

| | |
|----------|---|
| 氏 名 | えん どう よう こ 遠 藤 容 子 |
| 学位(専攻分野) | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 医 博 第 3209 号 |
| 学位授与の日付 | 平 成 20 年 3 月 24 日 |
| 学位授与の要件 | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 |
| 研究科・専攻 | 医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻 |
| 学位論文題目 | Expression of activation-induced cytidine deaminase in human hepatocytes via NF- κ B signaling. (ヒト肝細胞における NF- κ B を介した Activation-induced cytidine deaminase の発現制御機構) |
| 論文調査委員 | (主 査) 教 授 清 水 章 教 授 坂 井 義 治 教 授 上 本 伸 二 |

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトの肝癌発生過程において、慢性肝炎や肝硬変を背景に種々の癌関連遺伝子に変異が生成・蓄積することが発癌に重要な役割を果たしていることが知られている。しかしながら、肝癌では DNA 修復系の異常は稀とされており、遺伝子変異生成の分子機序は不明のままである。そこで、遺伝子編集酵素の一員である Activation-induced cytidine deaminase (AID) の発癌への関与に着目した。AID は通常活性化 B 細胞のみに発現しており、免疫グロブリンの体細胞突然変異に必須の DNA/RNA 編集酵素である。しかしながら、AID の異常発現が遺伝子変異活性を介して、ヒトの悪性リンパ腫やリンパ系白血病の発生に寄与する報告がなされるようになった。また、AID のトランスジェニックマウスは、腫瘍細胞に様々な遺伝子への変異の生成を伴い、悪性リンパ腫を高率に発生することが示された。さらに興味深いことに、正常なヒト肝組織では AID の発現はほとんど認められなかったが、ヒト肝癌組織中では AID の過剰発現を認めるとともに、ヒト肝癌の発生源地である慢性肝炎・肝硬変を伴った肝組織中においても、AID の発現が顕著であることが分かった。同時に、肝疾患の要因別検討では、C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染が原因となっている慢性肝疾患・肝癌症例で肝組織中の AID の発現が有意に高いことが明らかになった。以上の結果から、遺伝子編集酵素である AID が、ヒト肝癌発生に関与している可能性が示唆された。そこで本研究では、肝発癌過程における AID の果たす役割を明らかにする目的で、ヒト肝培養細胞における AID の発現制御機構と癌関連遺伝子に対する変異導入活性の検討を行った。

まず、炎症下にある肝細胞における AID 発現の分子機序を明らかにする目的で、炎症性サイトカインの 1 つである TNF- α に着目し、肝培養細胞における AID の発現制御機構の検討を行った。肝癌細胞株及びヒト初代培養肝細胞に TNF- α 刺激を加えることにより AID の発現が mRNA 及びタンパク質ともに有意に亢進することが明らかとなった。次に、TNF- α により誘導される AID の発現制御機構を明らかにするため、TNF- α 下流の転写因子である NF- κ B の関与の可能性についての検討を行った。その結果、NF- κ B 活性化のシグナル伝達分子である IKK α や IKK β 発現により AID の転写が誘導され、逆に、NF- κ B の阻害作用を有する I κ B α の super-repressor の共発現により TNF- α 刺激による AID の発現が抑制されることがわかった。HCV のウイルスタンパクの 1 つである core タンパクにより NF- κ B が活性化されることが以前から知られていたため、HCV 感染による AID 発現の可能性について検討したところ、HCV 感染肝培養細胞や core タンパク発現肝培養細胞では、内在性 AID 発現が優位に亢進していることが確認された。

最後に AID の過剰発現が肝細胞中の遺伝子変異生成に寄与するか否かを検討する目的で、ヒト肝細胞に AID を過剰発現させたのち、様々な発癌関連遺伝子の塩基配列の同定を行った。その結果、培養肝細胞への AID 発現の結果、さまざまな発癌関連遺伝子に変異が生成されることが確認された。

本研究により、ヒト肝細胞において TNF- α など炎症性サイトカイン刺激や HCV 感染により、転写因子 NF- κ B を介して AID の発現が誘導されること、AID 発現の結果、癌関連遺伝子に変異が生成することが明らかとなった。以上のことから、AID がヒト肝細胞に炎症を契機として異所性に発現誘導され、様々な発癌関連遺伝子に変異を生成することが、ヒト肝

発癌過程において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

細胞の分化や増殖、アポトーシスを制御する種々の遺伝子に変異が蓄積することが、ヒトの発癌に深く関与すると考えられているが、遺伝子変異の蓄積機序の大部分は不明のままである。

申請者らは、臨床検体を用いた解析から、ヒト肝組織中において DNA 編集酵素である Activation-induced cytidine deaminase (AID) が異所性に発現することにより、肝発癌過程における遺伝子変異の蓄積に寄与している可能性に着目した。そこで本研究では、ヒト肝細胞における AID の発現制御の分子機序についての解析を行った。

通常、ヒト肝細胞では AID の発現はほとんど認めないが、*In vitro* における検討では炎症性サイトカイン刺激により AID が異所性に発現誘導されること、この肝細胞における AID の発現は転写因子である NF- κ B により制御されていることを明らかにした。また、本邦における肝癌の原因の多くを占める C 型肝炎ウイルス (HCV) により、ヒト肝細胞において AID が発現誘導されること、HCV による AID 発現はウイルスタンパクの 1 つである Core タンパクにより NF- κ B 依存性に誘導されていることを明らかにした。さらに、AID がヒト肝細胞に異所性に発現した結果、癌抑制遺伝子 p53 遺伝子や癌遺伝子 c-myc 遺伝子に変異が生じうることを示した。

以上の研究はヒト肝発癌過程における遺伝子変異蓄積の分子機構の解明に貢献し、癌研究の発展に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位申請者は平成 20 年 1 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。