

1. C型肝炎ウイルスの増殖と病原性に関する シグナルペプチドペプチダーゼ

岡本 徹

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後、高率に持続感染し、脂肪肝、肝硬変、肝細胞癌等の肝疾患を惹起するが、その発症機構は明らかにされていない。本稿では、HCVの増殖と病原性発現に関するコア蛋白質のシグナルペプチドペプチダーゼによる切断のウイルス学的意義に関する知見を紹介する。

はじめに

1. C型肝炎ウイルス

C型肝炎ウイルス (HCV) は、血液製剤や輸血によって感染し、国内で約170万人、世界では約2億人もの感染者が存在すると推測される。HCVは高率に持続感染し、脂肪肝、肝硬変、肝癌を発症し、本邦における肝癌死の約7割はHCV感染によるものである。また、クリオグロブリン血症、膜性増殖性糸球体腎炎、悪性リンパ腫、糖尿病等の、肝外病変との関連も多く報告されている。HCV感染によるこれらの疾患の発症機構は不明な点が多い。これまで、C型肝炎の治療薬としてはインターフェロンとリバビリンが用いられ、約半数の患者で効果が認められたが、ウイルス蛋白質に直接作用する薬剤 (Direct Acting Antiviral, DAA) は著効を挙げており、インターフェロンを使わないDAAだけの治療法が主流となりつつある。一方、DAAに対する耐性ウイルスの出現や、ウイルス排除後の肝癌の発症等の多くの問題も残されており、HCV感染による病原性発症機構の解明は、今後の重要な研究課題の1つである。

2. HCV ゲノムの特徴

HCVは1本のプラス鎖RNAをゲノムとして持つエンベロープウイルスである。ゲノムRNAが直接mRNAとして働き、1本の巨大な前駆体蛋白質が翻訳され、宿主のプロテアーゼやウイルス自身が持つプロテアーゼによって10個のウイルス蛋白質に切断される。コア蛋白質、E1、E2の3つの構造蛋白質はウイルス粒子を形成し、ウイルス粒子に含まれない非構造蛋白質 (NS) はウイルスの複製に関する。NS2とNS3はプロテアーゼ活性を保持しており、NS2は粒子の出芽とNS2とNS3の間の切断に、NS3はNS4Aと協調して、NS3以降の前駆体蛋白質を切断する。NS4Bは膜貫通蛋白質でウイルスゲノム複製の足場として複合体形成に関与している。NS5Aはリン酸化蛋白質で、多くの宿主蛋白質と相互作用し、ウイルスゲノムの複製複合体形成に関与している。NS5BはRNA依存的RNAポリメラーゼ活性を有している (図1)¹⁾。

3. HCV の生活環

HCVは細胞表面の硫酸多糖類に非特異的に捕捉され、特異的なレセプター (CD81, CLDN1, OCLN, SR-B1等) と結合し、エンドサイトーシによって細胞内に侵入する。HCVのエンベロープ蛋白質はエンドゾームの低pH条件下で構造が変化してエンドゾーム膜と融合し、粒子中のゲノムRNAを細胞質中に放出する (脱核)。ゲノムRNAはmRNAとして機能し、巨大な前駆体蛋白質に翻訳され、HCV蛋白質は小胞体 (ER) の膜構造を変化させて多重膜構造体を形成し、ウイルスゲノムの複製に有利な環境を作る。合成されたウイルスゲノムは、コア蛋白質から形成される正二十面体のキャプシドに取り込まれ、エンベロープ蛋白質を被って、完全なウイルス粒子となってER内腔へ

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

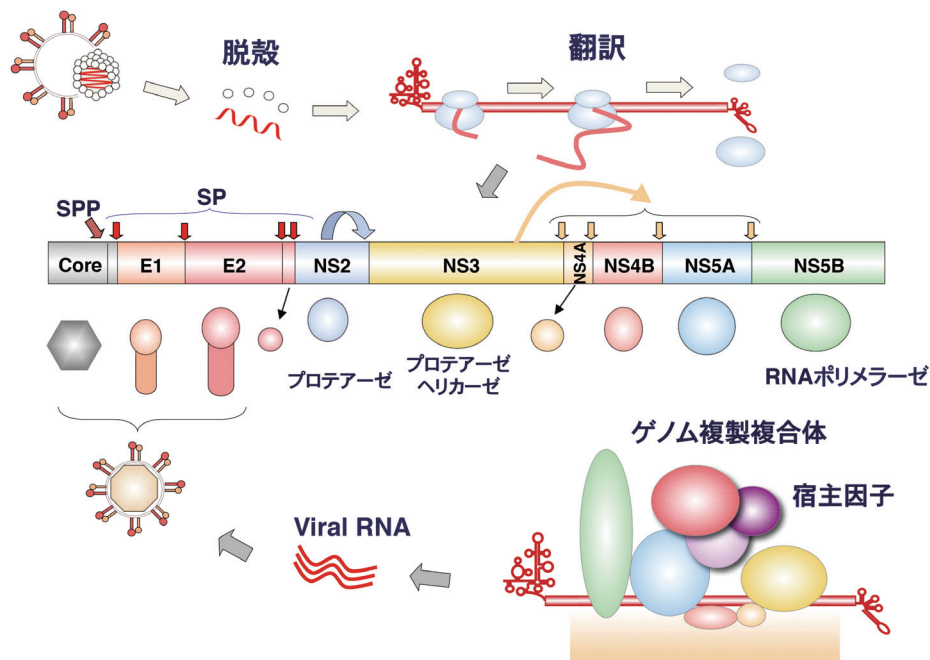


図1 HCVのゲノム構造と複製

HCVのゲノムRNAはmRNAとして働き、3000アミノ酸から成る前駆体蛋白質に翻訳され、宿主由来とウイルスがコードするプロテアーゼによって切断されて、10個のウイルス蛋白質が生成される。N末端側のコア(Core)、E1、E2はウイルス粒子を形成し、残りのウイルス蛋白質は多くの宿主蛋白質と共に複製複合体を形成し、ウイルスゲノムを複製する。

