Apolipoprotein E but not B is required for the formation of infectious hepatitis C virus particles. *J. Virol.* 83, 12680-12691, 2009.
 - 40) Steinmann E, Pietschmann T.: Cell culture systems for hepatitis C virus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 369, 17-48, 2013.
 - 41) Segrest JP, Jones MK, Loof HA, Brouillette CG, Venkatachalapathi YV, Anantharamaiah GM.: The amphipathic helix in the exchangeable apolipoproteins: a review of secondary structure and function. *J. Lipid Res.* 33, 141-166, 1992.
 - 42) Hueging K, Weller R, Doepke M, Vieyres G, Todt D, Wolk B, Vondran FWR, Geffers R, Lauber C, Kaderali L, Penin F, Pietschmann T.: Several human liver cell expressed apolipoproteins complement HCV virus production with varying efficacy conferring differential specific infectivity to released viruses. *PLoS One*, e0134529, 2015.
 - 43) Coller KE, Heaton NS, Berger KL, Cooper JD, Saunders JL, Randall G.: Molecular determinants and dynamics of hepatitis C virus secretion. *PLoS Pathog.* 8, e1002466, 2012.
 - 44) Falkowska E, Kajumo F, Garcia E, Reinus J, Dragic T.: Hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 glycans modulate entry, CD81 binding and neutralization. *J. Virol.* 81, 8072-8079, 2007.
 - 45) Ding Q, von Schaeuwen M, Ploss A.: The impact of hepatitis C virus entry on viral tropism. *Cell Host Microbe* 16, 562-568, 2014.
 - 46) Long G, Hiet MS, Windsch MP, Lee JY, Lohmann V, Bartenschlager R.: Mouse hepatic cells support assembly of infectious hepatitis C virus particles. *Gastroenterology* 141, 1057-1066, 2011.
 - 47) Frenzzen A, Anggakusuma, Gurlevik E, Hueging K, Knocke S, Ginkel C, Brown RJP, Heim M, Dill MT, Kroger A, Kalinke U, Kaderali L, Kuehnel F, Pietschmann T.: Cell entry, efficient RNA replication, and production of infectious hepatitis C virus progeny in mouse liver-derived cells. *Hepatology* 59, 78-88, 2014.
 - 48) Fukuhara T, Kambara H, Shiokawa M, Ono C, Katoh H, Morita E, Okuzaki D, Maehara Y, Koike K, Matsuura Y.: Expression of microRNA miR-122 facilitates an efficient replication in nonhepatic cells upon infection with hepatitis C virus. *J. Virol.* 86, 7918-7933, 2012.
 - 49) Fukuhara T, Ono C, Puig-Basagoiti F, Matsuura Y.: Roles of lipoproteins and apolipoproteins in particle formation of hepatitis C virus. *Trend Microbiol.* 23, 618-629, 2015.
 - 50) Fletcher NF, Wilson GK, Murray J, Hu K, Lewis A, Reynolds GM, Stamataki Z, Meredith LW, Rowe IA, Luo G, Lopez-Ramirez MA, Baumert TF, Weksler B, Couraud PO, Kim KS, Romero IA, Jopling C, Morgello S, Balfe P, McKeating JA.: Hepatitis C virus infects the endothelial cells of the blood-brain barrier. *Gastroenterology* 142, 634-643, 2012.
 - 51) Gumber SC, Chopra S.: Hepatitis C: A multifaceted disease, Review of extrahepatic manifestations. *Ann. Intern. Med.* 123, 615-620, 1995.
 - 52) Jacobson IM, McHutchinson JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy R, Bzowej NH, Marcellin P, Muir AJ, Ferenci P, Flisiak R, George J, Rizzetto M, Shouval D, Sola R, Terg RA, Yoshida EM, Adda N, Bengtsson L, Sankoh AJ, Kieffer TL, George S, Kauffman RS, Zeuzem S.: Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N. Engl. J. Med.* 364, 2405-2416, 2011.
 - 53) Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, Reddy KR, Hassanein T, Jacobson I, Lawitz E, Lok AS, Hinestrosa F, Thuluvath PJ, Schwartz H, Nelson DR, Everson GT, Eley T, Wind-Rotolo M, Huang SP, Gao M, Hernandez D, McPhee F, Sherman D, Hindes R, Symonds W, Pasquinelli C, Grasela DM.: Daclatasvir plus Sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N. Engl. J. Med.* 370, 211-221, 2014.

- 54) Sarrazin C, Zeuzem S.: Resistance to direct antiviral agents in patients with hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 138, 447-462, 2010.
- 55) Chan K, Lai MN, Groessl EJ, Hanchate AD, Wong JB, Clark JA, Asch SM, Gifford AL, Ho SB.: Cost effectiveness of direct-acting antiviral therapy for treatment-naive patients with chronic HCV genotype 1 infection in the veterans health administration. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 11, 1503-1510, 2013.
- 56) Bassendine MF, Sheridan DA, Felmlee DJ, Bridge SH, Toms GL, Neely RDG.: HCV and the hepatic lipid pathway as a potential treatment target. *J. Hepatol.* 55, 1428-1440, 2011.
- 57) Ikeda M, Abe K, Yamada M, Dansako H, Naka K, Kato N.: Different anti-HCV profiles of statins and their potential for combination therapy with interferon. *Hepatology* 44, 117-125, 2006.
- 58) Zhu Q, Li N, Han Q, Zhang P, Yang C, Zeng X, Chen Y, Lv Y, Liu X, Liu Z.: Statin therapy improves response to interferon alfa and ribavirin in chronic hepatitis C: A systematic review and meta-analysis. *Antiviral Res.* 98, 373-379, 2013.
- 59) Bader T, Hughes LD, Fazili J, Frost B, Dunnam M, Gonterman A.: A randomized controlled trial adding fluvastatin to peginterferon and ribavirin for naive genotype 1 hepatitis C patients. *J. Viral Hepat.* 20, 622-627, 2013.

Roles of lipoprotein and apolipoprotein in HCV infection

Takasuke FUKUHARA, and Yoshiharu MATSUURA

Department of Molecular Virology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

Although chronic infection of hepatitis C virus (HCV) induces disorders of lipid metabolism, HCV is known to utilize lipid metabolism for efficient propagation in the liver. Due to the morphological and physiological similarities of HCV particles to lipoproteins, lipid-associated HCV particles are named lipovirions. Previous reports have shown that lipoprotein receptors or cholesterol transporter participate in the entry of lipovirions. In addition, recent analyses revealed that exchangeable apolipoproteins directly interact with the viral membrane to generate infectious HCV particles. In this review, we would like to discuss about involvement of lipoprotein and apolipoprotein in HCV lifecycle.