



Title	B型肝炎ウイルスDNAのヒト肝細胞ガン染色体中への組み込み様式
Author(s)	長屋, 敦
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36544">https://hdl.handle.net/11094/36544</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	長 屋 敦
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8358 号
学位授与の日付	昭和63年10月19日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	B型肝炎ウィルスDNAのヒト肝細胞ガン染色体中への組み込み様式
論文審査委員	(主査) 教授 松原 謙一 (副査) 教授 吉川 寛 教授 羽倉 明

### 論文内容の要旨

#### 〔目 的〕

B型肝炎ウィルス (HBV) は、肝炎の原因であり、疫学的には肝細胞ガンの発生とも密接な関連のある事もわかっている。しかし、HBVと肝細胞ガン発生との関連の分子生物学的な機構については不明である。一方HBVDNAは、しばしば肝細胞ガン染色体中に組み込まれた形で存在しており、この組み込みと肝細胞ガン発生機構の間に何かの関係が存在する事が考えられる。

HBVは、ヒト及びチンパンジーの個体のみで増殖可能で、現在のところ一般的に利用可能な実験動物あるいは培養細胞による感染増殖系は無い。そこで我々は、可能な限り多検体のヒト肝細胞ガンの剖検材料から染色体DNAを調製し、遺伝子クローニングの手法を用いて、染色体への組み込み様式を調べる事により、HBVDNAの染色体への組み込み機構への考察を得る事を目的に研究を行った。本研究は、HBVと肝細胞ガン発生との関係の分子生物学的機構の解明の第一歩となるものである。

#### 〔方法ならびに成績〕

肝細胞ガンの剖検材料より、常法通りプロナーゼ及びフェノール処理によって染色体DNAを調製した。この染色体DNAをEcoRIまたはHind IIIによって切断しλファージベクター シャロン28及びその誘導体λstyxを用いて遺伝子ライブラリーを作製した。次いで、クローン化されたHBVDNAを<sup>32</sup>Pでラベルしてプローブとし、ブランクハイブリダイゼーションにより、ライブラリーをスクリーニングした。これらの一連の操作により、7件の剖検材料からHBVDNAの組み込まれた肝細胞ガン染色体由来の独立したDNA断片を19クローン得る事ができた。

これらのクローンについて、サブクローニング、制限酵素切断点地図作製、HBVDNAとのハイブ

リダイゼーション、ダイデオキシ法によるDNA配列の分析を行い、HBVゲノムのどの部分がどのような様式で組み込まれているのかを解析した。また、8クローンについてHBVDNA部分の外側のヒト染色体DNA部分をプローブとしてセルソーターによってソーティングしたヒト染色体のDNA及びヒトマウスハイブリッドセルパネルのDNAとのハイブリダイゼーションにより染色体番号を決定した。

これらの解析により、以下のような結果が得られ考察をおこなった。組み込まれていたHBVゲノムの構造は、HBVゲノムの全長そのままという例は見られなかった。HBVの複製及び転写開始に重要な役割を果たしている繰り返し配列DR1とDR2の間（Coh領域）またはその近辺が欠けている場合が多かった。これらの事は組み込まれたHBVDNAが複製の鋳型とはなり得ない事を示している。

組み込まれたHBVDNAには非常に複雑なリアレンジメントが起きていたり、大きな折り返し構造を取っている場合があった。

HBV由来DNAとヒト染色体DNAの結合部位をHBVゲノム上でみるといくつかのクラスターしている領域がありCoh領域に少なくとも片端がある場合が全体の約半数を占めていた。これは、Coh領域が組み込みに重要な役割を果たしている事を示唆している。Coh領域以外にも結合部位がクラスターしている領域がプレS遺伝子の上にもみられ、この部分はCoh領域と同様転写開始領域である事が注目される。

結合部位のDNAは特別なコンセンサスは認められなかった。しかし、4クローンでヒト染色体DNA配列がAlu繰り返し配列、1クローンではサテライトIII繰り返し配列であった。

8クローンについてヒト染色体部分の染色体番号を決定したが、特定の染色体への分布はなかった。また、HBV部分の両端のヒト由来部分で染色体番号が異なっている例が2クローンありこれは染色体のリアレンジが起こっている事をしめしている。

〔総括〕

肝細胞ガン7検体よりHBVDNAが、ヒト染色体DNAに組み込まれたDNA断片部分19クローンを得た。

これらのクローンを解析し、HBVDNAの組み込み様式を解析した。組み込みにはHBVゲノム上の二つの繰り返し配列の間の領域が使われている事が示せる例が約半数に達する事、等の結果を得、組み込み機構に関して考察を行った。

## 論文の審査結果の要旨

B型肝炎ウィルスによる肝細胞ガン発生の機構に関しては良く判っていないが、B型肝炎ウィルスDNAの肝細胞ガン染色体中への組み込みが発ガンに係わっている可能性が高いと考えられる。しかし、この組み込み様式の解析に関し現在までは一例報告的なものや、特殊なセルラインに関するものがあつたにすぎなかった。それらに対し、本論文は7例の実際の肝細胞ガンより分子クローニングの手法を用

てB型肝炎ウィルスDNAの肝細胞ガン染色体への組み込み様式の解析を行い一般化し得る結果を得たものである。

本論文より1)組み込まれたB型肝炎ウィルスDNAには、欠失のある事、2)組み込まれたウィルスDNAの構造には、大きなインバーテッド構造の生成や欠失により非常に複雑な再構成のある場合のある事、3)ウィルスDNAとヒト染色体DNAの結合部の位置が約半数の例で少なくとも片端が、B型肝炎ウィルスゲノム上に存在するダイレクトリピート1と2の間にある事、4)ウィルスDNAの組み込まれたヒト染色体DNAについて、その塩基配列に共通性は認められず、染色体レベルで見ても特定の染色体への偏りは認められない事等が明らかになった。

本論文より得られた上記知見は、B型肝炎ウィルスDNAのヒト染色体への組み込み機構及び発ガン機構の解明に重要なものであり、博士論文としてふさわしいものとする。