出芽し、ゴルジ装置を経て細胞外へ放出される^{1,2)}。

4. HCVの複製に関与する宿主因子

HCVの複製機構の解析は、レプリコンシステムの樹立によって大きく進んだ³⁾。このレプリコン細胞は、ウイルス粒子を構成する蛋白質を除いており、感染性の粒子は放出されず、ウイルス自身のRNAを複製する。この細胞を使ってHCV複製を阻害する化合物のスクリーニングが行われた。その後、遺伝子型2aのJFH-1株の完全長のウイルスRNAを培養細胞に導入することにより、HCVの培養細胞系が樹立された⁴⁾。

その中で、複数のグループにより免疫抑制剤として広く使われているシクロスポリンA(CypA)がHCVの複製を抑制することが見いだされた。CypAはシクロフィリンに作用し、HCVの複製を抑制していることが報告された^{5,6)}。その後の多くの成績から、CypAやCypBがNS5AやNS5Bに作用し、ウイルス蛋白質の立体構造の形成に関与していると考えられる^{7,8,9,10)}。

我々のグループでは、HCV複製におけるNS5A蛋白質の機能を明らかにすべく、酵母ツーハイブリッドスクリーニングにより、NS5Aと結合する蛋白質を解析した。その結果、イムノフィリンの1つであるFK506-結合蛋白質(FK506-binding protein, FKBP8)を同定した。FKBP8は熱ショックプロテイン90(Heat shock protein 90, Hsp90)

と協調し、ウイルス蛋白質をはじめとする複製複合体内の蛋白質の安定性に寄与していると考えられる¹¹⁾。また、Butyrate-induced transcript 1(B-ind1)がNS5A, FKBP8, そしてHsp90と結合しHCVの複製に寄与していることを明らかにした¹²⁾。FKBP8と結合できないような変異をNS5Aに導入したレプリコン細胞では、アミノ酸配列が野生型に復帰した。また、他のプラス鎖RNAウイルスでも、シャペロン蛋白質の阻害剤に対しては、耐性ウイルスができにくいことから、HCVの複製においてもシャペロンは重要な宿主因子であることが示唆された(図2)^{13,14)}。

HCVコア蛋白質の成熟

1. コア蛋白質

HCVのコア蛋白質は翻訳後、宿主のシグナルペプチダーゼによって191番目と192番目のアミノ酸の間で切断を受けて、E1蛋白質から切り離される。その後、膜貫通型のシグナルペプチドペプチダーゼ(SPP)によって177番目と178番目のアミノ酸の間でもう一度切断されて成熟する¹⁵⁾。コア蛋白質はウイルス粒子を形成するカプシドとしての役割があり、ウイルスRNAを粒子内に取り込み、エンベロープ蛋白質と相互作用して感染性粒子を形成する。成熟したコア蛋白質はウイルス粒子を形成するが、コア蛋白質だけを発現するトランスジェニックマウス(CoreTg)が、インスリン抵抗性、脂肪肝、そして、肝細胞癌を発症するこ

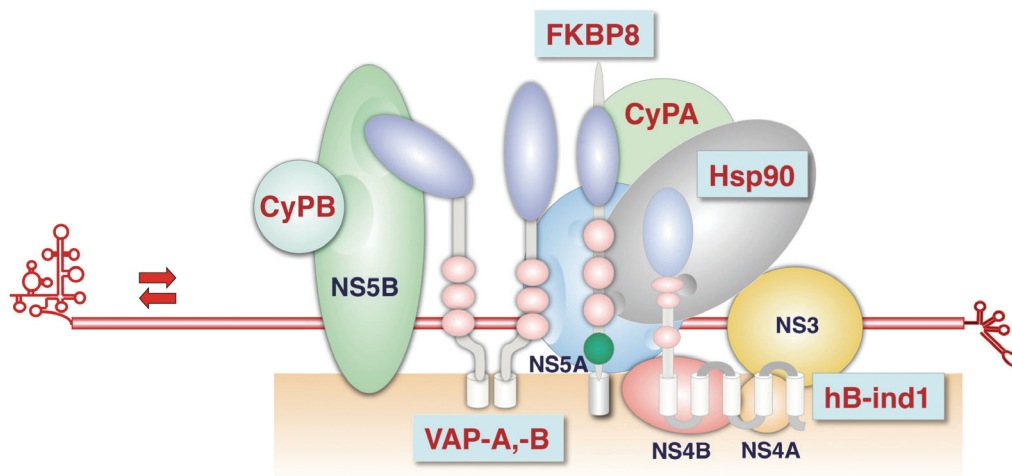


図2 HCVの複製複合体

シクロフィリン A(CypA)やシクロフィリン B(CypB)はNS5AやNS5Bと相互作用し、蛋白質のフォールディングに関与していると考えられる。FKBP8はNS5Aと結合する宿主因子の一つで、Hsp90、hB-ind1と複合体を形成し、ウイルス蛋白質の安定性に関与している。また、NS5AとNS5BはVAP-AやVAP-Bを介して相互作用し、大きなウイルス複製複合体を形成している。

