

Title	B型肝炎ウイルスの組み込みと肝発癌
Author(s)	山本, 修士
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37946
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	やまもと しゅうじ 山本修士
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 10213 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 外科系専攻
学位論文名	B 型肝炎ウイルスの組み込みと肝発癌
論文審査委員	(主査) 教授 田野 保雄 (副査) 教授 松原 謙一 教授 吉川 寛

論文内容の要旨

(目的)

B型肝炎ウイルス (HBV) 感染と肝癌の発生とのあいだには密接な関係があるとされているが、詳細なメカニズムは解明されていない。一方、HBV 由来の肝癌細胞では、HBV の DNA が肝細胞の DNA に高率に組み込まれており、それらの癌化への関与が注目されている。また、1987年以来 HBV 中の X 遺伝子産物が、別の遺伝子の転写をトランスに活性化することが発見されたので、組み込みにより細胞に持ち込まれたウイルスゲノムがトランス活性化能を示すかどうかを検討する必要が出てきた。そこで、肝癌細胞由来の12個の任意に選んだ HBV 組み込み型クローンについて、トランス活性化能があるか否か、また、どのような細胞遺伝子を活性化するかを CAT アッセイ法により検討した。

(方法ならびに成績)

各種の細胞側遺伝子やウイルス遺伝子のプロモーター、エンハンサーに CAT 遺伝子をつないだプラスミドを CAT アッセイのレポーターとして用いた。ヒト肝芽腫細胞由来の培養細胞株 HepG 2 細胞に、一定量のレポータープラスミドと、任意に抽出した12例の組み込み体 DNA をリン酸カルシウム法により、トランスフェクションさせた。また、陰性コントロールとしては、ベクタープラスミド pBR322 をレポータープラスミドとともにトランスフェクションした。トランスフェクションして48時間後に細胞を集め、CAT アッセイを行い、組み込み型 HBV クローンのトランス活性化能を調べた。

1. HBV ゲノム組み込み体の示すトランス活性化能

CAT アッセイのレポーターとして、pSV 2 CAT および c-fos CAT を用い、12例の組み込み体のトランス活性化能の有無を調べた。12クローン中5クローンで3倍以上 (3.2倍～7.0倍) のトランス活

性化能が認められた。また、1クローンで弱い活性化能が認められた。従って、任意に選ばれた12クローンのうち半数におよぶものがトランス活性化能を保持していたことになる。このうち組み込み体の構造から判断して、3クローン (C29,DA2-6,P4) ではX遺伝子のほぼ全域が発現する様な構造になっているが、2クローン (C15,DA2-2)は、X遺伝子の一部のみが含まれているのみで、また1クローン (C5) ではX遺伝子は全く含まれていなかった。

2. 組み込み体の発現するウイルス-細胞融合遺伝子によるトランス活性化能

組み込み体の中から1クローンを選び (DA2-6)、各種細胞遺伝子に対するトランス活性化能を解析した。このクローンは、c-fosの他、伸長因子 (EF) や、グルタチオンSトランスフェラーゼ (GST-P)、アクチン、インターフェロンなどをはじめとして、多彩な細胞遺伝子の発現をトランスに活性化していた。X遺伝子産物によるトランス活性化能とDA2-6によるトランス活性化能を比較した場合、細胞側の遺伝子のスペクトラムに大きな差がないことがわかった。また、このクローンをHepG2細胞にトランスフェクションした時の転写物を解析したところ、S遺伝子プロモーターとX遺伝子プロモーターから起こった転写物は、細胞との融合mRNAを発現していることがわかった。このクローンの組み込まれたHBVのDNAと細胞側との接合部の塩基配列を調べたところ、X遺伝子のC末端の16アミノ酸が欠失し、細胞側の10アミノ酸が融合した蛋白質ができる構造を示していた。さらに、このクローンについて、種々の欠失ミュータントを構築してトランス活性化能を解析したところ、X-細胞融合部を欠失させたミュータントでは、トランス活性化能は完全に失われていた。これらの結果から、DA2-6クローンによるトランス活性化能はX遺伝子と細胞融合産物によることが示された。

(総括)

任意に抽出した12例のHBV組み込み体のうち6クローンが、トランス活性化能を示し、それにより多くの細胞遺伝子が継続的にトランス活性化を受けており、こうした細胞遺伝子の活性調節の変化が、肝癌発生に重要な役割を演じているものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、B型肝炎ウイルス組み込み体を用いて、B型肝炎ウイルスによる肝癌発生への役割を解析することを目的としたものである。

任意に抽出した12例のHBV組み込み体のうち、6例でトランス活性化能が保持されており、それらにより、c-fos、アクチン、伸長因子、グルタチオントランスフェラーゼなど多くの細胞遺伝子が、継続的にトランス活性化を受けていることが示された。しかも、一部の組み込み体では、ウイルス-細胞の融合遺伝子産物が、トランス活性化能を担っていることが示された。

これらの結果は、B型肝炎ウイルスによる肝癌のメカニズムを考える上で、重要な知見を加えるものであり、学位論文として価値あるものと評価される。