Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 肝細胞癌におけるB型肝炎ウイルスDNAの組込みに伴う宿主染色体再編成の解析 |
| Author(s) | 時野, 隆至 |
| Citation | 大阪大学, 1989, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/36075 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【11】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 時野隆至（ときの たかし） |
| 学位の種類 | 医学博士 |
| 学位記番号 | 第 8581 号 |
| 学位授与の日付 | 平成元年3月24日 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科生理系専攻<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | **肝細胞癌におけるB型肝炎ウイルスDNAの組込みに伴う宿主染色体再編成の解析** |
| 論文審査委員 | (主査)<br>教授 松原 謙一<br>(副査)<br>教授 吉川 寛　教授 羽倉 明 |

## 論文内容の要旨

〔目的〕

日本，中国，東南アジア，アフリカでは肝癌の高率発生地域とB型肝炎ウイルス（以下HBVと略す）汚染の分布図はよく一致し，疫学的には強い関連がある。HBVキャリアは持続感染が10年から20年続いた後，非キャリアに比べて20倍から100倍の高率で肝癌が発生する。HBVには発癌遺伝子が検出されず，肝癌の大部分にはHBV DNAが組込まれているため肝細胞染色体への組込みが肝癌誘発に関連している可能性がある。本論文の目的は，この因果関係を分子生物学的研究手法を用いて追究し，HBV DNA組込みと染色体DNA再編成の機構を考察することにある。

〔方法ならびに成績〕

I）

① 7例の肝癌よりHBV DNAの組込まれた染色体DNAをラムダファージベクターシャロン28にクローニングし，19個のクローンを得た。

② このうちHBV DNAが仲立ちになって，宿主DNAの再編成を起こした4クローンについて，構造解析及び組込み部位の宿主染色体番号の決定を行った。

II）ヘアピン型構造

組込み体クローンp4，C15においては組込みHBVゲノムの両端が完全に同一であるばかりか，そこに結合している宿主DNAも全く等しいヘアピン型構造をしていた。このようなヘアピン型構造は，HBV DNAが一旦染色体DNAに組まれてから再編成を起こさなくてはできない。おそらく，最初の組込み体が増幅して少なくとも2コピーとなり，互いのHBV DNA内部で組換えが起こったものであろ

う。当然，それに結合した宿主染色体も再編成されたかたちになっている。

Ⅲ）染色体番号決定

① 組込み体クローンのウイルスが組込まれた近傍の宿主領域から繰り返し配列を含まないDNA断片を単離し，これをプローブに用いた。

② 核型の正常な細胞から染色体試料を調製しエチジウムブロマイドで染色後，全染色体を８つの分画にソーティングした。次に，各グループを用いてサザンハイブリッド法を行い，どの染色体分画に属するのかを決定した。

③ 次に，ヒトxマウス雑種細胞クローンパネルなどを利用して特定の染色体に位置づけた。②の結果があるので，完全なクローンパネルを用いる必要がなく短時間でマッピングできた。

Ⅲ）染色体転座型

組込み体クローン，DA２—２，DA２—６においては組込まれたウイルスDNAの両方の宿主DNAが異なる染色体に由来していた。

すなわち，DA２—２ではXと17番，DA２—６では５番と９番の染色体に由来していた。このタイプの組込み体も，ウイルスが一旦組込まれてから染色体と結合したまま組込み点で染色体転座を起こしたものと考えざるをえない。

Ⅴ）HBV DNA組込み体19例のうち，ヘアピン型構造，p4，C15，C６（この論文ではC６は解析していない）３例と，染色体転座型DA２—２，DA２—６の２例あわせて５例の染色体再編成が19例の解析中に見つかったということはHBV DNAの組込みのあとに，かなりの頻度で宿主染色体の再編成が起こることを示している。

再編成の機構を推測させる手掛かりは乏しい。しかし，殆どの分子の結合点にコヒーシブ末端領域（DNAおよびRNA合成開始と終結を司るDR１およびDR２を含む領域）が現れていることから，最初の組込みがその領域を使って行われた後，再度そこが“活性化”されて，他端は宿主染色体と結合したまま，別のDNA（異なる染色体DNAまたは異なるウイルスDNA）に第二ラウンドの組込みを起こすと考えるのが妥当だと思われる。

〔総括〕

肝細胞癌DNAに組込まれたHBV DNAをクローニングし，構造解析を行った結果，19例中，５例の頻度で染色体転座およびヘアピン構造を伴う組込み体が検出された。この事実は，一旦組込まれたウイルスゲノムを中心に複雑な再編成が生じ，肝炎状態において蓄積されていき，HBVが肝癌発生においての変異を惹起する因子であることを示唆している。

## 論文の審査結果の要旨

Ｂ型肝炎ウイルス（HBV）は重篤な病原ウイルスであり，HBV汚染の分布図と肝癌の高率発生地域はよく一致しており，疫学的には強い関連がある。ところが，HBVによる肝癌発生の機構は全く未知の

ままであった。本研究は，分子生物学的手法を用いて肝癌に組込まれたＨＢＶ−ＤＮＡをクローニングし，構造解析及び組込み部位の宿主染色体番号の決定を行った。その結果，19例中，５例の頻度で染色体転座および逆位反復（ヘアピン）構造を伴う組込み体が検出された。

この事実はＨＢＶが肝癌発生において、宿主染色体ＤＮＡの変異を惹起する因子である可能性を示唆した点で意義は大きい。

以上より，本論文は学位の授与に値すると認める。