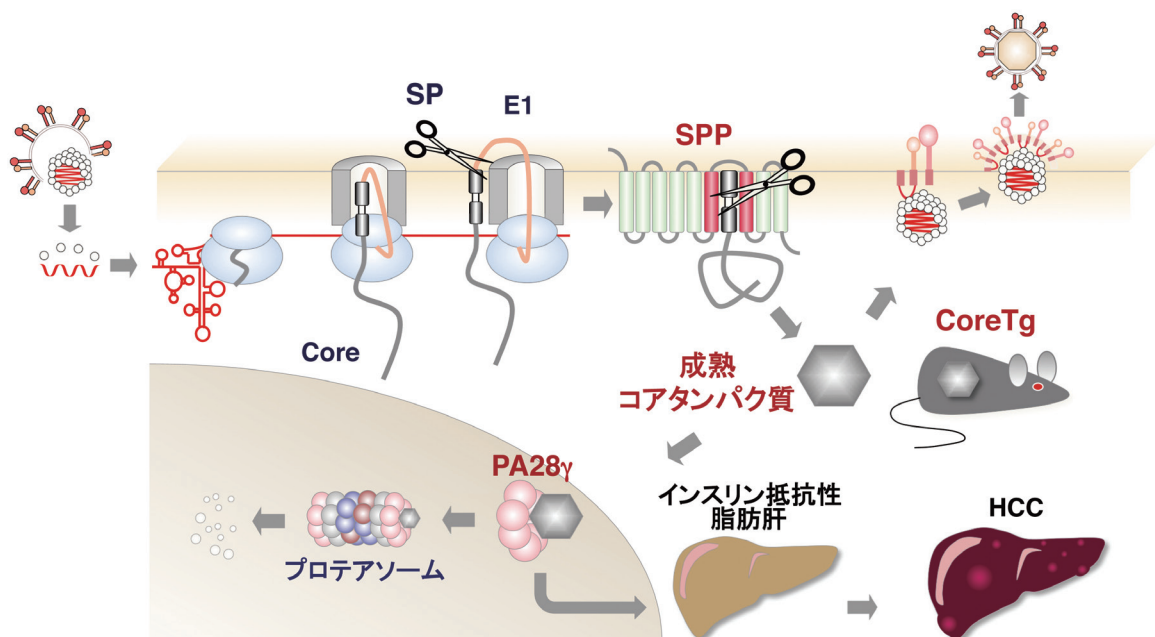


図3 HCVの成熟コア蛋白質の機能

コア蛋白質は翻訳後、宿主のシグナルペプチダーゼによって前駆体蛋白質から切り離され、さらにシグナルペプチドペプチダーゼ (SPP) によって切断されて成熟する。成熟コア蛋白質はウイルス粒子の形成だけでなく、核に局在することで、核内のプロテアソーム活性化因子であるPA28 γ と相互作用し、分解されることがHCVの病原性発現に関与する。

とから、HCV感染における病原性発現に、コア蛋白質が深く関与していると考えられる(図3)^{16, 17, 18)}。コア蛋白質は、小胞体だけでなく、脂肪滴、ミトコンドリア、核、脂質ラフトなど、様々な細胞小器官に局在することが知られている。中でも、コア蛋白質と結合するPA28 γ は結合

後、核内のプロテアソームによる分解を仲介する。PA28 γ を欠損したCoreTgやPA28 γ 欠損細胞では、コア蛋白質の核内での蓄積が観察される。PA28 γ 欠損CoreTgでは、コア蛋白質で誘導される、インスリン抵抗性、脂肪肝、そして、肝細胞癌を発症せず、さらに、PA28 γ 欠損細胞で

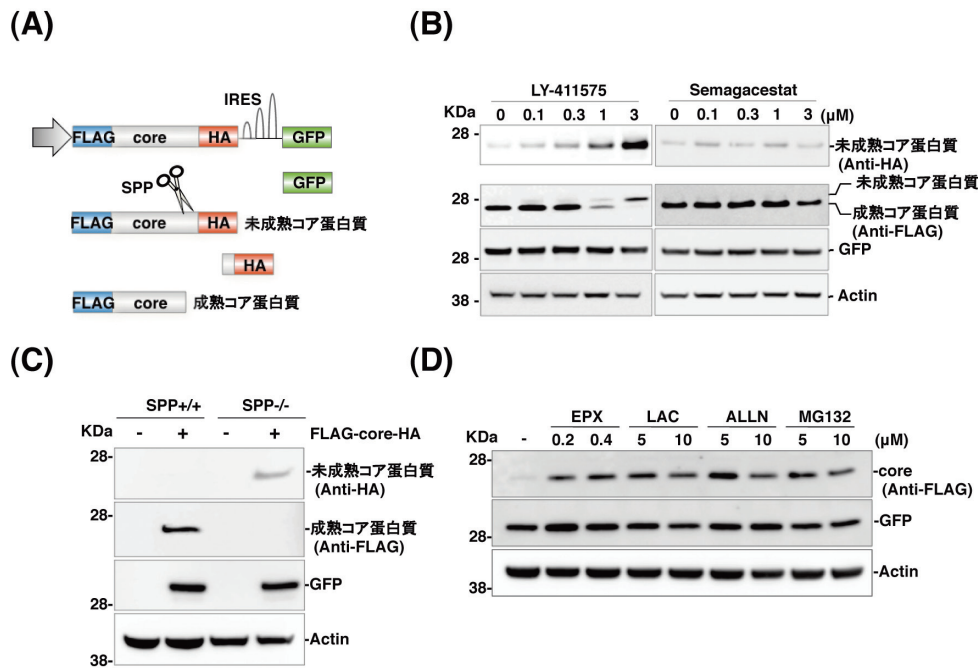


図4 SPPで切断されない未成熟コア蛋白質はプロテアソームで分解される

(A)N末端側にFLAGタグを、C末端側にHAタグを付加したコア蛋白質とGFPを発現するレンチウイルスベクターを作製した。SPPによる切断を受けた成熟コア蛋白質はFLAG抗体で検出できるが、SPPで切断されない未成熟コア蛋白質はHA抗体でも検出できる。(B)LY-411575の処理では、濃度依存的にHA抗体で検出される未成熟コア蛋白質が増加することから、SPPの阻害効果が観察できる。一方、Semagacestat処理ではそのような傾向は認められない。また、FLAG抗体で検出できる成熟コア蛋白質はLY-411575の処理で減少することが観察された。(C)SPP欠損マウス線維芽細胞ではFLAG抗体で検出できる成熟コア蛋白質が顕著に減少していた。(D)SPP欠損マウス線維芽細胞にコア蛋白質を発現させ、プロテアソーム阻害剤のEpoxomicin (EPX), Lactacystin (LAC), Z-Leu-Leu-Leu-H (ALLN), MG132で処理すると、コア蛋白質の発現が回復した。

はウイルス増殖が低下することから、PA28 γ によるコア蛋白質の核内での分解は、コア蛋白質の病原性やウイルス増殖に深く関与していることが考えられる^{19,20}。

2. SPP

SPPは、ER膜に局在する9回膜貫通型のGxGDモチーフを持つ、アスパラギン酸プロテアーゼである。基質としてはプロラクチンや、ヒト白血球抗原HLA-Eによって提示されるペプチドのプロセシングに作用している^{21,22}。SPPはHCVだけでなく、ペステイウイルスのコア蛋白質も切断する²³。さらに、ブニヤウイルスやヘルペスウイルスの糖蛋白質の成熟にも関与し、感染や増殖に関与することが報告されている^{24,25}。SPPの酵素活性中心は、アルツハイマー病の原因遺伝子であるプレセリニンと共通しており、プレセリニンはガンマセクレターゼ複合体を形成し、アミロイド前駆体蛋白質 (APP) を切断してアミロイド β (A β) を産生する。したがって、ガンマセクレターゼ阻害剤は、SPPの活性も阻害すると考えられる。SPPによってコア蛋白質の177番目のフェニルアラニンと178番目のロイシンの間が切断されて成熟することが、コア蛋

白質の脂肪滴への局在に必須であることが明らかになっているが、SPPによるコア蛋白質の切断の生理学的意義は不明な点が多い。

3. SPPによるコア蛋白質の切断の意義

我々は、FLAGとHAタグを両端に付加したHCVコア蛋白質とGFPを同時に発現するダイシストロニックな発現ベクターを作製し(図4A)、ガンマセクレターゼ阻害剤の中から、SPPによるコア蛋白質の切断を阻害する薬剤を探索し、LY-411575を見出した。一方、アルツハイマー病の治療薬として第三相試験まで進んだLY-450139 (Semagacestat) は、SPPの阻害活性を全く示さなかった。HCV感染細胞をLY-411575で処理すると、コア蛋白質量が減少することが明らかとなった(図4B)。また、SPP欠損細胞株にコア蛋白質を発現させると、発現が顕著に減弱するが(図4C)、プロテアソーム阻害剤で処理すると発現が回復したことから、SPPで切断されない未成熟なコア蛋白質はプロテアソームで速やかに分解されることが明らかとなった(図4D)。さらに、CoreTgにLY-411575を2週間経口投与したところ、肝臓のコア蛋白質量が減少した

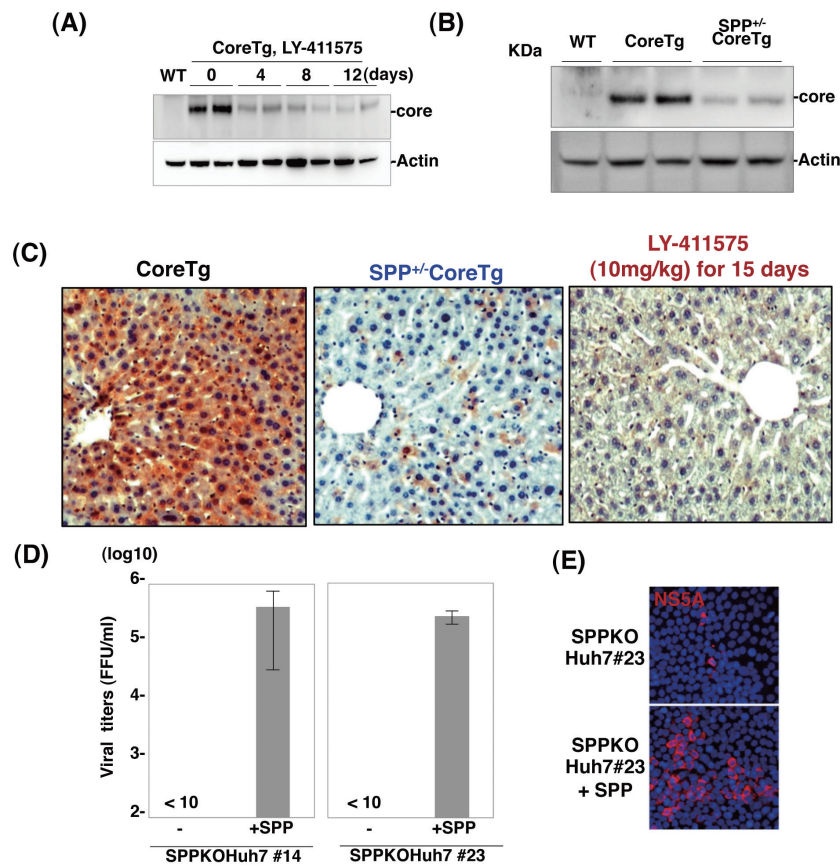


図5 SPPの阻害でコア蛋白質を発現するマウスの肝臓のコア蛋白質の発現が低下する

(A) コア蛋白質を発現するトランスジェニックマウス (CoreTg) に LY-411575 を 12 日間経口投与すると、肝臓のコア蛋白質の発現が経時的に減少した。(B) SPP^{+/+}CoreTg マウスのコア蛋白質量は CoreTg マウスと比較して減少している。(C) CoreTg マウスで発症する脂肪肝 (左) は、SPP^{+/+}CoreTg マウスや LY-411575 の投与で改善した。(D) SPP 欠損細胞からは感染性ウイルス粒子は全く産生されないが、欠損細胞に SPP を発現させると粒子産生が回復する。(E) ウイルス感染後、細胞を 1% メチルセルロース存在化で 2 日間培養し、ウイルス抗原を免疫染色で検出した。SPP 発現細胞では感染細胞の拡大が確認されたが、SPP 欠損細胞では感染性ウイルスが産生されないため、感染が拡大しない。

(図 5A)。SPP 欠損マウスは胎生致死となったため、SPP^{+/+}CoreTg マウスを作製したところ、コア蛋白質の発現量の減少が確認できた (図 5B)。CoreTg マウスは 2 ヶ月齢からインスリン抵抗性を示し、6 ヶ月齢以降で脂肪肝を発症するが、SPP 遺伝子のヘテロ欠損マウスと CoreTg を交配させた SPP^{+/+}CoreTg マウスや SPP 阻害剤の経口投与によって、インスリン抵抗性だけでなく、脂肪肝も改善した (図 5C)。以上の成績から、SPP による HCV コア蛋白質の切断は、コア蛋白質の安定性だけでなく、病原性の発現にも関与していることが明らかとなった²⁶⁾。

4. SPP の阻害による HCV 増殖への影響

次に、我々は SPP 阻害における HCV 増殖への影響を検討した。レプリコン細胞に SPP 阻害剤を処理しても、HCV の複製に変化は認められなかったが、HCV 感染細胞に SPP 阻害剤を処理すると、HCV の感染性粒子の放出は

顕著に抑制された。また、SPP 欠損細胞に HCV を感染させると、感染性粒子の放出は全く見られないことから、SPP によるコア蛋白質の成熟化は HCV の感染性ウイルスの産生に必須であることが示された (図 5D, E)。

5. SPP の阻害によるコア蛋白質の分解経路

次に、我々は SPP によって切断されなかった、未成熟なコア蛋白質の分解経路について解析した。これまでに、成熟したコア蛋白質の分解は、ユビキチンリガーゼの E6 結合蛋白質 (E6AP) によってユビキチン化され、細胞質のプロテアソームで分解される経路²⁷⁾ と、PA28 γ によってユビキチン非依存的に核の中で分解される経路が報告されている^{28, 29)}。ところが、SPP/E6AP/PA28 γ の 3 つの遺伝子を欠損させた細胞株でも未成熟なコア蛋白質が分解されたことから、既知の分解経路とは別の経路が存在することが示唆された。そこで、RNAi スクリーニングによって

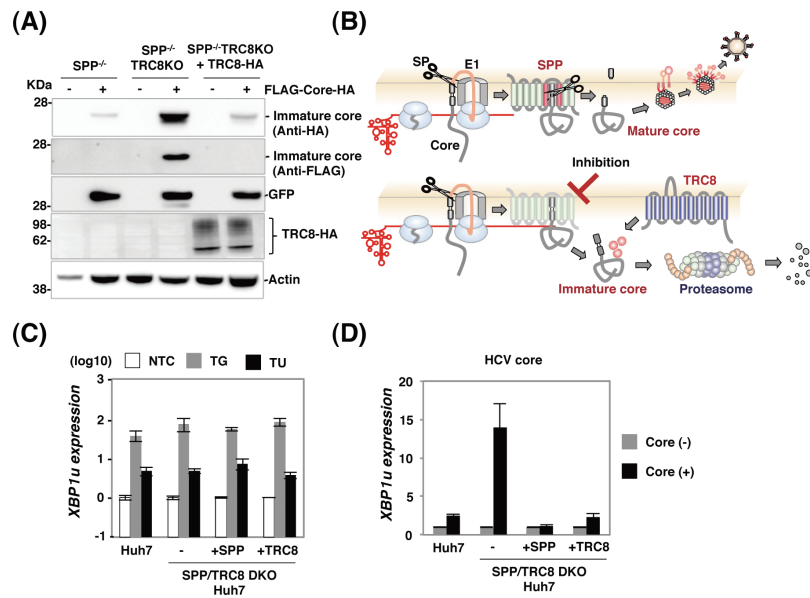


図 6 TRC8 は未成熟なコア蛋白質の分解に関与し、ER ストレスの誘導を抑制する

(A)SPP/TRC8 欠損マウス線維芽細胞では SPP によって切断されない未成熟なコア蛋白質の発現が確認できるが、TRC8 の発現によって再び分解される。(B) 未成熟なコア蛋白質の分解機構。SPP 阻害剤処理や SPP 欠損細胞では、SPP によって切断されない未成熟なコア蛋白質が産生され、TRC8 によって認識され、プロテアソーム依存的に分解を受ける。(C)SPP/TRC8 欠損細胞では、ER ストレスを誘導する Thapsigargin (TG) や Tunicamycin (TU) の処理による ER ストレス応答に変化はない。(D) SPP/TRC8 欠損細胞では、コア蛋白質の発現によって、XBP1u の発現量が上昇し、ER ストレスが誘導される。

未成熟コア蛋白質の分解に関与する新規のユビキチンリガーゼを検索し、Translocation in renal carcinoma, chromosome 8 gene (TRC8) を同定した。SPP と TRC8 の両遺伝子を欠損させた細胞では、未成熟なコア蛋白質は分解されず、この細胞にユビキチンリガーゼ活性を保持した TRC8 を発現させると未成熟コア蛋白質は分解された (図 6A)。以上の成績から、SPP 阻害剤の処理や、SPP 欠損細胞で産生された未成熟なコア蛋白質は、TRC8 によってユビキチン化され、プロテアソームで分解されることが明らかとなった (図 6B) ²⁶⁾。

6. 未成熟コア蛋白質の性状

SPP 欠損細胞でも HCV ゲノムは複製するが、感染性粒子は細胞外に放出されないことから、SPP の切断によるコア蛋白質の成熟が、HCV の粒子産生に必須であることが明らかとなった。しかしながら、その分子機構は不明である。我々は、SPP の活性阻害により、切断されずに ER 膜に残留した基質が ER ストレスを誘導し、それを回避するために TRC8 を介して処理するのではないかと考えた。そこで、ER ストレスの誘導剤である、ツニカマイシン (Tunicamycin, TU) やタプシガルギン (Thapsigargin, TG) で細胞を処理すると、SPP/TRC8 欠損細胞と親細胞で同程度の ER ストレスが誘導されたが (図 6C)、コア蛋

白質を発現させると、SPP/TRC8 欠損細胞で親細胞に比べて、強い ER ストレスが誘導され、XBP1u 等の ER ストレス応答遺伝子の発現亢進が観察された (図 6D)。以上の成績から、SPP で切断されなかった未成熟なコア蛋白質は、TRC8 を介した ER 品質機構で速やかに処理されることで、HCV 感染細胞での ER ストレスの誘導を制御し、持続感染を可能にしていることが示唆された ²⁶⁾。

おわりに

TRC8 は家族性腎細胞癌の原因遺伝子として同定され、発癌への関与が推測される。また、ステロールセンシング領域 (Sterol-sensing domain) を有し、コレステロール代謝に関与していることが報告されている ³⁰⁾。さらに、SPP の阻害によるコア蛋白質の分解経路は、ER ストレスを抑制するための ER-associated degradation (ERAD) であると考えられるが、既報で HRD コア複合体や VCP 経路を必要としないことが示唆されており、SPP/TRC8 による ERAD 経路は、新規の分解経路の可能性はある。今後は、TRC8 欠損マウスを作製し、SPP と TRC8 による未成熟コア蛋白質の分解と肝疾患への関与を詳細に検討したい。SPP 阻害剤として使用した LY-411575 はガンマセクレターゼの阻害剤であるが、アルツハイマー病の治療薬として第 3 相臨床試験に進んだ候補薬剤は全て失敗に終わっ

ている。これまでの検討から、ガンマセクレターゼ阻害剤は、同じ活性中心を持つ SPP に対する活性に相関が無いものが多く、SPP 特異的な阻害剤の開発の可能性は高いと考えられる。今後、慢性 C 型肝炎治療の主流となる DAA に対しては、耐性ウイルスの出現が避けられない。SPP 欠損細胞では HCV の感染性粒子の産生が全く検出されなかったことから、SPP によるコア蛋白質の切断は HCV の生活環で必須であり、耐性ウイルスの出現は低いものと考えられる。また、マラリアやトキソプラズマ等の原虫がコードしている SPP は、生存に必須であることが報告されている^{31, 32)}。SPP 特異的な阻害剤が開発できれば、C 型肝炎だけでなく、原虫感染症に対する治療薬が開発できる可能性を秘めている。

謝 辞

本稿の研究は、大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野松浦善治教授のご指導の下で進めてきました。松浦先生には 10 年以上に渡りご指導賜り、心より御礼申し上げます。留学先での上司である The Walter & Eliza Hall Institute の David Huang 先生には、マウスを用いた研究や分子生物学的な研究の進め方を指導して頂きました。また、学生時代に、懇切丁寧に実験を御指導頂きました。現国立感染症研究所の西村順裕先生と山梨大学の森石恆司先生に深謝いたします。また、共同研究を遂行させて頂きました。東京大学医学部消化器内科学の小池和彦先生、森屋恭二先生、浜松医科大学の鈴木哲郎先生、神戸大学の勝二郁夫先生、国立感染症研究所の鈴木亮介先生に感謝申し上げます。また、日々の研究をサポートして頂いております。大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野のメンバー各位に御礼申し上げます。最後に、日本ウイルス学会杉浦奨励賞に御推挙下さいました。大阪大学微生物病研究所の塩田達雄先生に御礼申し上げます。

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Moriishi K, Matsuura Y. Exploitation of lipid components by viral and host proteins for hepatitis C virus infection. *Front Microbiol.*3: 54, 2012.
- 2) Moriishi K, Matsuura Y. Mechanisms of hepatitis C virus infection. *Antivir Chem Chemother.*14: 285-97, 2003.
- 3) Lohmann V, Körner 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
- 4) Wakita T, Pietschmann T, Kato T, Date T, Miyamoto M, Zhao Z, Murthy K, Hebermann A, Krausslich HG, Mizokami M, Bartenschlager R. Production of infec-

- tious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med.* 11: 791-796, 2005.
- 5) Watashi K, Hijikata M, Hosaka M, Yamaji M, Shimotohno K. Cyclosporin A suppresses replication of hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes. *Hepatology.* 38:1282-8, 2003.
- 6) Nakagawa M, Sakamoto N, Enomoto N, Tanabe Y, Kanazawa N, Koyama T, Kurosaki M, Maekawa S, Yamashiro T, Chen CH, Itsui Y, Kakinuma S, Watanabe M. Specific inhibition of hepatitis C virus replication by cyclosporin A. *Biochem Biophys Res Commun.* 313: 42-7, 2004.
- 7) Watashi K, Ishii N, Hijikata M, Inoue D, Murata T, Miyanari Y, Shimotohno K. Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase. *Mol Cell.* 19: 111-22, 2005.
- 8) Nakagawa M, Sakamoto N, Tanabe Y, Koyama T, Itsui Y, Takeda Y, Chen CH, Kakinuma S, Oooka S, Maekawa S, Enomoto N, Watanabe M. Suppression of hepatitis C virus replication by cyclosporin A is mediated by blockade of cyclophilins. *Gastroenterology.* 129: 1031, 2005.
- 9) Kaul A, Stauffer S, Berger C, Pertel T, Schmitt J, Kallis S, Zayas M, Lohmann V, Luban J, Bartenschlager R. Essential role of cyclophilin A for hepatitis C virus replication and virus production and possible link to polyprotein cleavage kinetics. *PLoS Pathog.* 5: e1000546, 2009.
- 10) Yang F, Robotham JM, Grise H, Frausto S, Madan V, Zayas M, Bartenschlager R, Robinson M, Greenstein AE, Nag A, Logan TM, Bienkiewicz E, Tang H. A major determinant of cyclophilin dependence and cyclosporine susceptibility of hepatitis C virus identified by a genetic approach. *PLoS Pathog.* 6: e1001118, 2010.
- 11) Okamoto T, Nishimura Y, Ichimura T, Suzuki K, Miyamura T, Suzuki T, Moriishi K, Matsuura Y. Hepatitis C virus RNA replication is regulated by FKBP8 and Hsp90. *EMBO J.*25: 5015-25, 2006.
- 12) Taguwa S, Okamoto T, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Moriishi K, Matsuura Y. Human Butyrate-Induced Transcript 1 Interacts with Hepatitis C Virus NS5A and Regulates Viral Replication. *J Virol.*82: 2631-41, 2008.
- 13) Okamoto T, Omori H, Kaname Y, Abe T, Nishimura Y, Suzuki T, Miyamura T, Yoshimori T, Moriishi K, Matsuura Y. A Single-Amino-Acid Mutation in Hepatitis C Virus NS5A Disrupting FKBP8 Interaction Impairs Viral Replication. *J Virol.* 82: 3480-9, 2008.
- 14) Geller R, Vignuzzi M, Andino R, Frydman J. Evolutionary constraints on chaperone-mediated folding provide an antiviral approach refractory to development of drug resistance. *Genes Dev.*21: 195-205, 2007.
- 15) Mori Y, Moriishi K, Matsuura Y. Hepatitis C virus core protein: Its coordinate roles with PA28 γ in metabolic abnormality and carcinogenicity in the liver. *Int J Biochem Cell Biol.* 40:1437-1442, 2008.
- 16) Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S, Moriya K, Koike K. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus

- in the development of insulin resistance. *Gastroenterology*.126: 840-848, 2004.
- 17) Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Ishibashi K, Matsuura Y, Miyamura T, Koike K. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *J Gen Virol*.78: 1527-31, 1997.
 - 18) Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Ishibashi K, Matsuura Y, Kimura S, Miyamura T, Koike K. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med*. 4:1065-7, 1999.
 - 19) Moriishi K, Mochizuki R, Moriya K, Miyamoto H, Mori Y, Abe T, Murata S, Tanaka K, Miyamura T, Suzuki T, Koike K, Matsuura Y. Critical role of PA28 γ in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*.104: 1661-6, 2007
 - 20) Moriishi K, Shoji I, Mori Y, Suzuki R, Suzuki T, Kataoka C, Matsuura Y. Involvement of PA28 γ in the propagation of hepatitis C virus. *Hepatology*.52: 411-20, 2010.
 - 21) Weihofen A, Binns K, Lemberg MK, Ashman K, Martoglio B. Identification of signal peptide peptidase, a presenilin-type aspartic protease. *Science*.296: 2215-18, 2002
 - 22) Lemberg MK, Martoglio B. Requirements for signal peptide peptidase-catalyzed intramembrane proteolysis. *Mol Cell*. 10:735-44, 2002
 - 23) Heimann M, Roman-Sosa G, Martoglio B, Thiel HJ, R umenapf T. Core protein of pestiviruses is processed at the C terminus by signal peptide peptidase. *J Virol*. 80:1915-21, 2006.
 - 24) Shi X, Botting CH, Li P, Niglas M, Brennan B, Shirran SL, Szemiel AM, Elliott RM. Bunyamwera orthobunyavirus glycoprotein precursor is processed by cellular signal peptidase and signal peptide peptidase. *Proc Natl Acad Sci USA*.113: 8825-30, 2016.
 - 25) Allen SJ, Mott KR, Matsuura Y, Moriishi K, Kousoulas KG, Ghiasi H. Binding of HSV-1 Glycoprotein K (gK) to Signal Peptide Peptidase (SPP) Is Required for Virus Infectivity. *PLoS One*.9: e85360, 2014.
 - 26) Aizawa S, Okamoto T, Sugiyama Y, Kouwaki T, Ito A, Suzuki T, Ono C, Fukuhara T, Yamamoto M, Okochi M, Hiraga M, Imamura M, Chayama K, Suzuki R, Shoji I, Moriishi K, Moriya K, Koike K, Matsuura Y. TRC8-dependent degradation of hepatitis C virus immature core protein regulates viral propagation and pathogenesis. *Nat Commun*. 7: 11379 (2016)
 - 27) Shirakura M, Murakami K, Ichimura T, Suzuki R, Shimoji T, Fukuda K, Abe K, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, Moriishi K, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T, Howley PM, Miyamura T, Shoji I. E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein. *J Virol*. 81:1174-85, 2007.
 - 28) Moriishi K, Okabayashi T, Nakai K, Moriya K, Koike K, Murata S, Chiba T, Tanaka K, Suzuki R, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y. Proteasome Activator PA28 γ -Dependent Nuclear Retention and Degradation of Hepatitis C Virus Core Protein. *J Virol*, 77: 10237-49, 2003.
 - 29) Suzuki R, Moriishi K, Fukuda K, Shirakura M, Ishii K, Shoji I, Wakita T, Miyamura T, Matsuura Y, Suzuki T. Proteasomal turnover of hepatitis C virus core protein is regulated by two distinct mechanisms: a ubiquitin-dependent mechanism and a ubiquitin-independent but PA28 γ -dependent mechanism. *J Virol*. 83: 2389-92, 2009.
 - 30) Gemmill RM, West JD, Boldog F, Tanaka N, Robinson LJ, Smith DI, Li F, Drabkin HA. The hereditary renal cell carcinoma 3:8 translocation fuses FHIT to a patched-related gene, TRC8. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95: 9572-77, 1998.
 - 31) Harbut MB, Patel BA, Yeung BK, McNamara CW, Bright AT, Ballard J, Supek F, Golde TE, Winzeler EA, Diagana TT, Greenbaum DC. (2012). Targeting the ERAD pathway via inhibition of signal peptide peptidase for antiparasitic therapeutic design. *Proc Natl Acad Sci USA*.109: 21486-91, 2012.
 - 32) Moss, C. X., Brown, E., Hamilton, A., Van der Veken, P., Augustyns, K., & Mottram, J. C. (2015). An Essential Signal Peptide Peptidase Identified in an RNAi Screen of Serine Peptidases of Trypanosomabrucei. *PLoS One*.10: e0123241, 2015.

Signal peptide peptidase participates in propagation and pathogenesis of hepatitis C virus

Toru OKAMOTO

Department of Molecular Virology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, 3-1,
Yamadaoka, Suita-shi, Osaka 565-0871, Japan
E-mail toru@biken.osaka-u.ac.jp

Hepatitis C virus (HCV) is a blood-borne virus and causes chronic infection leading to development of steatosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. However, molecular mechanisms of induction of liver diseases by HCV infection are still unclear. This review focuses on the virological significance of processing of HCV core protein by signal peptide peptidase in propagation and pathogenesis of HCV.

